

Tesis de Posgrado

Polimorfismos cromosómicos en acrididos sudamericanos

Remis, María Isabel

1990

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:

Remis, María Isabel. (1990). Polimorfismos cromosómicos en acrididos sudamericanos. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2385_Remis.pdf

Cita tipo Chicago:

Remis, María Isabel. "Polimorfismos cromosómicos en acrididos sudamericanos". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1990.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2385_Remis.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

POLIMORFISMOS CROMOSOMICOS EN ACRIDIDOS SUDAMERICANOS

POR

MARIA ISABEL REMIS

DIRECTOR

JUAN H. HUNZIKER

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS
BIOLOGICAS

LUGAR DE TRABAJO

LABORATORIO DE GENETICA-DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLOGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

1990

*Tesis
2385.
ej. 2*

A mi esposo, Alejandro

A mi hijo, Hernán

A mis padres

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi gratitud y profundo reconocimiento a mi Director de Tesis Dr. Juan H. Hunziker por su permanente estímulo, sus enseñanzas, su guía y las valiosas discusiones a lo largo de la realización de este trabajo.

Asimismo deseo expresar un especial agradecimiento a los Dres. Carlos A. Naranjo y Lidia Poggio por el aliento y preciadas sugerencias brindadas.

Agradezco también al Dr. Ricardo Ronderos por la determinación taxonómica del material.

Deseo mencionar especialmente mi agradecimiento al Dr. Juan C. Vilardi por valiosas discusiones y oportunas sugerencias recibidas y a la Dra Beatriz O. Saidman por el continuo estímulo brindado y por haber despertado mi interés científico hacia la Genética.

Quiero manifestar mi profunda gratitud hacia la Dra Viviana Confalonieri y Lic. Cecilia Comas por sus consejos, sugerencias, estímulos recibidos y principalmente por su amistad.

Agradezco al Dr. Pablo Colombo por sus sugerencias y discusiones así como el apoyo brindado en la recolección del material biológico.

Además, quiero expresar mi agradecimiento a mis compañeros de laboratorio Lics. Alicia Burghardt, Arturo Wulff, María Alicia Loray, Liliana Mola y Alba Papeschi por el apoyo y aliento brindado a lo largo de la realización de este trabajo.

Expreso mi sincero reconocimiento a los Lics. Beatriz González y Enrique Marschoff por su colaboración en la realización del análisis multivariado.

Agradezco al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por el apoyo financiero recibido a través de los subsidios otorgados a los Dres Juan H. Hunziker, Carlos A. Naranjo y Lidia Poggio. Además, la mayor parte de la realización del trabajo fue realizado en condición de Becario de Iniciación, Perfeccionamiento y Formación Superior de la mencionada institución.

Agradezco profundamente a mi esposo Alejandro y mi hijo Hernán por su invaluable colaboración, paciencia y amor que sin ellas no podría haber realizado el presente trabajo.

Finalmente agradezco muy especialmente a mis padres por el permanente aliento, apoyo y comprensión brindados a lo largo de mis investigaciones.

TABLA DE CONTENIDOS

INTRODUCCION	4-24
OBJETIVOS	25-26
MATERIALES Y METODOS	27-29
RESULTADOS	30-117

I VARIACIONES EN LA PRESENCIA DE HETEROCROMATINA SUPERNUMERARIA EN DOS ESPECIES DE ACRIDIDOS.

a)- Cariotipo Básico.	30-31
ai)- <i>Dichroplus elongatus</i> .	30
a ii)- <i>Amblytropidia australis</i> .	30
b)- Cromosomas Supernumerarios.	31-37
bi)- <u>Morfología y Comportamiento meiótico.</u>	31-33
bii)- <u>Análisis de la frecuencia y distribución quiasmas.</u>	34-37
biii)- <u>Efecto sobre la formación de espermatidas.</u>	37
c)- Segmento Supernumerario.	38-39
ci)- <u>Descripción y Comportamiento meiótico.</u>	38
cii)- <u>Análisis de la frecuencia y distribución de quiasmas.</u>	38-39

II VARIACIONES CROMOSOMICAS ESTRUCTURALES EN *Sinipta dalmani*

a)- Cariotipo Básico.	40
b)- Variación Intracromosómica: Inversiones Pericéntricas.	40-63
bi)- <u>Descripción y Comportamiento meiótico.</u>	40-41
bii)- <u>Diferenciación cromosómica dentro y entre poblaciones.</u>	41-44
biii)- <u>Análisis de la frecuencia y distribución de quiasmas.</u>	44-55
biv)- <u>Efecto sobre la formación de espermatidas.</u>	55
bv)- <u>Efecto sobre rasgos exomorfológicos.</u>	56-63

c)-Variación Intercromosómica:Fusiones Céntricas.	64-70
c')- Fusión Céntrica Espontánea.	64-65
c'i)- <u>Descripción y comportamiento meiótico.</u>	64
c'ii)- <u>Análisis de la frecuencia y distribución de quiasmas.</u>	65
c'')- Fusión Céntrica Polimórfica.	66-70
c''i)- <u>Descripción y comportamiento meiótico.</u>	66
c''ii)- <u>Análisis de la frecuencia y distribución de quiasmas.</u>	67-69
c''iii)- <u>Efecto sobre la formación de espermátidas.</u>	69-70
Tablas	71-104
Figuras	105-117
 DISCUSION	 118-170
 I VARIACIONES CROMOSOMICAS HETEROCROMATICAS	 118-133
a)- Cromosomas Supernumerarios.	119-127
ai)- <u>Morfología y comportamiento meiótico.</u>	119-121
aii)- <u>Efecto sobre la formación de quiasmas.</u>	121-124
aiii)- <u>Efecto sobre la formación de espermátidas</u>	125-127
b)- Segmento Supernumerario.	127-130
bi)- <u>Morfología y comportamiento meiótico.</u>	127-128
bii)- <u>Efecto sobre la formación de quiasmas.</u>	128-130
c)- Diferenciación cromosómica dentro y entre poblaciones.	130-133
 II VARIACIONES CROMOSOMICAS ESTRUCTURALES	 134-170
a)- Inversiones Pericéntricas.	135-160
ai)- <u>Efecto sobre la formación de quiasmas.</u>	136-141
aii)- <u>Efecto sobre la formación de espermátidas.</u>	141-142
aiii)- <u>Efecto sobre rasgos exomorfológicos</u>	142-147
aiv)- <u>Diferenciación cromosómica dentro y entre poblaciones.</u>	148-160

b)-	Fusiones Céntricas.	161-170
bi)-	<u>Efecto sobre la formación de quiasmas.</u>	161-165
bii)-	<u>Efecto sobre la formación de espermátidas</u>	165-166
biii)-	<u>Diferenciación cromosómica dentro y entre poblaciones.</u>	166-170
RESUMEN		171-173
BIBLIOGRAFIA		174-185

INTRODUCCION

Los estudios citogenéticos realizados en el orden Orthoptera han contribuido significativamente al conocimiento general del cromosoma y han permitido resolver numerosos problemas citotaxonómicos, evolutivos y referentes a genética de poblaciones. El considerable tamaño de los cromosomas, el reducido número de los mismos, así como la alta frecuencia y fácil reconocimiento de los reordenamientos cromosómicos presentes en poblaciones naturales de las especies del grupo, hacen de él un material experimental de gran utilidad en este tipo de estudio.

El orden Orthoptera es un grupo de insectos de amplia distribución mundial integrado por más de 20000 especies. Los trabajos pioneros en el orden se realizaron en EEUU, en donde Mc Clung y su escuela destacaron la correspondencia entre el comportamiento y la estructura cromosómica y los caracteres somáticos empleados por los especialistas en la determinación de especies, géneros y aún sub familias (para revisión, ver White 1973).

La citogenética de los insectos de este grupo en la región Neotropical fue iniciada por el investigador Francisco Sáez (1930-1932, 1956a,b,1960, 1963) y continuada, primero en Uruguay y luego en Brasil, por Mesa quien, a partir de 1956, inicia una serie de publicaciones en el tema (Mesa 1956, Mesa y Mesa 1967, Mesa et al 1982 entre otros). A partir de la década del 70 aparecieron numerosas contribuciones de Brasil, Uruguay y Chile (Lafuente 1977, Lafuente y Guerra 1977, Vaio et al 1979). Los estudios mencionados permitieron obtener

información acerca de las diferencias y semejanzas entre el número y morfología cromosómica entre algunas especies sudamericanas del orden, poniendo de manifiesto el interés de las investigaciones citogenéticas en la interpretación de la evolución del grupo.

Recientemente , en Argentina, se han realizado numerosos estudios citogenéticos en ortópteros (particularmente en la superfamilia Acridoidea) que aportaron datos acerca de la influencia de los reordenamientos cromosómicos sobre algunos rasgos endo y exofenotípicos (Bidau 1984, 1986, 1987, 1988, 1989, 1990, Bidau y Hasson 1984, Bidau y Confalonieri 1988, Bidau y Mirol 1988, Colombo 1984, 1987, 1989a,b, 1990, Confalonieri 1988, Confalonieri y Bidau 1986, Confalonieri y Colombo 1989, Remis 1989a,b, 1990, Remis y Vilardi 1987, Vilardi 1983, 1984, 1985, 1986a,b, 1988).

La variación cariotípica dentro y entre las especies existentes en la naturaleza proveen evidencias sugestivas de que las mutaciones cromosómicas han jugado una función importante en los cambios evolutivos. Así, los estudios cromosómicos brindan una contribución de importancia en la interpretación de los mecanismos evolutivos que han tenido lugar.

Las numerosas investigaciones realizadas en poblaciones naturales de ortópteros han demostrado que la variación cromosómica puede estar presente en tres niveles:

-Variación dentro de una misma población debido a la presencia de polimorfismos cromosómicos.

-Variación entre poblaciones de una misma especie que ocupan áreas diferentes constituyendo politipismos cromosómicos.

-Variación cromosómica entre especies relacionadas.

Las principales categorías de variantes cromosómicas detectadas involucran:

-Rearreglos estructurales que conducen a variación intra o intercromosómica (inversiones y translocaciones respectivamente).

-Ampliación en el contenido de heterocromatina ya sea por incorporación de segmentos supernumerarios a los miembros regulares del complemento o por la adición de cromosomas B o supernumerarios.

En general, los polimorfismos cromosómicos constituyen un rasgo preponderante en los sistemas genéticos de insectos (White 1973). En particular, los ortópteros, especialmente los de la superfamilia Acridoidea, presentan numerosos ejemplos de polimorfismos para reestructuraciones cromosómicas y heterocromatina supernumeraria (Hewitt 1979, Jones y Rees 1982, John 1983). Estos dos eventos, generalmente, están relacionados, ya que los intercambios cromosómicos producen fragmentos céntricos que pueden dar origen a cromosomas supernumerarios.

El mantenimiento de las mutaciones cromosómicas en estado polimórfico dependerá en gran medida de su efecto sobre la meiosis. Así, los reordenamientos que ocurren entre cromosomas que presentan condiciones favorables para su normal

comportamiento meiótico estarían "preadaptadas" (Hewitt 1979). Generalmente, las mutaciones cromosómicas suelen presentar efectos particulares sobre la recombinación, apareamiento cromosómico y fertilidad, por lo que es conveniente realizar el análisis de cada una de ellas separadamente.

Los polimorfismos para la posición del centrómero fueron detectados en varias especies del grupo, particularmente aquellas pertenecientes a los grupos de los Morabinos australianos y Trimerotropinos americanos (White 1949, 1951 a,b, Lewontin y White 1960, Weissman 1976, Vaio et al. 1979, Goñi et al. 1985, Confalonieri 1988).

Cambios en la posición del centrómero pueden deberse a dos tipos de rearrreglos, transposiciones centroméricas e inversiones pericéntricas. La diferencia entre los dos rearrreglos se basa en la naturaleza del apareamiento. En las transposiciones centroméricas el apareamiento es lineal y homólogo. De esta forma la ocurrencia de un entrecruzamiento conduciría a la formación de puentes dicéntricos y fragmentos acéntricos en anafase I (como sucedería si ocurre entrecruzamiento en el asa de inversión de un heterocigota). En las inversiones pericéntricas, el apareamiento lineal es no homólogo, no pudiendo producirse quiasmas entre los límites de la reestructuración.

La mayoría de los cambios observados en los ortópteros fueron explicados a través de las inversiones pericéntricas (White 1973, Hewitt 1979, John 1983). *Haplopappus gracilis* constituye uno de los pocos ejemplos que sostienen un origen a partir de transposiciones centroméricas (Jackson 1973). Aunque las inversiones pericéntricas serían la explicación más plausible para la mayoría de los cambios en la posición del

centrómero en este grupo, no debe descartarse su mecanismo alternativo de origen.

El mantenimiento en la población de una inversión pericéntrica en estado polimórfico dependerá de la capacidad de evitar el entrecruzamiento entre las regiones estándar e invertida, ya que el mismo conduciría a la formación de gametas desbalanceadas (con deficiencias y duplicaciones). Tal condición puede cumplirse si en el heterocigota :

-Existe apareamiento homólogo, pero no se produce entrecruzamiento debido a que a)-el segmento donde ocurre la inversión está "preadaptada" a la supresión del entrecruzamiento ya que en esa región de cromosoma virtualmente no se producen quiasmas o b)-la inversión conduce a una redistribución de quiasmas de forma tal que se suprime el entrecruzamiento en el segmento afectado.

-Existe apareamiento lineal no homólogo, no produciéndose entrecruzamiento en los límites de la inversión.

Quizás, el único ejemplo de la primera condición mencionada es el de *Austroicetes interioris*, una especie polimórfica para inversiones pericéntricas que presenta localización distal de quiasmas (Nankivell 1974).

La mayoría de las inversiones detectadas en el grupo producen redistribución de quiasmas principalmente debido al apareamiento lineal no homólogo entre las secuencias estándar e invertida (Hewitt 1979). Existen numerosos ejemplos que demuestran tal efecto intracromosómico sobre la distribución de quiasmas. En *Trimerotropis sparsa*, *T.gracilis* y *Keyacris scurra*, los heterocigotas para inversiones pericéntricas

presentan una supresión del entrecruzamiento entre los límites de la inversión incrementando la frecuencia de quiasmas en posición distal al rearreglo (White y Morley 1955). Resultados similares fueron encontrados en *Aiolopus strepens*, en donde los heterocigotas para una inversión en el par S11 presentaban una frecuencia mayor de quiasmas distales (Cabrero y Camacho 1982). En *T.pseudofasciata*, el análisis de la variación cromosómica en poblaciones continentales e insulares demostró que la proporción de quiasmas distales aumentaría en aquellos bivalentes que llevan la inversión tanto en heterocigosis como en homocigosis (Weissman 1976). En *T.pallidipennis*, las poblaciones polimórficas para una serie de inversiones pericéntricas en los pares medianos presentaban una reducción significativa en la frecuencia de quiasmas intersticiales debido a la supresión del entrecruzamiento en las regiones estructuralmente heterocigotas y un marcado movimiento de los mismos a posición distal (Vaio et al. 1979, Goñi et al. 1985).

Así, la supresión del entrecruzamiento protege una combinación génica de la desintegración conduciendo a un aislamiento genético entre las regiones estructuralmente heterocigotas.

Además, de la modificación en la distribución de quiasmas, los bivalentes heteromórficos pueden presentar una reducción en la frecuencia de quiasmas si los pares involucrados presentaban más de un entrecruzamiento en homocigosis. White y Morley(1955) detectaron una disminución significativa en la frecuencia de quiasmas en los heterocigotas en los pares afectados por inversiones pericéntricas en *T.sparsa*, *T.gracilis* y *Keyacris scurra*.

Sin embargo, tal disminución puede verse compensada por un incremento de la frecuencia de quiasmas en otros pares del complemento. Así, la heterocigosis estructural en ciertos pares del complemento puede alterar la relación de interferencia en otros miembros del complemento (Schultz y Redfield 1951). En *Trimerotropis suffusa* se detectó un ejemplo de tal efecto intercromosómico en una población polimórfica para 6 inversiones. En ellos la frecuencia de heterocigosis estructural tenía escasa influencia sobre la frecuencia de quiasmas totales (White y Morley 1955). El efecto de Schultz-Redfield mantendría la frecuencia de quiasmas alrededor de un valor presumiblemente "óptimo" en esa población. Sin embargo, a medida que se incrementa el porcentaje del complemento que es estructuralmente heterocigota, dicho efecto compensador llega a un nivel de saturación a partir del cual la frecuencia de quiasmas totales no es afectada (White y Morley 1955). En las poblaciones argentinas de *T.pallidipennis* ocurriría tal efecto de saturación ya que existe una relación indirecta entre la frecuencia de bivalentes heteromórficos y la frecuencia de quiasmas totales (Goñi et al 1985, Confalonieri 1988).

La disminución en la frecuencia de quiasmas totales no necesariamente conduce a una disminución de la variabilidad genética poblacional. Es importante analizar que proporción de entrecruzamiento ocurre en posición intersticial.

Goñi et al (1985) , encontraron que las poblaciones del sur de Argentina de *T.pallidipennis* presentaban una reducción significativa en la frecuencia de quiasmas intersticiales al disminuir la frecuencia de quiasmas totales. Sin embargo, las poblaciones de la misma especie de la

localidad de Mendoza presentaron una relación indirecta entre las frecuencias de ambas variables, encontrándose que el aumento en la frecuencia de quiasmas intersticiales se da fundamentalmente en los pares que no portan inversiones (Confalonieri 1988).

En *T.pseudofasciata*, la población de la isla de San Nicolás (EEUU) presenta una mayor frecuencia de quiasmas intersticiales y totales como posible adaptación a la región ecológicamente marginal que ocupa (Weissman 1976).

Las inversiones pericéntricas polimórficas podrían afectar la condición de los quiasmas tanto en los bivalentes involucrados como en el resto del complemento, siendo este efecto variable entre especies y dentro de una misma especie dependiendo de la flexibilidad de recombinación adecuada.

En los ortópteros, además de los cambios estructurales dentro de un cromosoma (inversiones) pueden ocurrir rearrreglos que involucren dos o algunas veces más cromosomas diferentes (translocaciones). Estas reestructuraciones abarcan:

-Los intercambios entre segmentos cromosómicos no homólogos. Ellos no afectan el número cromosómico pero pueden afectar la morfología del cromosoma si el intercambio es de naturaleza desigual.

-Las fusiones de elementos no homólogos en un único cromosoma. Ellos conducen a un cambio tanto en la morfología como en el número cromosómico.

A diferencia de las inversiones, los intercambios ocurren frecuentemente como mutaciones espontáneas y no se han

encontrado en situaciones polimórficas (Hewitt 1979, John 1983).

Por el contrario, las fusiones céntricas han jugado un importante papel en la evolución cromosómica del grupo. Estas reestructuraciones han sido detectadas en situación espontánea, polimórfica o más frecuentemente politípica (Hewitt 1979, Hewitt y Schroeter 1968, John 1983, Bidau y Hasson 1984, López y Fernández et al 1984, Colombo 1987, 1990).

El establecimiento de una fusión céntrica dependerá principalmente de la correcta orientación en metafase I y segregación en anafase I del trivalente, de forma tal que no se produzcan gametas aneuploides disminuyendo la fertilidad del portador. El trivalente de fusión puede presentar orientación alterna (el cromosoma fusionado se coorienta con los cromosomas libres), adyacente (el cromosoma fusionado se orienta con un cromosoma libre), lineal (los centrómeros de los cromosomas libres se coorientan y se inactiva el centrómero del cromosoma fusionado) o indiferente (los tres centrómeros se orientan al mismo polo). Generalmente, la adyacente e indiferente son considerados estados transitorios en el proceso de orientación centromérica ya que son escasas en metafase I. Así, las orientaciones más frecuentes en dicho estadio son la alterna y la lineal. De estas dos la única que produce gametas balanceadas es la alterna. Dos de los factores que afectan la orientación del multivalente son :a)-la igualdad de los brazos involucrados en la fusión, b)-la posición relativa de los centrómeros de acuerdo a la distribución de quiasmas (Hewitt 1979, López Fernández et al. 1984, Arundhati et al. 1986). Frecuentemente la orientación

alternativa asociada con trivalentes simétricos, es decir entre cromosomas de semejante tamaño en donde la distancia entre el primer quiasma y el centrómero es considerable y semejante en ambos brazos del cromosoma fusionado (Hewitt 1979). Así, las fusiones que se producen entre cromosomas que presentan condiciones favorables para su correcta orientación (similar tamaño y localización distal de quiasmas) tendrían un considerable grado de preadaptación (Hewitt 1979).

Como es de esperarse las fusiones polimórficas estables en ortópteros están asociadas con una elevada frecuencia de orientación alternativa asegurada por una localización preponderantemente distal de los quiasmas (Hewitt 1979, John 1983).

En *Leptysma argentina* una fusión polimórfica con alta frecuencia de orientación alternativa (94,2%) produce una reducción significativa en la frecuencia de quiasmas totales, intersticiales y proximales tanto en heterocigosis como en homocigosis (Colombo 1987).

En *Dichroplus pratensis*, que constituye un notable ejemplo de variación cromosómica, las distintas poblaciones analizadas de Argentina presentan distintos polimorfismos para siete fusiones céntricas. El comportamiento de los heterocigotas es altamente regular presentando baja frecuencia de orientación lineal. La existencia de cualquiera de las fusiones analizadas tanto en heterocigosis como en homocigosis conduce a una redistribución de quiasmas en los bivalentes involucrados reduciendo casi por completo el entrecruzamiento en posición proximal e intersticial. Además, la frecuencia de quiasmas totales decae notoriamente dependiendo del mismo

número de fusiones presentes y el tamaño de los cromosomas involucrados (Bidau 1984, 1989, Bidau y Mirol 1988).

En *Oedaleonotus enigma*, Hewitt y Schroeter (1968) demostraron que los homocigotas básicos, heterocigotas y homocigotas de fusión presentaban predominantemente quiasmas en posición distal. En este caso, la ausencia de efectos del rearreglo se debería a una localización distal existente.

Así, a menos que exista preadaptación, la fusión requeriría una redistribución de quiasmas, ya que la formación de los mismos en posición proximal e intersticial causaría dificultades mecánicas en la correcta orientación y segregación y por ende afectaría la fertilidad del heterocigota.

En contraposición con las situaciones polimórficas, las fusiones céntricas espontáneas presentan alta frecuencia de orientación lineal. En ortópteros, las fusiones espontáneas detectadas presentan una frecuencia de orientación alterna variada y en general, no están asociadas con redistribución quiasmática (Southern 1967, Teoh y Yong 1983, López Fernández et al 1984, Colombo 1987).

Estos resultados sugerirían que la redistribución de quiasmas presente en situaciones polimórficas sería una adaptación posterior a tal condición (Colombo 1987, Bidau y Mirol 1988).

Si estas condiciones no se cumplen la fusión tendería a perderse o a generar una situación politípica. En los ortópteros, las fusiones céntricas politípicas son más frecuentes que en estado polimórfico, sugiriendo que estas mutaciones cromosómicas actúan eficientemente como mecanismos de aislamiento (Hewitt 1979, John 1983).

Las fusiones céntricas en situación politípica también suelen estar acompañadas de reducción en la frecuencia de quiasmas totales y redistribución de los mismos (John 1983). Incluso algunas fusiones fijadas presentan supresión del entrecruzamiento en posición proximal e intersticial (John y Freeman 1975).

En la familia Acrididae, un caso particular de fusiones céntricas que sólo han sido detectadas en situaciones politípicas son aquellas que involucran al cromosoma sexual (John 1983). A diferencia de la fusión entre autosomas, en este tipo de fusión el heterocigota para el rearreglo está confinado al sexo heterogamético.

En los ortópteros, existe una mayor proporción de mutaciones entre el cromosoma sexual y un autosoma que entre dos autosomas, aunque la ocurrencia espontánea de la primera fusión sea más baja (Hewitt 1979). En general, la fusión X-autosoma ha jugado un importante papel en la evolución cromosómica del grupo. Existen cerca de 100 ejemplos en donde el sistema de determinación del sexo es neo XY/neo X neoX o $X_1X_2Y/X_1X_1X_2X_2$. En este tipo de sistema, en el cromosoma Y ocurren una serie de modificaciones secundarias (p.e. heterocromatinización) que reduce la zona de apareamiento en el bivalente heteromórfico (Sáez 1963). Tal condición conduce a una disminución en la frecuencia de quiasmas y una restricción en la formación de los mismos en posición distal (Sáez 1963, Mesa y Mesa 1967, John y Freeman 1976). En el género *Tolgadia* se describieron tres fusiones céntricas X-autosoma, donde el neo Y presenta el extremo centromérico heteropicnótico positivo en paquitene. Ya que en cada caso el autosoma equivalente libre en las otras especies del género no

muestran el mismo comportamiento, es claro que la heteropicnosis sería una consecuencia de la fusión (John y Freeman 1976). En general, las modificaciones que ocurren en el neo Y conducen a una localización distal de quiasmas en el bivalente sexual. Incluso, tal situación puede producir asinapsis debido a fallas en el apareamiento entre el neo Y y el brazo homólogo del neo X.

El mencionado efecto no sólo acompaña a las fusiones fijadas sino que también se hace evidente en las situaciones politípicas. Las poblaciones europeas de *Podisma pedestris* son de dos clases XO y neo XY. La fusión que involucra al cromosoma sexual produce una considerable restricción en la frecuencia de quiasmas proximales en el brazo X_R del neoX.

Además de las reestructuraciones cromosómicas, las poblaciones naturales de ortópteros pueden presentar dos formas de variaciones heterocromáticas. Una de ellas involucra la presencia de cromosomas B o supernumerarios y la otra está relacionada con la ocurrencia de diferencias cuantitativas tanto en el número como en el tamaño de segmentos heterocromáticos entre cromosomas homólogos. El material supernumerario o extra recibe esa denominación ya que no es indispensable para el normal desarrollo del individuo. En general los segmentos y cromosomas supernumerarios muestran una condensación diferencial en interfase y profase temprana constituyendo regiones heteropicnóticas positivas. Ya que tal condición está presente en todas las células del organismo, dichas regiones son consideradas como heterocromatina constitutiva.

Las principales formas de variaciones heterocromáticas son los cromosomas y segmentos supernumerarios en estado

polimórfico (Fuertas 1975, Hewitt 1979, John 1981a,1983, Jones y Rees 1982).

En los Acrididos, la mayoría de los segmentos heterocromáticos analizados pertenecen a los miembros más pequeños del complemento. Ellos pueden estar localizados en posición proximal o distal aunque también se han descrito menos frecuentemente intersticiales y extrínsecos (Shaw 1970, 1971a, Hewitt y John 1968, Westerman 1969, Westerman y Fontana 1973, John y King 1977, 1980, 1982, Hewitt 1979, John 1983, Bidau y Hasson 1984).

El modo preciso de origen de los segmentos supernumerarios no se conoce con certeza. Han sido sugeridos tres procesos para su producción. Uno de ellos se relaciona con la duplicación de heterocromatina existente en el cromosoma. Los dos restantes involucran translocaciones entre material autosómico o con parte de cromosomas supernumerarios (Hewitt 1979). El origen más frecuente de los segmentos hallados en ortópteros es através de duplicaciones de regiones heterocromáticas. La hipótesis que involucra translocaciones parece ser poco probable principalmente en la producción de segmentos proximales e intersticiales donde se requerirían tres puntos de rotura para su inserción. Asimismo, en *Eyprepocnemis plorans*, se hallaron translocaciones espontáneas entre los cromosomas B y los autosomas (Henriques Gil et al. 1983). Estas observaciones indicarian que, aunque existen pocos ejemplos de ocurrencia, este origen es posible .

Un efecto que muchos segmentos supernumerarios presentan es la modificación en la formación de los quiasmas. La mayoría de los polimorfismos para segmentos supernumerarios están asociados con efectos notorios sobre la distribución de

quiasmas en el bivalente involucrado (Shaw 1970, John 1973, 1981, 1983, Miklos y Nankivell 1976, Riva et al 1984, Colombo 1988).

Asimismo numerosos segmentos supernumerarios también pueden estar asociados con una modificación en la condición de los quiasmas totales. En general, la presencia del segmento produciría un incremento en la frecuencia de quiasmas y/o varianza entre células (John y Hewitt 1966, Hewitt y John 1968, Westerman 1969, Shaw 1970, 1971a, John 1973, Fontana y Vickery 1974).

Los cromosomas B o supernumerarios pueden encontrarse en todos los grupos principales de eucariontes. Dentro de los animales, el orden Saltatoria es el grupo que presenta mayor información disponible. Sin embargo, la ausencia o escasez de informes en otros grupos bien estudiados puede deberse a que los supernumerarios no se generan tan frecuentemente o no sean tolerados en la población (John 1983).

Los B son generalmente heterocromáticos, no exhiben homología cromosómica con los miembros normales del complemento y están presentes sólo en algunos individuos de la población. Ellos presentan un tamaño variable, desde tan pequeños como algo más que un centrómero hasta más grandes que los miembros de mayor tamaño del complemento regular.

White (1954, 1973) ha dividido a los cromosomas B en dos grupos : a)- mitóticamente estables, cuando su número no varía dentro del mismo individuo, y b)- mitóticamente inestables, cuando el número de B por célula varía dentro del mismo individuo. Dentro de la primera clase, entre otros, están los cromosomas supernumerarios de *Myrmeleotettix maculatus* (John y Hewitt 1965a,b), *Euthystira brachyptera* (Fletcher y

Hewitt 1980), *Melanoplus femur rubrum* (Nur 1977), *Dichroplus pratensis* (Bidau 1984), *Omocestus bolivari* (Viseras y Camacho 1985), *Chorthippus vagans* (Cabrero y Camacho 1986), mientras que constituyen ejemplos del segundo grupo los B de *Camnulla pellucida* (Nur 1969), *Calliptamus palaestinensis* (Nur 1963), *Dichroplus elongatus* (Vilardi 1985), *Cylindrotettix obscurus* (Confalonieri y Bidau 1986, Colombo 1989).

Los cromosomas supernumerarios, no son completamente inertes. Recientemente se han detectado numerosos efectos de considerable importancia. Ellos pueden afectar el apareamiento cromosómico, la formación de quiasmas, la composición nuclear, la viabilidad, la tasa de desarrollo y la fertilidad (Nur 1963, 1969, 1977, John y Hewitt 1965 a,b, Hewitt y John 1967, Hewitt y Brown 1970, Hewitt 1973a,b, 1976, Schroeter y Hewitt 1974, Rothfelds y Proncounier 1975, Camacho et al 1980, Fletcher y Hewitt 1980, Jones y Rees 1982, Vilardi 1983, 1985, Sentis y Fernández Fiqueras 1985, Viseras y Camacho 1985, Suja et al 1986a,b, Bidau 1986, 1988, Cabrero y Camacho 1986, Confalonieri y Bidau 1986, Hewitt et al 1987, Bidau y Confalonieri 1988). En general, estos efectos de los supernumerarios suelen ser diferentes entre especies y aún entre poblaciones de una especie (Jones y Rees 1982).

Otro rasgo que caracteriza a los cromosomas supernumerarios es que a menudo están asociados con mecanismos que permiten su acumulación.

Si los productos de la meiosis no son todos funcionales, los supernumerarios pueden segregarse preferencialmente hacia las células funcionales y así persistir en la población. En hembras de algunas especies de

saltamontes se detectó transmisión diferencial a través de un movimiento polarizado del cromosoma B. Esto se debe a que el huso es aparentemente asimétrico, el polo externo, el cual se transformará en cuerpo polar, es más corto y ancho que el polo interno que dará origen al oocito secundario. La distribución de los B en el huso en anafase I es marcadamente asimétrica ya que los supernumerarios migran en mayor frecuencia hacia el polo de la célula funcional (Hewitt 1973a,b, 1976).

La inestabilidad mitótica de los B en los machos, jugaría también un importante papel en el proceso de acumulación. Nur (1963) sugirió que el mecanismo capaz de causar tal variación intraindividual es la no disyunción preferencial. Aparentemente, existiría no disyunción de los cromosomas B en estadios tempranos de la mitosis en la línea germinal y de esta forma se incrementaría la frecuencia de los mismos en aquellas células que más tarde daría lugar a las gametas. Así, esta segregación preferencial actuaría también como mecanismo de acumulación (Nur 1963, 1969).

Por el contrario, el material supernumerario en miembros regulares del complemento exhiben limitadas oportunidades de presentar algún mecanismo de acumulación encontrándose sólo un ejemplo en donde un individuo de *Arcyptera tornosi*, heterocigota para un segmento supernumerario, presentaba segregación no azarosa en anafase II (López Fernández et al. 1982).

Otro efecto que está relacionado con las variaciones del genoma es la producción de espermátidas anormales. Entre las condiciones cromosómicas que están asociadas con la producción de esperma anormal se encuentran, las inversiones (Morán 1981), translocaciones (Gosalvez et al. 1982),

cromosomas supernumerarios (Nur 1969, Henriques Gil et al. 1984, Bidau 1986,1987,1988 ,Confalonieri y Bidau 1986, Suja et al.1986a y b, Loray et al 1990), polisomias (Peters 1981), híbridos (John y King 1980, Bidau 1984, Bidau y Confalonieri 1988).

Las espermátidas anormales pueden ser de dos tipos, las microespermátidas y las macroespermátidas. Las microespermátidas presentan pequeño tamaño y serían el resultado de rezagamiento de univalentes.Las macroespermátidas son de tamaño superior a las espermátidas normales (haploides) y pueden tener distinto nivel de ploidía.

En general, la causa de la formación de macroespermátidas está asociada con el bloqueo de la citocinesis debido principalmente al rezagamiento de univalentes (miembros regulares del complemento o supernumerarios) (Nur 1969, Confalonieri y Bidau 1986). Sin embargo, esta explicación no sería aplicable en los casos en donde se observará un normal comportamiento meiótico. Tal sería el caso de cromosomas supernumerarios estables meióticamente, sin rezagamiento en metafase I o reestructuraciones cromosómicas con regular formación de quiasmas, orientación metafásica y segregación anafásica. En estos casos se ha postulado que las macroespermátidas estarían asociadas con la fusión celular en los procesos de espermiogénesis (Suja et al 1986b, Bidau 1987). El estudio del nivel de ploidía de las espermátidas anormales a través de análisis citoespectrofotométricos o de impregnación argéntica para visualizar los adjuntos centriolares permitieron analizar las posibles causas de su formación (Bidau y Confalonieri 1988, López Fernández y Gosálvez 1982).

De cualquier modo, la alteración de los procesos de espermiogénesis con la consecuente formación de espermatozoides anormal podría conducir a una reducción de la fertilidad del portador que influiría negativamente sobre la estabilidad de la mutación cromosómica a menos que sea contrabalanceada por una ventaja selectiva.

Si bien se han citado numerosos polimorfismos cromosómicos asociados a efectos sobre la formación de quiasmas y fertilidad, existen escasos ejemplos en donde las mutaciones cromosómicas afecten los rasgos morfológicos (John 1983). Entre los escasos ejemplos citados se encuentran *Camnilla pellucida*, donde los portadores de supernumerarios presentan un número menor de folículos por testículo y fémures más cortos (Nur 1969) y las especies *Keyacris scurra* y *Leptysmia argentina* que constituyen ejemplos donde polimorfismos para reestructuraciones afectarían el peso o tamaño corporal (White y Andrew 1966, Colombo 1989).

Algunas mutaciones cromosómicas encontradas en poblaciones naturales, eficientes en las divisiones mitóticas y meióticas, pueden no presentar ningún efecto sobre la eficacia biológica del portador. Así, estas variantes constituirían polimorfismos "transitorios" ya que no presentarían ningún efecto significativo desde el punto de vista evolutivo (John 1983).

Sin embargo, los polimorfismos ampliamente distribuidos y estables a través de generaciones no pueden ser fácilmente explicados a través de argumentos neutralistas. El mantenimiento de la variación cromosómica constituyendo polimorfismos "estables", dependerá de sus efectos adaptativos y /o mecanismos que permitan su acumulación. En general, las

reestructuraciones cromosómicas, a menos que esten "preadaptadas", producen frecuentemente una disminución de la fertilidad del heterocigota afectando su eficacia biológica. Su establecimiento estaría relacionado con una modificación de la frecuencia y distribución de quiasmas que asegure su normal comportamiento meiótico. De hecho, frecuentemente, las mutaciones cromosómicas detectadas en poblaciones naturales de ortópteros, como se mencionó anteriormente, producen efectos notorios sobre el apareamiento cromosómico, condición de los quiasmas y fertilidad. Incluso, la influencia sobre la formación de quiasmas no se limita a los pares involucrados en el rearreglo sino que puede involucrar el resto del complemento. Es decir, que tales mutaciones afectarían la recombinación genética intra e intercromosómicamente.

La modificación en la frecuencia y distribución de quiasmas no afectaría a los portadores pero si la variabilidad genética de la descendencia. Una modificación del nivel de variación genética sería útil bajo ciertas circunstancias, dependiendo de los requerimientos particulares de la población. Así, un incremento en el nivel de variabilidad genética sería de utilidad en poblaciones con ambientes erráticos y constituiría una carga en poblaciones bien adaptadas a ambientes estables.

Por ello, el análisis de la influencia de las mutaciones cromosómicas sobre la condición de los quiasmas, que constituye una información importante en la interpretación de los factores que regulan la recombinación, así como la fertilidad, nos brindarán información que puede ser de

utilidad en la interpretación de las estrategias adaptativas del grupo.

De acuerdo a los relevantes resultados obtenidos en este material, sería de interés continuar con el análisis de la variación cromosómica en especies del grupo que se consideren de importancia desde el punto de vista evolutivo.

OBJETIVOS

El propósito principal del trabajo de tesis es analizar citogenéticamente los polimorfismos para heterocromatina supernumeraria presentes en poblaciones naturales de *Dichroplus elongatus* Giglio-Tos (Melanoplinae, Acrididae), *Amblytropidia australis* Bruner (Gomphocerinae, Acrididae) y los polimorfismos simultáneos de inversiones pericéntricas, fusión céntrica y cromosomas B en poblaciones naturales de *Sinipta dalmani* Stål (Gomphocerinae, Acrididae). En cada caso se analizarán los posibles efectos de las mutaciones cromosómicas que pueden tener significado evolutivo con el objeto de brindar información acerca de las estrategias adaptativas del grupo. El mencionado análisis se realizará a través de los siguientes estudios:

- Caracterización del cariotipo normal de las especies mencionadas.
- Análisis de la influencia de los polimorfismos cromosómicos principalmente sobre la condición de los quiasmas a través del estudio detallado de la frecuencia y distribución de los mismos. Este estudio nos brindará información acerca del efecto sobre la recombinación y por ende sobre variabilidad genética liberada en cada generación que podría estar relacionada con el mantenimiento de las mutaciones cromosómicas en estado polimórfico.

- Estudio del posible efecto de las mutaciones cromosómicas sobre los procesos de espermiogénesis y espermatogénesis, analizando la producción de espermátidas normales (haploides) y anormales (macro y microespermátidas) en individuos portadores y no portadores. El estudio se complementará, en las especies donde es posible, a través de técnicas citoespectrofotométricas que permitirán establecer, con escaso error, el contenido de ADN de cada espermátida, pudiendo inferir el nivel de ploidía de las mismas. De esta forma se podrá evaluar si las mutaciones analizadas están relacionadas con una reducción en la fertilidad de los portadores y analizar las posibles causas que conducen a producir dicho efecto.
- Estudio de la influencia de las mutaciones cromosómicas sobre rasgos exomorfológicos en las poblaciones analizadas citológicamente donde sea posible. En el caso de referirse a reestructuraciones cromosómicas se tratará de evaluar que parte del valor fenotípico observado es atribuible a factores genéticos y que parte a factores ambientales. Del mismo modo evaluando a la población se tratará de analizar que fracción de la variación fenotípica observada es debida a causas genéticas aditivas.
- Se analizarán diferentes poblaciones de las especies mencionadas, determinándose la frecuencia de las diferentes reestructuraciones a lo largo de las sucesivas muestras y de acuerdo a la distribución geográfica para analizar la existencia de variación temporal y/o espacial con el propósito de evaluar la existencia de procesos evolutivos asociados con el mantenimiento de tales polimorfismos.

MATERIALES Y METODOS

En el presente trabajo se han analizado tres especies de ortópteros pertenecientes a la familia Acrididae: *Dichroplus elongatus* Giglio-Tos (Melanoplinae, Acrididae), *Amblytropidia australis* Bruner (Gomphocerinae, Acrididae) y *Sinipta dalmani* Stål (Gomphocerinae, Acrididae).

En cada una de las especies mencionadas se analizaron los individuos machos a los cuales se le extrajeron los testículos para su posterior análisis citogenético. El material de *Sinipta dalmani* fue sometido a hipotonía durante 10 minutos (Cl K 0.5%). En cada caso las fijaciones se llevaron a cabo en 3:1 (alcohol etílico absoluto: ácido acético) y se conservaron en heladera (4°C) hasta su utilización.

En las tres especies mencionadas, las preparaciones citológicas para el análisis de la frecuencia y distribución de quiasmas fueron realizados por aplastado en orceína o hematoxilina propiónica. Para tal fin en cada par cromosómico, los quiasmas se clasificaron en proximales, intersticiales y distales, según su lugar de ocurrencia con respecto al centrómero.

La nomenclatura utilizada en la descripción del cariotipo fue la propuesta por Levan et al (1964).

El material de *S.dalmani* también fue sometido a coloración de Feulgen para medir el contenido de ADN. La técnica usada para la tinción fue la empleada por Bidau y Confalonieri (1988) e incluye hidrólisis fría en HCl (Jordanov 1963, citado en Decosse y Aiello 1966). La metodología se describe a continuación:

-Un testículo de cada individuo fue hidrolizado en HCl (5N) durante 50 minutos a temperatura ambiente (25°C).

-El material fue lavado tres veces con agua destilada y teñido con reactivo de Schiff durante dos horas en oscuridad. Después de la tinción, los folículos se lavaron con agua SO₂ y enjuagados con agua destilada.

-Finalmente el aplastado se realizó en ácido acético 45%.

En *Sinipta dalmani* también fueron realizadas mediciones morfológicas sobre longitud total, de la tegmina, del fémur, del tórax y de la tibia. Las mismas se determinaron con la ayuda de un ocular micrométrico graduado. Los datos exomorfológicos fueron evaluados a través de un análisis multivariado discriminado utilizando el programa SYSTAT gentilmente cedido por la cátedra de Biometría de esta Facultad.

La diferenciación cromosómica fue evaluada a través de los índices F_{IB} , F_{IT} y F_{BT} que fueron calculados mediante el programa de Vilardi (1989).

El material biológico utilizado pertenecía a diferentes poblaciones de ortópteros de la República Argentina como se detalla a continuación:

Dichroplus elongatus: Se analizaron los individuos portadores de B de una población coleccionada en Raco, provincia de Tucumán por Vilardi (1985). Además, se analizó una población localizada al noroeste de la localidad de San Clemente del Tuyú, provincia de Buenos Aires donde se coleccionaron 49 machos en Enero de 1984.

Amblytropidia australis: Se estudió citogenéticamente una población del Parque Nacional "El Palmar", provincia de Entre Ríos. En ella se analizaron 23 individuos coleccionados en Marzo de 1983.

Sinipta dalmani: Se analizaron 6 poblaciones de la especie *S.dalmani* pertenecientes, una a la provincia de Buenos Aires y cinco a la provincia de Entre Ríos.

La población de Buenos Aires fue coleccionada en Puerto Talavera (Diciembre 1987) y se analizaron 15 machos.

En la provincia de Entre Ríos, se analizó una población de la localidad de Gualeguaychú (coleccionada en Diciembre de 1988) donde se estudiaron 10 machos y cuatro poblaciones pertenecientes al Parque Nacional "El Palmar" donde se analizaron 206 machos. Las últimas fueron coleccionadas en diferentes regiones del parque durante el mes de Diciembre (desde 1985 hasta 1988) (Fig.1). La población de Los Loros (LL) está ubicada en las márgenes del arroyo que lleva el mismo nombre y fue analizada durante cuatro años consecutivos (1985, 1986, 1987 y 1988). La población de El Palmar (EP) está ubicada en las cercanías de las márgenes del arroyo que posee el mismo nombre, dista aproximadamente 3 Km. de la población LL y fue muestreada en 1986. La población de Los Sauces (LS) ubicada en las márgenes de un afluente del arroyo El Palmar dista aproximadamente 1 Km. de la población EP y 2 Km. de la población LL y fue estudiada en 1988. La población de El Camino (EC) está localizada al costado del camino de acceso al Parque Nacional dista 4Km. de la población de LL y fue analizada el 1988.

RESULTADOS

I VARIACIONES EN LA PRESENCIA DE HETEROCROMATINA SUPERNUMERARIA EN DOS ESPECIES DE ACRIDIDOS.

a)- Cariotipo básico:

ai)- *Dichroplus elongatus*:

El cariotipo de *Dichroplus elongatus* está compuesto de 23 cromosomas telocéntricos en el macho, con mecanismo de determinación del sexo XO ♂/XX ♀. Los autosomas pueden agruparse en tres pares largos (L1-L3), cinco pares medianos (M4-M8) y tres pares pequeños (S9-S11) (Saéz 1930-1932, Lafuente y Guerra 1977).

aii)- *Amblytropidia australis*:

El cariotipo de *A.australis* está constituido por 23 cromosomas en el macho (22+X0). Los autosomas, de acuerdo a su tamaño, pueden dividirse en cuatro grupos: largos (L1-L3), mediano-largo (ML4), medianos (M5-M9) y pequeños (S10-S11) (Fig.3). Los cromosomas del complemento básico tienen centrómero terminal de modo que pueden considerarse como telocéntricos. En metafase mitótica, el cromosoma sexual presenta un tamaño similar al del quinto par autosómico. En metafase I dicho cromosoma es heteropicnótico negativo excepto en dos regiones heteropicnóticas positivas localizadas proximal y distalmente al centrómero (Fig. 4E,F). El par megamérico es fácilmente identificado en paquitene tardío y diplotene ya que presenta una picnosis semejante a la del

cromosoma sexual y probablemente corresponda al par MB o M9, aunque su clasificación exacta no puede precisarse debido a su condensación (Fig.4A). El par S10 presenta dos bloques heterocromáticos terminales observables en diplotene y diacinesis (Fig.4A).

b)- Cromosomas Supernumerarios:

bi)-Morfología y comportamiento meiótico:

En la población de *D.elongatus* perteneciente a Tucumán se detectaron cuatro individuos, de 23 coleccionados, que presentaban cromosomas supernumerarios (Fig 2). Los B estudiados son levemente más grandes que el par más chico del complemento básico. Son mitóticamente inestables ya que su número varía entre células del mismo individuo. Generalmente se encuentran de 0 a 4 B por célula, aunque se detectaron algunas de ellas con 5 y 6 supernumerarios (Fig. 2 A,B,C,D,E,F,I). La estructura de estos cromosomas es también inestable ya que en algunas células analizadas aparecen como metacéntricos o acrocéntricos, debido probablemente a reordenamientos cromosómicos (Fig.2 F,H).

El comportamiento de los supernumerarios durante profase I es similar al del cromosoma sexual presentando heteropicnosis positiva. En metafase I, los B son isopicnóticos mientras que el X puede variar de isopicnótico a heteropicnótico negativo. A menudo se observaron asociaciones entre los supernumerarios y el X (Fig. 2A,E). Tales asociaciones son de naturaleza inespecífica ya que se observaron en estadios tempranos de la meiosis. Cuando una

célula en diplotene o diacinesis poseía dos o más B, ellos presentaban diferentes asociaciones. Cuando la célula tenía 2 B, a menudo ellos formaban bivalentes y sólo ocasionalmente se observaban dos univalentes (Tabla 1). Cuando la célula poseía 3 B, frecuentemente se presentaban como un bivalente y un univalente, aunque también podían hallarse 3 univalentes o una cadena de 3 B (Tabla 1). Cuando la célula tenía 4 B, generalmente ellos formaban 2 bivalentes aunque también en menor frecuencia, se observaron 4 univalentes, una cadena de tres y un univalente o un pseudocuatrivalente (Tabla 1).

La única configuración que se mantuvo hasta metafase I fue la asociación terminal de dos cromosomas B (Fig. 5A, B). Así, las configuraciones que involucraban más de dos supernumerarios serían asociaciones heterocromáticas (no quiasmáticas) y podrían ser consideradas como pseudomultivalentes.

Durante anafase I, los bivalentes B pueden segregarse normalmente o migrar indivisos temprana o tardíamente con respecto a los miembros normales del complemento (Fig. 5C, D, E, F).

Durante anafase II, en general los cromosomas B se dividen ecuacionalmente, encontrándose en algunas células ambas cromátides del supernumerario en el mismo polo (Fig. 5G). También, se han encontrado células en anafase II en donde un polo presentaba una cromátide B más que el opuesto (Fig. 5H). Esto implicaría que la división ecuacional del cromosoma B podría ocurrir también en anafase I.

En la población analizada de *A. australis*, 3 machos, de los 23 individuos estudiados eran portadores de cromosomas extras. Estos B son mitóticamente inestables y su número varía

de 0 a 2 entre células del mismo individuo (Fig. 4B, C,D,E,F). El tamaño de los supernumerarios es aproximadamente el 75% del tamaño del cromosoma X y su centrómero está localizado terminalmente.

Durante profase I temprana se visualiza que dichos cromosomas están formados por dos porciones, una corta procéntrica y eucromática y otra de mayor tamaño heterocromática (Fig. 4 B,C). La apariencia meiótica de los B es similar a la del cromosoma sexual presentando heteropicnosis positiva durante profase I y negativa en metafase I. En ambos estadios podía observarse, en la porción heterocromática, dos regiones, una proximal y otra distal, teñidas diferencialmente semejante a las observadas en el cromosoma sexual (Fig. 4C,E,F). Frecuentemente en profase I temprana, solían observarse asociaciones transitorias entre el B, el cromosoma X y el par megamérico.

Cuando la célula presentaba 1 B, este se orientaba en metafase I hacia el mismo o diferente polo que el cromosoma X. El análisis de células en ese estadio, indicó que estos diferentes tipos de cromosomas se segregan al azar durante la primera división meiótica ($\chi^2=2.08$, $p=0.15$). Cuando la célula presentaba dos cromosomas B, ellos siempre estaban asociados a través de la región eucromática (Fig. 4D). Durante metafase I este bivalente B es heteropicnótico negativo y generalmente está situado fuera de la placa ecuatorial (Fig. 4F). La asociación de 2 B es probablemente quiasmática y además persiste en metafase I.

bii)- Análisis de la frecuencia y distribución de quiasmas:

Con el objeto de determinar si los cromosomas B afectan la condición de quiasmas se analizó la frecuencia de quiasmas intersticiales (X_i) y quiasmas totales (X_T) en células con diferente número de B (*D.elongatus*) y en individuos con y sin cromosomas extras (*A.australis*).

Se consideraron como quiasmas intersticiales a aquellos en que la distancia desde su posición hasta el telómero más cercano representara al menos el 10-15%, en los pares grandes y medianos grandes, el 15-20%, en los pares medianos y el 25% en los pares pequeños, de la longitud total del cromosoma.

En *D.elongatus* se estudió la frecuencia de quiasmas en 247 células en diplotene con diferente número de cromosomas B provenientes de cuatro machos analizados. La frecuencia de quiasmas totales aparentemente permanece constante al variar el número de supernumerarios por célula (Tabla 2). En cambio, la frecuencia de X_i y la relación de X_i/X_T mostró una notoria variación al aumentar el número de B por célula. Con el propósito de visualizar dicho efecto, se representó la relación entre dichas frecuencias de quiasmas y el número de cromosomas extras (Fig. 6,7). En todos los individuos analizados se observó un incremento en la frecuencia de X_i al aumentarse el número de B (Fig. 6 A). Reuniendo los datos de todos los individuos, se verificó un incremento más evidente para células con mayor número de B ajustando los datos a una ecuación lineal, siendo altamente significativa la regresión de la frecuencia de X_i sobre el número de B por célula ($p: 0.006$) (Fig. 6B).

Al analizar la proporción de X_i/X_T se obtuvieron resultados semejantes (Fig. 7A,B). A partir del análisis individual y grupal se evidencia un similar incremento en la variable analizada siendo también altamente significativa la relación de X_i/X_T sobre el número de B por célula ($p:0.007$) (Fig. 7B).

Las frecuencias de X_i , X_T y X_i/X_T entre células con diferente número de supernumerarios dentro de cada individuo se compararon a través de un análisis de varianza. Dicha comparación no reveló diferencias significativas en la frecuencia de X_T en ninguno de los individuos analizados ($p>0.05$) (Tabla 2). Este resultado implicaría que la frecuencia de X_T permanece sin mayor variación al incrementarse el número de cromosomas B.

El análisis reveló diferencias significativas sólo en un individuo al analizar la frecuencia de X_i (Tabla 3) y en dos al analizar la frecuencia de X_i/X_T (Tabla 4). Sin embargo, al comparar las frecuencias extremas, a través de una prueba de "t", se hallaron diferencias significativas o altamente significativas en casi todos los casos (Tablas 3 y 4).

Tratando de confirmar los resultados descritos previamente, se realizó una comparación reuniendo los resultados de todos los individuos. Los datos fueron transformados como desviaciones estandarizadas con respecto a la media, con el objeto de evitar la variación individual (Tabla 5). El análisis de varianza, con los datos transformados, reveló diferencias altamente significativas tanto para X_i/X_T como para X_i ($F:3.025$, $p:0.018$; $F:4.19$, $p:0.002$).

En *A. australis* se analizó la frecuencia de quiasmas en diplotene de 80 células, provenientes de los 3 individuos portadores y 100 células pertenecientes a 10 individuos no portadores de cromosomas supernumerarios.

Los individuos con cromosomas B presentaron un evidente aumento en la frecuencia media de Xi sin alterarse la frecuencia media de XT (Tabla 6). Para comparar la variación en la frecuencia de quiasmas entre individuos portadores y no portadores se realizó un análisis a través de histogramas de frecuencia (Fig. 8A,B). Se consideraron para el mismo los datos de dos portadores en donde se estudió un número suficiente de células. La frecuencia de quiasmas XT de los individuos portadores se ubica dentro de la distribución de frecuencias de la población y a ambos lados de la frecuencia media total (Fig. 8B). Sin embargo, cuando se analiza la frecuencia de Xi, los individuos portadores están situados a la derecha de la distribución de la población (Fig. 8A). Estos resultados sugerirían que estos supernumerarios afectan la frecuencia de Xi sin alterar la formación de XT.

Para determinar si el número de cromosomas extras afectan la condición de quiasmas, se analizó la frecuencia media de Xi y XT de células con diferente número de B. Para ello se utilizaron los datos de un individuo portador (P-17) en donde pudieron analizarse células con diferente número de supernumerarios (Tabla 7). A través del análisis se evidenció un incremento notorio en la frecuencia de Xi y leve en la frecuencia de XT asociadas al aumento de cromosomas B por célula. Sólo las diferencias detectadas en la frecuencia de Xi fueron estadísticamente significativas (Tabla 8). Una vez más, se evidencia el efecto de los supernumerarios sobre la

frecuencia de X_i . La comparación de los promedios de dicha variable entre células con diferente número de B (0,1 y 2B), a través del método de Scheffé (1959), reveló que las diferencias existen sólo entre clases extremas (Tabla 8). Así el efecto de estos B sería acumulativo. Los datos se ajustan a una ecuación lineal siendo altamente significativa la regresión de la frecuencia de X_i versus el número de B por célula ($p:0.005$).

biii)- Efecto sobre la formación de espermatidas:

Con el objeto de analizar si los cromosomas extras de *A.australis* afectan la formación de esperma, se examinaron las espermatidas de individuos portadores y no portadores. La identificación de los diferentes tipos de espermatidas se realizó teniendo en cuenta su tamaño y el número de adjuntos centriolares por gameta (Fig.4G,H).

Para realizar el análisis, se utilizaron los datos de dos individuos con B y tres individuos sin ellos. El número de espermatidas estudiadas en cada individuo se presentan en la Tabla 9.

Tanto en los portadores como los no portadores se detectó la formación de macroespermatidas. Sin embargo, la frecuencia de espermatidas anormales es mayor en los individuos con B (Tabla 9). Estos resultados se compararon estadísticamente a través de una prueba de X^2 . El análisis demostró que los cromosomas supernumerarios de *A.australis* producen un incremento significativo en la producción de esperma anormal ($X^2:17.75$, $p:0.0001$).

c)- **Segmento Supernumerario :**

ci)- Descripción y comportamiento meiótico:

En la población de *D.elongatus* perteneciente a la Provincia de Buenos Aires se detectó un segmento supernumerario heterocromático localizado en el par S10. Dicho segmento es terminal y está ubicado distalmente al centrómero (Fig.9 B,C,D). Ocho de cuarenta y nueve individuos analizados eran portadores del mismo en heterocigosis. No se hallaron individuos homocigotas para el segmento en la muestra analizada. La baja frecuencia del mismo ($q:0.082$) explicaría la ausencia de homocigotas de este tipo ya que la frecuencia esperada de esta clase es muy baja ($6.7 \cdot 10^{-3}$).

Durante la primera profase meiótica, el segmento es fácilmente detectable, ya que presenta heteropicnosis positiva (Fig.9 B). En cambio, durante metafase I se lo suele observar como isopicnótico o levemente heteropicnótico negativo. Frecuentemente, en profase I temprana, el par S10 se asocia a través del segmento al cromosoma sexual (Fig.8 C). Esta asociación es heterocromática y finaliza antes de metafase I.

cii)- Análisis de la frecuencia y distribución de quiasmas:

Con el propósito de determinar si el segmento afecta la frecuencia y distribución de quiasmas, se analizaron los 8

machos heterocigotas y 10 machos homocigotas básicos, elegidos al azar. En cada caso se estudiaron, al menos, 10 células en diplotene.

En los homocigotas básicos, el bivalente S10 presenta un sólo quiasma localizado en posición distal. En los heterocigotas el quiasma se ubica proximal (80%) o intersticialmente (20%) (Fig. 9 B,C,D). Estos resultados evidenciarían un efecto intracromosómico sobre la distribución de quiasmas.

Frecuentemente, durante diplotene, se observa un pequeño nucleolo asociado al bivalente heteromórfico brindándole a este una apariencia característica (Fig.9 D,E). La posición del segmento y del único quiasma que se forma en el par indica que la división del bivalente heteromórfico es ecuacional durante la primera anafase meiótica.

En diplotene, los heterocigotas presentaron un leve incremento en la frecuencia de quiasmas intersticiales y totales y en la relación de intersticiales/totales. Sin embargo, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas en la frecuencia de quiasmas entre cariomorfos (Tabla 10). Estos resultados sugerirían que el segmento supernumerario no afecta la frecuencia de quiasmas en diplotene.

II VARIACIONES CROMOSOMICAS ESTRUCTURALES EN *Sinipta dalmani*

a)- Cariotipo Básico:

El complemento básico de *S.dalmani* consiste de 23 cromosomas acrocéntricos en el macho ($2n:22+X0$) los cuales forman 11 bivalentes autosómicos y un univalente X durante la primera metafase meiótica (Fig. 10 A). Como ya ha sido descrito por Bidau (1984), los autosomas pueden agruparse en 3 pares largos (L1-L3), cinco medianos (M4-M8) y tres pequeños (S9-S11).

b)-Variación Intracromosómica:Inversiones Pericéntricas.

bi)- Descripción y comportamiento meiótico:

En cuatro poblaciones analizadas de la provincia de Entre Ríos se detectó una inversión pericéntrica polimórfica en el par M4. El segmento invertido involucra aproximadamente el 40% de la longitud total del cromosoma y cambia su morfología de acrocéntrico a submetacéntrico (Fig. 10C).

En paquitene, no se detectó asa o rulo en el bivalente heteromórfico observándose apareamiento lineal en las 50 células analizadas.

Frecuentemente durante metafase I en el homocigota básico el par M4 presentó un sólo quiasma (Fig. 10 A). En los heterocigotas el quiasma generalmente presentaba una posición intersticial (Fig. 10 B) mientras que en el homocigota de inversion, el quiasma se formaba frecuentemente en posición terminal (Fig. 10 D).

En anafase I no se han observado puentes en 30 células analizadas y tampoco se han hallado cromosomas M4 con cromátides desiguales en 58 células en metafase II examinadas. Estos resultados indicarían ausencia de entrecruzamiento entre las regiones normal e invertida.

En dos de las poblaciones de la provincia de Entre Ríos, LS y LL se detectó otra inversión en el par M7 (Fig.11). Dicho rearrreglo cambia la morfología del cromosoma de acrocéntrico a submetacéntrico .

Durante paquitene, también en esta inversión se observó apareamiento lineal en el par afectado.

Durante metafase I el par M7 siempre presentó un solo quiasma. El mismo presenta generalmente una posición distal tanto en los heterocigotas (Fig. 11), como en los homocigotas básicos.

bii)- Diferenciación cromosómica dentro y entre poblaciones:

La inversión pericéntrica en el par M4 se detectó en las cuatro poblaciones del Parque Nacional "El Palmar": Los Loros (LL), El Palmar (EP), Los Sauces (LS) y El Camino (EC). La misma no fue hallada en la población de Gualaguaychú, donde se estudiaron 10 individuos, ni en la población de Puerto Talavera, donde se analizaron 15 machos.

La población de LL fue estudiada en detalle cuatro años consecutivos (Tabla 11). La frecuencia de inversión a través de los años, no reveló diferencias estadísticamente significativas (χ^2 : 6.24, p:0.10). Las frecuencias observadas

en los diferentes cariomorfos de inversión (homocigotas básicos, heterocigotas y homocigotas de inversión) en 1986, 1987 y 1988 se ajustaron a la esperadas de acuerdo al equilibrio de Hardy Weinberg. No obstante, en los tres años se evidenció un ligero exceso de homocigotas. Ya que no existen diferencias significativas en la frecuencia cariomórfica de las distintas muestras de la población de LL evaluadas a través de una prueba de "X² de heterogeneidad", se realizó un análisis global de los datos (X²: 1,46, p:0.48). El mismo indicó que en la población total existe un aumento significativo en la frecuencia de homocigotas (X²: 7.16, p:0.008).

La población de EP fue analizada en 1986 y presenta una frecuencia de inversión ligeramente inferior a la hallada en la población de LL aunque tales diferencias no revelaron ser estadísticamente significativas (X²:1.29, p:0.26) (Tabla 12). La frecuencia de los diferentes cariomorfos de inversión en la población mencionada también se ajustan a las esperadas según el equilibrio de Hardy Weinberg (Tabla 12).

En 1988 se analizaron dos nuevas poblaciones LS y EC (Tabla 12). En cada una de ellas las frecuencias de los diferentes cariomorfos se ajustaron a las esperadas por el equilibrio de Hardy Weinberg y en ambas nuevamente se observa un ligero exceso de homocigotas (Tabla 12).

Con el objeto de analizar la diferenciación cromosómica dentro y entre poblaciones, utilizando los datos de las tres poblaciones muestreadas en 1988 (LL, LS y EC) se calcularon los valores del estadístico F (F_{IS}, F_{IT} y F_{ST}) de Wright (1951, 1965) modificados, en términos de la heterocigosis observada y esperada, por Nei (1977). Para trabajar con estimadores de la

diversidad cromosómica insesgados se tuvieron en cuenta los tamaños muestrales aplicando en los cálculos de los "F" la corrección desarrollada por Nei y Chesser (1983).

Los coeficientes de F_{IS} son positivos en las tres poblaciones analizadas aunque ninguno de ellos resultó ser estadísticamente significativo (Tabla 13). Como era de esperar, los resultados obtenidos del análisis de los valores de FIS individuales concuerdan con los obtenidos en las pruebas de χ^2 "de bondad y ajuste" anteriormente mencionadas, ya que constituyen pruebas alternativas.

Al reunir los datos de todas las poblaciones se obtuvieron los valores de $F_{IS}=0.16924$, $F_{IT}=0.17889$, $F_{ST}=0.01162$.

El valor F_{IS} promedio es positivo indicando que cada población presentaría un exceso de homocigotas aunque no se detectan diferencias significativas de acuerdo a frecuencias las esperadas según el equilibrio de Hardy-Weinberg ($\chi^2=3.15$, $p=0.08$).

El valor de F_{IT} es también positivo y revela un exceso de homocigotas significativo en las tres poblaciones (considerándolas como unidad) ($\chi^2=4.57$, $p=0.033$).

En cambio, el índice de fijación F_{ST} es bajo y su significación, a través de una prueba de homogeneidad de las frecuencias cromosómicas, reveló que no existen diferencias significativas en las poblaciones analizadas ($\chi^2=4.65$, $p=0.09$). Sin embargo, el valor de χ^2 obtenido está cercano a la significación debido sin duda a la baja frecuencia de la inversión en la población EC. En efecto, la frecuencia de la inversión en la población de LL no difiere con respecto a la

de LS ($X^2:0.55$, $p:0.45$), pero si con respecto a la población EC ($X^2:4.40$, $p:0.035$).

Así los valores de X^2 para la evaluación estadística de los índices F_{18} y F_{17} estarían cercanos a la significación sugiriendo que tanto la falta de ajuste en cada subpoblación como cierta diferenciación entre las poblaciones serían las responsables (aunque cada índice por si solo no sea estadísticamente significativo) de las diferencias entre las frecuencias de los cariomorfos observadas y esperadas detectadas en la población total (F_{17}).

La inversión pericéntrica en el par M7 fue detectada en las muestras poblacionales de 1987 y 1988 de LL y en las de 1988 de LS (Tabla 14). La mutación sólo se detectó en heterocigosis en un individuo en cada una de las poblaciones mencionadas.

Así, la inversión en el par M7 estaría presente en muy baja frecuencia, no hallándose diferencias estadísticamente significativas en su valor entre años en la población de LL ($X^2:0.07$, $p:0.79$) ni entre poblaciones ($X^2:0.17$, $p:0.68$) (Tabla 14). Sin embargo no podría considerarse a la mutación en el nivel de espontánea ya que se detectó en dos poblaciones diferentes y en una de ellas dos años consecutivos. Consecuentemente, la misma podría considerarse como polimórfica al 1%.

biii)- Análisis de la frecuencia y distribución de quiasmas:

Con el objeto de analizar el posible efecto de las inversiones pericéntricas sobre la formación de quiasmas, se

analizó la frecuencia y distribución de quiasmas en homocigotas básicos (A/A), heterocigotas (A/SM) y homocigotas invertidos (SM/SM). En cada caso se estudiaron como mínimo 10 células. Como se mencionó anteriormente, se consideraron como quiasmas intersticiales a aquellos en donde la distancia desde su posición hasta el telómero más cercano representará al menos el 10-15%, en los pares grandes, el 15-20%, en los pares medianos y el 25% en los pares pequeños, de la longitud total del cromosoma.

Los análisis mencionados se llevaron a cabo en células en metafase I ya que es el estadio más frecuente y el único en el cual la posición del centrómero (que es importante para la clasificación del quiasma) puede ser determinado con precisión en esta especie.

Para estudiar la influencia de la inversión en el par M4 se analizaron 36 homocigotas básicos (27:LL, 9:EP), 33 heterocigotas (24:LL, 9:EP) y 14 homocigotas para la inversión (13:LL, 1:EP) de las muestras poblacionales de 1986 (LL y EP), 1987 y 1988 (LL).

Las frecuencias promedio de quiasmas intersticiales (X_i) y totales (X_T) por cariomorfo se presentan en la Tabla 15. En las diferentes muestras poblacionales de LL, así como en EP la frecuencia promedio de X_i en los homocigotas básicos y en los heterocigotas son semejantes mientras que existe una disminución de tal variable en los homocigotas para la inversión. En la población de LL se observa un incremento en la frecuencia de X_T a medida que aumenta el número de cromosomas invertidos, observándose una frecuencia mayor (en los tres años analizados) en los homocigotas para la inversión. En cambio en la población de EP, los homocigotas

básicos presentan una leve superioridad con respecto a los otros cariomorfos. Tal resultado podría considerarse como preliminar ya que sólo pudo analizarse un individuo homocigota para la inversión.

Los resultados se compararon estadísticamente a través de un análisis de varianza usando los datos de la población de LL (debido a que presenta un número representativo dentro de cada cariomorfo de inversión). Para ello se reunieron los valores de frecuencias observados en las diferentes muestras ya que no se detectaron diferencias significativas en las frecuencia de Xi y XT entre años en los homocigotas básicos (F:1.36, P:0.28 ; F:0.71, p:0.50), heterocigotas (F:2.39, p:0.12 ; F:0.21, p:0.81) y homocigotas de inversión (F:0.52, P:0.61 ; F:1.27, p:0.32)(Tabla 15).

Se detectaron diferencias significativas y altamente significativas en las frecuencias de Xi y XT (Tabla 15). Se compararon las frecuencias medias de quiasmas entre cariomorfos a través del método de Scheffé (1959). Dicho análisis reveló que la frecuencia de Xi es significativamente inferior en los homocigotas de inversión con respecto a los heterocigotas (F:4.36, p:0.03) y a los homocigotas básicos (F:5.61, p:0.01); pero no existen diferencias significativas entre los homocigotas básicos y los heterocigotas (F:0.69, p:0.51). De la misma forma, el análisis de la frecuencia de de XT indicó que existen diferencias significativas al comparar las frecuencias de los homocigotas básicos y heterocigotas con los homocigotas de inversión (F:3.76, p:0.029) pero no existen tales diferencias entre los dos primeros (F: 0.09, p:0.91).

Estos resultados indicarian que la inversión en el par M4 afectaria significativamente la frecuencia de Xi y XT en homocigosis.

Aunque no se pudo realizar la comparación estadística en la población de EP, es evidente que existe la misma tendencia en la frecuencia de Xi en los tres cariomorfos (Tabla 15).

Con el objeto de analizar si tal diferencia se debe a efectos intra o intercromosómicos, se analizaron separadamente los resultados obtenidos en el par M4 y en el resto del complemento.

La frecuencia de XT en el par M4 en la población de LL se presenta en la Tabla 16. A partir de los resultados se visualiza una disminución en la frecuencia de quiasmas en los heterocigotas y un aumento en los homocigotas de inversión con respecto a los otros cariomorfos.

Para estudiar el primer efecto, se analizó la frecuencia y distribución de quiasmas, clasificando a los mismos de acuerdo a su posición en el par M4 (regiones 1,2 y 3)(Fig.12). El par afectado presenta uno o dos quiasmas en los homocigotas (básicos e invertidos), siendo mayor la frecuencia de los mismos en los homocigotas de inversión. En cambio, en los heterocigotas, el bivalente heteromórfico presentaba un sólo quiasma (Tabla 16). En ambas poblaciones se hallaron resultados semejantes. Sin embargo, el análisis estadístico nuevamente se realizó en la población de LL. Ya que no existen diferencias significativas en la frecuencia de quiasmas en las distintas muestras en los homocigotas básicos ($X^2=2,87$, $p:0.24$), heterocigotas ($X^2=4.96$, $p:0.09$), se comparó la frecuencia de quiasmas a través de un análisis de varianza de los datos agrupados. Las diferencias detectadas son altamente

significativas indicando que la inversión afecta notoriamente la frecuencia de quiasmas en el par involucrado ($F:25.3, p:10^{-9}$). Tal diferencia se explicaría por el incremento en dicha variable en los homocigotas de inversión ya que, a través de la comparación de las medias por el método de Scheffé (1959), no se detectaron diferencias significativas entre los homocigotas básicos y heterocigotas ($F:0.39, p:0.69$) pero sí entre ellos y los homocigotas de inversión ($F:3.56, p:0.03$).

La frecuencia de quiasmas en las diferentes regiones se presentan en la Tabla 17. En los homocigotas de inversión, la frecuencia de quiasmas en las regiones 1 y 3 fueron agrupadas ya que, en algunos casos, no es fácil distinguir ambos sitios. Para la comparación estadística se utilizaron los datos agrupados de las diferentes muestras de la población de LL ya que no se hallaron diferencias significativas en la distribución de quiasmas en el par M4 entre años en los homocigotas básicos ($X^2:4.17, p:0.12$), heterocigotas ($X^2:1.04, p:0.59$) y homocigotas para la inversión ($X^2:1.32, p:0.52$) (Tabla 17). Se detectaron diferencias altamente significativas entre los homocigotas básicos y los heterocigotas ($X^2:18.86, p:0.00001$). Este resultado podría deberse a que en los heterocigotas no se detectaron quiasmas en la región invertida, evidenciándose un incremento en la frecuencia de quiasmas en la región 2 y por ende en la frecuencia de Xi. Este resultado explicaría la ligera superioridad en dicha variable que presentan los heterocigotas con respecto a los homocigotas básicos en todas las muestras analizadas, aunque tales diferencias no revelaron diferencias significativas al analizar la frecuencia de Xi quizás debido a la variación entre los individuos dentro de cada cariomorfo.

En los homocigotas de inversión disminuye la frecuencia de Xi y se observa un aumento en la ubicación distal de los quiasmas (Tabla 17). Ellos presentan diferencias altamente significativas tanto con los homocigotas básicos ($X^2:32.83$, $p:10^{-9}$), como con los heterocigotas ($X^2:82.42$, $p:10^{-10}$). A partir de los resultados presentados se evidencia que la inversión en el par M4 posee un efecto intracromosómico sobre la distribución de quiasmas, ya que produce un aumento de la frecuencia de Xi en heterocigosis y una disminución de la misma variable en homocigosis.

Para analizar el posible efecto intercromosómico de la inversión se analizó la frecuencia en los tres cariomorfos clasificándolos en proximales (P), intersticiales (I) y distales (D) según su ubicación. Eliminando los datos del par afectado en las distintas muestras de LL, la frecuencia de XT presenta una ligera superioridad en los homocigotas para la inversión (Tabla 18). Sin embargo, no se detectaron diferencias significativas al comparar estadísticamente las frecuencias de los datos agrupados de los tres años estudiados ($F:1.69$, $p:0.19$). Así, las diferencias entre cariomorfos encontradas anteriormente en la frecuencia de quiasmas totales se explicarían por un aumento de dicha variable en el par M4 en homocigosis.

La frecuencia de Xi en el resto del complemento continúa siendo notoriamente inferior en los homocigotas de inversión con respecto a los otros dos cariomorfos (Tabla 18). Tales diferencias resultaron ser estadísticamente significativa al comparar los datos promediados de la población de LL a través de un análisis de la varianza ($F:4.92$, $P:0.01$). La comparación de la frecuencia de Xi se realizó a través del método de

Scheffé (1959). La frecuencia promedio de Xi de homocigotas básicos y heterocigotas resultó ser significativamente superior a la de los homocigotas de inversión (F:3.20, p:0.048), no detectándose diferencias significativas entre los dos primeros (F:0.64, p:0.53). Así, la inversión en el par M4 afectaría la frecuencia de quiasmas intersticiales reduciendo su valor tanto en el par afectado como en el resto del complemento.

Con el objeto de analizar detalladamente el efecto intercromosómico, se estudió la frecuencia de quiasmas proximales, intersticiales y distales en las muestras de la población LL en cada par (Tabla 19).

Para analizar los pares medianos se registraron juntos los pares M5-M6 y M7-M8. Los resultados de los pares L₁, L₂, L₃, M₅-M₆ de las muestras de tres años consecutivos se reunieron para realizar la comparación estadística ya que no se hallaron diferencias significativas al comparar la frecuencia de quiasmas intersticiales y terminales (proximales+distales) entre años dentro de cada cariomorfo de inversión (Tabla 19). Las frecuencias de los pares S₁₀ y S₁₁ no se pudieron comparar entre años ya que existen clases donde la frecuencia de quiasmas en posición intersticial es nula. La distribución de quiasmas en los pares M₇-M₈ presenta diferencias significativas entre años en la frecuencia de quiasmas terminales e intersticiales. Por lo antes mencionado los pares M₇-M₈, S₁₀ y S₁₁ fueron analizados estadísticamente por separado según los años de muestreo.

No se detectaron diferencias estadísticamente significativas, evaluadas a través de una prueba de χ^2 de

contingencia, en la distribución de quiasmas en los pares largos entre los tres cariomorfos (Tabla 19).

En los pares M5-M6 se observa un incremento altamente significativo en la frecuencia de quiasmas terminales ($X^2:19.14$, $p:0.0007$) en los individuos que presentan la inversión. Con el objeto de analizar si el efecto mencionado se produce tanto en heterocigosis como en homocigosis se realizó el análisis estadístico por separado. En la distribución de quiasmas en los pares M5-M6 los homocigotas básicos presentan diferencias altamente significativas respecto a los homocigotas de inversión ($X^2:18.64$, $p:0.00009$), sin detectarse diferencias con respecto a los heterocigotas ($X^2:3.31$, $p:0.19$). Así, la inversión en el par M4 produciría una disminución en la frecuencia de Xi en los pares M5-M6 que explicar en parte la reducción en tal variable detectada en los homocigotas de inversión.

En los pares M7-M8 se analizaron los resultados cada año de muestreo. En 1986, se detectó un incremento significativo en la frecuencia de quiasmas terminales en los individuos que presentan la inversión ($X^2:7.42$, $p:0.024$). Al igual que en los pares M5-M6, la distribución de los quiasmas en los pares M7-M8, los homocigotas básicos difieren significativamente respecto a los homocigotas de inversión ($X^2:7.01$, $p:0.08$), pero no presentan diferencias con los heterocigotas ($X^2:0.18$, $p:0.67$). Estas observaciones indicarían que en la muestra de 1986 se verifica un efecto intercromosómico sobre la distribución de quiasmas en los pares analizados cuando la inversión está en homocigosis. En la muestra de 1987 se observa también un ligero incremento en la frecuencia de quiasmas distales en los homocigotas invertidos pero no

producen diferencias estadísticas entre cariomorfos ($X^2:0.24$, $p:0.88$). Por el contrario, en 1988 los individuos homocigotas invertidos presentan una superioridad altamente significativa en la frecuencia de quiasmas intersticiales ($X^2: 11.75$, $p: 0.003$). Así, aunque en los primeros años de muestreo se observa una superioridad en la frecuencia de quiasmas distales en los individuos que presentan la inversión en homocigosis en el último año de muestreo tal efecto se ve alterado.

En los pares pequeños (S_{ϕ} , S_{10} y S_{11}) no se detectaron diferencias significativas en la muestra de 1986 ($X^2:0.40$, $p:0.82$; $X^2:1.24$, $p:0.54$; $X^2:0.10$, $p:0.95$ respectivamente). En las muestras de 1987 y 1988 no se ve afectada la frecuencia de quiasmas en el par S_{ϕ} ($X^2:3.06$, $p:0.22$; $X^2:1.64$, $p:0.44$). Sin embargo se observa un incremento en la frecuencia de quiasmas terminales en los pares S_{10} S_{11} en los individuos portadores de la inversión (Tabla 19). En la muestra de 1987 la frecuencia de Xi disminuye en los heterocigotas y llega a ser nula en los homocigotas de inversión. Si bien este efecto es marcado no se pudo realizar una comparación estadística debido a las frecuencias iguales a cero. En la muestra de 1988 se presenta el mismo efecto, detectándose que un aumento significativo o altamente significativo de la frecuencia de quiasmas terminales en los pares S_{10} y S_{11} en los portadores de la inversión ($X^2:6.24$, $p:0.04$; $X^2:12.65$, $p:0.0018$).

En la población de EF también se analizó el posible efecto intercromosómico. Al igual que en la población de LL, no existen diferencias significativas en la distribución de quiasmas en los bivalentes largos y pequeños entre cariomorfos ($p > 0.05$ en todos los casos). Nuevamente en los

pares medianos se observa una modificación. Los portadores de la inversión presentan un aumento en la frecuencia de quiasmas terminales con una consecuente disminución en la frecuencia de quiasmas intersticiales. Este efecto es más marcado en los homocigotas que en los heterocigotas (Tabla 20). Este incremento es más notorio en los pares M5-M6 en donde se encontraron diferencias significativas ($X^2:7.88$, $p:0.02$). Al analizar los pares M7-M8 aunque claramente muestran la misma tendencia hacia la disminución de la frecuencia de quiasmas intersticiales no se detectaron diferencias significativas.

El análisis global de los diferentes muestreos en las poblaciones de LL y EP indicarian que la inversión en el cuarto par cromosómico afectaría la frecuencia de Xi y XT. Un efecto netamente intracromosómico sería el responsable del incremento en los homocigotas de inversión en la frecuencia de Xt. En cambio la disminución en la frecuencia de Xi observada en los homocigotas de inversión se debería a un efecto intra e intercromosómico. El intracromosómico debido a que la inversión en doble dosis favorece el entrecruzamiento en posición distal. El intercromosómico podría explicarse por una disminución de la misma variable en los pares medianos y/o pequeños. Obviamente, en las dos poblaciones estudiadas, se verifica que dicho efecto es más marcado en los pares M5-M6 donde se hallaron diferencias significativas o altamente significativas en todas las muestras. En los pares M7-M8 en las muestras de 1986 de LL y en EP se observó un efecto semejante. Concomitantemente, en los pares S₁₀ y S₁₁ se observó una disminución en la frecuencia de Xi pero sobre todo en las muestras de 1987 y 1988 de LL.

Los individuos que presentaban la inversión M7 eran heterocigotas para la inversión M4. Por ello, para analizar la influencia de la inversión en el par M7 se estudió la frecuencia y distribución de quiasmas en los individuos portadores de la misma en las muestras analizadas en 1988 y en 10 individuos heterocigotas para la inversión M4 (5 individuos de la población LL y 5 de la población LS, con el objeto de realizar el análisis dentro del mismo cariomorfo de inversión M4).

Las frecuencias promedio de Xi y XT por cariomorfo se presentan en la Tabla 21. En ambas poblaciones la frecuencia de Xi muestra un leve incremento en los individuos heterocigotas. En cambio, en la frecuencia de XT no se evidencia una tendencia similar en las dos poblaciones. Con el objeto de realizar una comparación estadística , se agruparon los datos de ambas poblaciones ya que entre ellas no se hallaron diferencias significativas ni para Xi ni para XT (F:0.01, $p > 0.05$, F:0.05, $p > 0.05$). Las diferencias observadas en las frecuencias de Xi y XT no fueron estadísticamente significativas (F:1.46, $p:0.25$; F:0.134, $p:0.72$).

Para analizar si la inversión mencionada posee algún efecto sobre la distribución de quiasmas en el par involucrado, se analizó dicha variable en las células antes mencionadas, clasificando los quiasmas según su posición en proximales intersticiales y distales. El análisis se llevo a cabo usando los datos agrupados de ambas poblaciones ya que entre ellas no existen diferencias significativas en la distribución de quiasmas en los bivalentes estudiados ($X^2:0.92$, $p: 0.63$). Tanto los homocigotas básicos como los heterocigotas presentan un sólo quiasma quiasma en el par M7 . En los primeros dicho

quiasma se presenta, generalmente, en posición distal y menos frecuentemente en posición intersticial (Tabla 21). En los heterocigotas el quiasma también se observa frecuentemente en posición distal, la única diferencia es que no se observaron quiasmas proximales (Tabla 22). Esto indicaría ausencia de quiasmas en la región donde ocurrió la inversión. Las diferencias halladas no son estadísticamente significativas. Esto se debería a que los homocigotas básicos presentan una baja frecuencia de quiasmas proximales. Aunque en los heterocigotas una reducción total de quiasmas en dicha región, la misma no se detecta estadísticamente.

De acuerdo a los resultados presentados, se concluye que la inversión en el par M7 no afectaría significativamente la frecuencia y distribución de quiasmas en los bivalentes analizados.

biv)- Efecto sobre la formación de espermatidas:

Para determinar si la inversión pericéntrica M4 afecta la formación de espermatidas, se analizaron las espermatidas de 21 individuos (7 de cada cariomorfo de inversión) pertenecientes a las muestras poblacionales de LL de 1987 y 1988. En la Tabla 23 se presenta el porcentaje de espermatidas normales (haploides) y anormales (macroespermátidas) por macho y por cariomorfo, indicándose en cada caso el número de células estudiadas.

En los tres cariomorfos analizados se observó formación de macroespermátidas, presentándose un leve incremento en su frecuencia a medida que aumenta el número de cromosomas invertidos (se observó una ligera superioridad en los homocigotas de inversión con respecto a los heterocigotas y de

estos últimos con respecto a los homocigotas básicos). Sin embargo tales diferencias comparadas a través de una prueba de X^2 , resultaron ser estadísticamente no significativas tanto en la muestra de 1987 ($X^2=1.69$, $p:0.43$) como en 1988 ($X^2=4.83$, $p:0.09$).

bv)-Efecto sobre rasgos exomorfológicos:

Con el propósito de determinar si la inversión pericéntrica en el par M_4 afecta los rasgos exomorfológicos se realizaron mediciones de longitud sobre tibia, tórax, fémur, tegmina, así como largo total en individuos con diferente cariomorfo de inversión. Para el mencionado estudio morfométrico se analizaron 71 individuos de la población de LL (pertenecientes a las muestras de 1986 y 1988) y 25 de la muestra poblacional de LS (1988). Los resultados se presentan en la tabla 24. En ambas poblaciones y en casi todas las características analizadas (excepto longitud de la tibia en LL 1988 y tórax, fémur y ala en LL 1986). Se observan valores mayores en los heterocigotas. Tal incremento en general va acompañado de una disminución de las variables medidas en los homocigotas de inversión respecto a los homocigotas básicos. Estos resultados indican que en los heterocigotas se manifiesta un efecto de superdominancia positiva presentando los mismos un tamaño superior a los homocigotas respectivos. En la muestra poblacional de 1986, en los caracteres longitud del tórax, fémur y ala, también se evidencia superdominancia pero en este caso es negativa, es decir que los heterocigotas son más pequeños que los homocigotas estándar y de inversión.

Debido a este efecto múltiple se procesaron los datos conjuntamente a través de un análisis de varianza múltiple (MANOVA) discriminado, utilizando los datos de LL 1988 debido a que esta muestra presenta un número de individuos representativo dentro de cada cariomorfo. El mismo indicó que las diferencias observadas entre cariomorfos de inversión M_4 en los caracteres morfológicos medidos son estadísticamente significativos (Wilks-Lambda:0.737, F:2.113, p:0.028). Aunque en la población de LS no pudo realizarse el mismo análisis estadístico, las diferencias observadas presentan la misma dirección que en LL.

Con el objeto de determinar que parte de las diferencias entre cariomorfos observadas son atribuibles a causas genéticas aditivas o de dominancia de la inversión se calcularon los valores genotípicos en la escala arbitraria (a, -a, d), así como el efecto medio del rearrreglo para cada característica analizada (Tabla 25). Para fines deductivos se tuvo en cuenta a la inversión como unidad, es decir considerando el efecto del "supergen", de forma tal de poder homologar el tratamiento al propuesto por Falconer (1984) para un locus simple con dos alelos. Así, se usará la nomenclatura de valor genotípico, valor reproductivo, desviación de dominancia así como efecto medio considerando que, aunque consideremos el supergen, hacemos referencia por extensión al rearrreglo. De esta forma, el valor genotípico del homocigota de mayor tamaño será "+a", el del otro "-a", asignando al heterocigota "d". El origen o punto valor cero en esta escala arbitraria será el valor medio entre los valores de los dos homocigotas. Ya que el efecto medio es una propiedad del

rearrreglo y de la población, se realizó el análisis por separado en las distintas muestras.

En todos los caracteres (excepto longitud de la tibia en LL 1988) el valor genotípico arbitrario del heterocigota (d) es superior al valor de "a" evidenciando la existencia de superdominancia. Los valores de "d" mayores que cero (excepto en LL 1986) señalaría que este tipo de interacción es positiva en la mayoría de los caracteres analizados (Tabla 25).

Los efectos medios de la inversión presentan el mismo signo para longitud total, fémur y tegmina en las distintas muestras estudiadas. En el caso de longitud total y de la tegmina estos son positivos indicando que la media de los individuos portadores de la inversión es mayor que la media poblacional. Por el contrario, en el caso de longitud del fémur el efecto medio del rearrreglo es negativo. Es decir, que en función del efecto medio del rearrreglo se esperaría un incremento en el largo total y de la tegmina y una disminución en el largo del fémur en los individuos que portan inversión M_4 .

Los efectos medios del rearrreglo sobre el largo de la tibia y el tórax presentan distintos signos en las diferentes poblaciones. Estos resultados pueden deberse a que el efecto medio es pequeño y los caracteres involucrados son los de menor tamaño revelando menores diferencias entre entre cariomorfos.

A partir de los valores de los efectos medios junto con la frecuencia de la inversión y los valores genotípicos en unidades arbitrarias se pudieron estimar los valores genotípicos, reproductivos y la desviación de dominancia tomados como desvío con respecto a la media poblacional (ya

que fueron calculados en función del efecto medio de la inversión) dentro de cada cariomorfo (según Falconer 1984) (Tabla 26).

Los valores para longitud total de los mismos cariomorfos en las distintas muestras poblacionales presentan el mismo signo, como era de esperar en función de los signos de los efectos medios. En los dos homocigotas el valor genotípico relativo es negativo y es positivo para los heterocigotas, reflejando la ocurrencia de superdominancia. De los dos homocigotas los portadores de inversión presentan el menor valor. Los valores reproductivos relativos, que resultan de la suma de los efectos medios de los arreglos cromosómicos presentes en cada cariomorfo son negativos para los homocigotas básicos y positivo para los heterocigotas y homocigotas de inversión siendo mayor para estos últimos. Estos resultados indicarían que, en promedio, los descendientes de los homocigotas básicos serían los más pequeños, los de los heterocigotas intermedios y los de los homocigotas de inversión los más largos. Tal efecto puede visualizarse más fácilmente sumando el valor medio para cada carácter analizado a los valores reproductivos relativos transformándolos en valores absolutos (Tabla 27).

Para la longitud de la tegmina la situación es la misma que la ya descrita para longitud total en las muestras de LL 1988 y LS. Sin embargo en LL 1986 los valores genotípicos presentan los mismos signos que los valores reproductivos (negativo en los heterocigotas y homocigotas de inversión y positivo en los homocigotas estándar). El valor genotípico en los heterocigotas en este caso es el mínimo.

Para longitud del fémur en las poblaciones muestreadas en 1988 se verifica un valor genotípico relativo positivo sólo en el caso de los heterocigotas reflejando la superdominancia. A diferencia de los otros 2 caracteres analizados anteriormente, el valor reproductivo relativo es positivo en los homocigotas estándar y negativo en los heterocigotas y homocigotas de inversión siendo mínimo en estos últimos. Así en función del efecto medio de la inversión, los homocigotas estándar aportarían descendientes más grandes y los homocigotas de inversión los más pequeños. Es decir que a medida que aumenta el número de cromosomas invertidos disminuiría el tamaño del fémur (Tabla 26). Al igual que en el caso anterior se visualiza la influencia fácilmente, al analizar los valores reproductivos absolutos (Tabla 27).

En LL 1986 al igual que para la longitud de la tegmina los valores genotípicos del largo del fémur de los heterocigotas son negativos. Los valores reproductivos absolutos son negativos para los heterocigotas y homocigotas de inversión siendo mínimo en estos últimos. Por lo tanto, se esperaría un valor menor en los descendientes homocigotas de inversión. El mencionado efecto es también visualizado a partir de los valores reproductivos absolutos (Tabla 27).

Las diferencias entre los valores genotípicos y reproductivos, ya sean relativos o absolutos, se deberían a desviaciones de dominancia que produce el rearreglo (ya que se despreciando la existencia de desviación epistática ya que se considera una sólo reestructuración).

Las longitudes de tibia y tórax presentan diferente comportamiento en las diferentes poblaciones con valores reproductivos relativos con distinto signo. Los valores

genotípicos relativos de la longitud del tórax presentan el mismo signo en las muestras de 1988 (LL y LS) mostrando el máximo para los heterocigotas y una superioridad de los homocigotas básicos con respecto a los invertidos. Sin embargo, los valores reproductivos relativos muestran un incremento en LL y una disminución en LS en el largo del tórax a medida que aumenta el número de cromosomas invertidos. Por otro lado la misma variable en LL 1986 presenta signos opuestos en el valor genotípico relativo evidenciando una disminución marcada de los heterocigotas respecto a los dos homocigotas.

En los valores genotípicos relativos de longitud de la tibia en LL 1988 no se observa superdominancia y en la población de LS el valor del heterocigota es sólo ligeramente superior al del homocigotas de inversión. Sin embargo en la población de LL 1986, donde el valor de "d" es mucho mayor que el de "a", se evidencia una superdominancia marcada. En esta muestra poblacional se observa que el valor reproductivo se incrementa a medida que aumenta el número de cromosomas invertidos. Nuevamente los valores genotípicos evidencian una superioridad de los heterocigotas existiendo una notoria desviación de dominancia (Tabla 26).

Los valores de las desviaciones de dominancia en los caracteres analizados son notorios y explicarían principalmente los valores genotípicos estimados. Es decir que estos resultados indicarían que el valor métrico genotípico es el resultado principalmente del efecto de dominancia que produce el rearreglo. Como se mencionó anteriormente es frecuente evidenciar una superioridad del heterocigota.

A partir de los resultados obtenidos podemos concluir que la inversión en el par M_4 afectaría las características morfológicas analizadas siendo esta influencia más notoria y constante en las distintas muestras para los caracteres longitud total del fémur y de la tegmina. Esta influencia es principalmente debida a desvíos de dominancia del rearreglo que prepondera sobre el valor reproductivo.

Con el objeto de analizar la variación fenotípica dentro de cada cariomorfo de inversión se estimaron las varianzas para las mismas cinco características exomorfológicas (Tabla 28). En ambas poblaciones se verifica la tendencia hacia la disminución en la varianza entre los individuos dentro de cada cariomórfo a medida que aumenta el número de cromosomas invertidos. Los valores medios de varianzas entre cariomorfos fueron comparados a través de una prueba de Barlett. A pesar de la tendencia indicada, sólo se han detectado diferencias altamente o marginalmente significativas en las longitudes de tibia y tegmina respectivamente en la población de LL. Este resultado podría deberse a que sería necesario analizar un número mayor de individuos para detectar si tales diferencias son significativas desde el punto de vista estadístico. Un enfoque alternativo del problema se basa en una prueba no paramétrica. Si las diferencias entre cariomorfos fueran debidas al azar se esperaría que en 5/15 comparaciones se evidenciara superioridad de un cariomorfo distinto. Sin embargo, la varianza de los homocigotas básicos es mayor en la mayoría de las comparaciones hallándose diferencias altamente significativas en una prueba de comparación de signos (X^2 : 10.8, p :0.001).

Al analizar la varianza entre individuos dentro de cada muestra poblacional se verifica que la población de LL es la que presenta mayor frecuencia de inversión (0.40) y menor varianza fenotípica (Tabla 29).

Con el objeto de analizar si la variación en las varianzas observada es atribuible a causas genéticas o ambientales se calcularon las varianzas aditivas, de dominancia y genotípicas en función de los efectos medios y teniendo en cuenta el valor genotípico arbitrario y las frecuencias alélicas (Falconer 1984) (Tabla 30). A partir del análisis de los datos se visualizan dos resultados importantes: 1)-La varianza aditiva de todos los caracteres explica sólo un escaso porcentaje de la variación fenotípica observada (0.02-8%). Sin embargo la varianza genotípica en la mayoría de los caracteres explica una proporción notoriamente superior de la varianza fenotípica (2.3-46%) sugiriendo un importante componente de varianza de dominancia. 2)- La variación genotípica explica sólo parte de la variación fenotípica detectada lo que indicaría un importante componente ambiental y genotípico residual. En las muestras poblacionales de 1988 (LL y LS) el porcentaje de la variación fenotípica explicado por la variación genotípica sería menor, sugiriendo mayor efecto ambiental en este año de muestreo.

c)- Variaciones Intercromosómicas: Fusiones céntricas

c')- Fusión céntrica espontánea:

c'i)-Descripción y comportamiento meiótico:

En la muestra poblacional de LL de 1987, se detectó una mutación espontánea. Un macho, heterocigoto para la inversión M4 era además portador de una fusión céntrica que involucraba los pares M6 y M7 (Fig. 13 A,B). Dicha restructuración se extendía a toda la línea germinal. El cromosoma fusionado es metacéntrico ya que los cromosomas que sufrieron el rearreglo son de similar tamaño y ninguno de ellos tuvo una reducción aparente del mismo. En todas las células analizadas, en diplotene y metafase I, se observó la formación de trivalentes mantenidos siempre por dos quiasmas. Durante metafase I, el trivalente presentaba dos tipos de orientaciones. En la orientación alterna el cromosoma fusionado M6-7 se coorientaba con los acrocéntricos M6 y M7 (Fig. 13 B). Mientras que en la orientación lineal el cromosoma M6-7 se orientaba hacia el mismo polo que uno de los acrocéntricos (M6-7 + M6/ M7 o M6-7 + M7 / M6) (Fig. 13 A). La frecuencia de cada clase de orientación se presenta en la Tabla 31. La relación entre las frecuencias observadas se ajusta a una proporción 3:1 (lineal:alterna) ($\chi^2:0.027$, $p:0.87$). Sin embargo, al analizar las combinaciones cromosómicas en metafase II se observa que las frecuencias observadas se ajustan a una proporción 1:1 (balanceadas:desbalanceadas).

c'ii)-Análisis de la frecuencia y distribución de quiasmas:

Con el propósito de estudiar el efecto de la fusión espontánea sobre la frecuencia y distribución de quiasmas se analizaron citológicamente cinco individuos heterocigotas para la inversión (para analizar dentro del mismo cariomorfo de inversión M4) y el individuo heterocigota para la fusión. En cada caso se analizaron células en metafase I y los quiasmas se clasificaron en proximales, intersticiales y distales se acuerdo a la posición del centrómero.

Los resultados sugieren que la fusión no afectaría la frecuencia de quiasmas totales en los cromosomas involucrados, ya que en trivalente se producen dos quiasmas al igual que en los bivalentes acrocéntricos (M6+M7).

La distribución de quiasmas en el multivalente varía en las diferentes orientaciones. Si es alterna, la clase más frecuente es la de dos quiasmas distales, mientras que si es lineal es un quiasma intersticial y uno distal (Tabla 32). Esto indicaría que la distribución de quiasmas en el trivalente puede afectar la orientación del mismo.

Para comprobar si la fusión afecta el patrón de distribución de quiasmas, se analizó la frecuencia de formación de los mismos en el metacéntrico fusionado y en los bivalentes acrocéntricos (Tabla 33). No se hallaron diferencias significativas en la distribución de quiasmas en el par M6 ($X^2=1.53$, $p=0.46$) y en el par M7 ($X^2=3.71$, $p=0.16$).

c'')- Fusión céntrica polimórfica.

c''i)- Descripción y comportamiento meiótico:

En las poblaciones de LL, LS y EC se detectó un polimorfismo para una fusión céntrica que afecta al cromosoma sexual (Fig. 13 C). A través de una comparación de la longitud relativa entre el cariotipo básico y el cariomorfo neo XY se evidenció que el autosoma M5 es el involucrado en el rearrreglo. De acuerdo a la terminología utilizada por White (1954), la porción ancestral del neo X será llamada XL y la porción homóloga al autosoma será XR. El componente del XL del neo X retiene su comportamiento alocíclico mientras que el XR es eucromático. El neo Y es eucromático y presenta el mismo tamaño que el componente XR.

Este rearrreglo se detectó en la población LL en las muestras de tres años consecutivos (Tabla 34). A través de los mismos, la frecuencia de la fusión no varía significativamente (χ^2 : 2.90, p :0.23). Sin embargo se observa que dicha variable fluctúa, presentando en 1987 un valor mayor que en 1986 y en 1988 menor que en 1987. Estas fluctuaciones en "zig-zag", podrían deberse a que la mutación no alcanzó el equilibrio en la población en análisis y no se detecta estadísticamente debido a la baja frecuencia de la misma.

La fusión fue detectada también en dos poblaciones analizadas en 1988: LS y EC. En ambas la mutación se presenta en baja frecuencia, no detectándose diferencias significativas entre las tres poblaciones analizadas. (χ^2 : 1.30, p :0.52).

c'ii)- Análisis de la frecuencia y distribución de quiasmas:

Con el objeto de analizar el efecto de la fusión céntrica sobre la frecuencia de quiasmas se analizaron, en la muestra poblacional de 1987 de LL, 4 individuos neo XY, (2 homocigotas básicos y 2 heterocigotas para la inversión M4) y 20 individuos X0, (10 individuos de cada cariomorfo de inversión mencionado). Los resultados obtenidos son presentados en las Tablas 35 y 36.

A partir de los resultados del análisis de las muestras de la población LL de 1986, 1987 y 1988 se evidenció que la inversión detectada en el par M4 afectaría la frecuencia de Xi y XT sólo en homocigosis. No obstante se comparó dicha variable entre portadores y no portadores de la inversión en individuos con diferente cariomorfo de fusión en la muestra de la población de LL de 1987. Los resultados son presentados en las Tablas 35 y 36. La comparación de los diferentes cariomorfos de inversión no reveló diferencias significativas en la frecuencia de Xi ($F:0.89$, $p:0.30$; $F:2.84$, $p:0.23$) ni en la frecuencia de XT ($F:0.23$, $p:0.64$; $F:0.35$, $p:0.61$) en los individuos X0 y neo XY.

Estos resultados corroboran los obtenidos con anterioridad y además indican que no existe interacción entre los rearrreglos mencionados. Así, para comparar la influencia de la fusión céntrica se compararon los resultados obtenidos en los cuatro individuos neo XY y los diez individuos X0 (5 individuos de cada cariomorfo de inversión elegidos al azar). Los valores medios de las frecuencias de quiasmas se presentan en la Tabla 37. En ella se verifica (al igual que en las

Tablas 35 y 36) una mayor frecuencia de quiasmas intersticiales en los individuos X0. Tales resultados se compararon estadísticamente, a través de un análisis de varianza, hallándose diferencias significativas entre cariomorfos de fusión ($F:5.8$, $p:0.037$). La frecuencia de XT es levemente superior en los individuos X0, no detectándose diferencias significativas al comparar dicha variable con los individuos neo XY ($F: 0.15$, $p: 0.704$).

Con el objeto de analizar si la superioridad en la frecuencia de Xi es debida a un efecto intracromósomico, se analizó el patrón de distribución de quiasmas en el par afectado. Ya que la inversión pericéntrica no afecta la frecuencia de quiasmas intersticiales en heterocigosis en los pares M5-M6, se comparó la distribución de quiasmas entre los individuos X0 y neo XY reuniendo los datos de los homocigotas básicos y heterocigotas de inversión. En los homocigotas básicos se estudiaron 109 células de 9 individuos X0 y 103 células de los 2 individuos neo XY. En los heterocigotas se analizaron 94 células de 9 individuos X0 y 45 células de los 2 individuos neo XY. Los resultados obtenidos evidenciaron un incremento altamente significativo en la frecuencia de quiasmas distales en el par M5 en los individuos portadores de la fusión (Tabla 38) ($X^2:52,16$. $p:10^{-10}$).

Con el propósito de comprobar si la disminución significativa en la frecuencia de quiasmas intersticiales en los individuos neo XY se debe únicamente a efectos de distribución de quiasmas en el par afectado se analizaron los resultados excluyendo los datos del bivalente M5 (Tabla 39). No existe una disminución significativa en los individuos neo

XY en la frecuencia de quiasmas distales si se elimina el par M5 (F:2.59, p:0.13).

Resultados similares se obtuvieron al analizar la muestra poblacional de LL de 1988. En ella se estudió la frecuencia de Xi y XT en los individuos neo XY heterocigotas para la inversión y en seis individuos XO con el mismo cariomorfo de inversión. Los resultados son presentados en la Tabla 40. Nuevamente se verifica una frecuencia de Xi superior en los individuos XO. Tal diferencia resultó ser estadísticamente significativa al efectuar la comparación a través de un ANOVA (F:10.55, p:0.018). La frecuencia de XT permanece prácticamente constante, no detectándose diferencias significativas entre cariomorfos de fusión (F: 0.59, p:0.47). El incremento en la frecuencia de Xi es evidentemente reflejo de un efecto sobre la distribución de quiasmas en el par afectado ya que al eliminar los datos del par M₅ del análisis no se hallaron diferencias significativas entre los cariomorfos de fusión (Tabla 41) (F: 3.56, p: 0.10).

Estos resultados sugieren que la fusión X-autosoma detectada está relacionada con un efecto únicamente intracromosómico sobre la distribución de quiasmas.

c''iii)- Efecto sobre la formación de espermátidas:

Con el propósito de determinar si la fusión céntrica afecta la frecuencia de espermátidas anormales se estudiaron 12 individuos XO y 7 individuos neo XY. Ya que no existen diferencias significativas entre portadores y no portadores de la inversión pericéntrica en la formación de esperma, se

reunieron para la comparación los datos de ambos cariomorfos (Tabla 42). Tanto los individuos XO como neo XY se observó la producción de macroespermátidas. Sin embargo, los portadores de la fusión presentaron una superioridad altamente significativa en la frecuencia de macroespermátidas tanto en 1987 como en 1988 ($X^2:56,16$, $p:10^{-10}$; $F:168,94$, $p: 2.10^{-10}$) y producción, aunque en baja frecuencia, de microespermátidas (Tabla 42). De esta forma la fusión céntrica afectaría la formación de esperma de los individuos portadores.

Con el objeto de analizar las posibles causas que conducen a su formación, se estudió el nivel de ploidía de las mismas a través de estudios citoespectrofotométricos de medición de contenido de ADN en núcleos espermáticos antes de su etapa de elongación. Se analizó el contenido de ADN en espermátides normales y anormales, en unidades arbitrarias, en cuatro individuos neo XY. El contenido de ADN promedio de las espermátides haploides (valor c) es 19.313803 ± 0.13526 .

Las macroespermátidas analizadas presentan valores que corresponden de 2 a 5 veces el contenido de ADN de las espermátides haploides. Las diferentes clases de macroespermátidas y sus frecuencias se encuentran en la Tabla 43. Aunque existe un amplio rango de variación en el nivel de ploidía, las macroespermátides diploides son notoriamente más frecuentes en los individuos portadores de la fusión.

Tabla 1- *Dichroplus elongatus*- Frecuencias de asociaciones de cromosomas B observadas en células en diplotene con diferente número de supernumerarios.

Número de B	2I	II	3I	II+I	III	4I	II+2I	2II	III+I	IV
2B	0.060	0.940								
3B	0.085	0.802	0.113							
4B	0.071	0.107	0.643	0.036	0.143					

Tabla 2- *Dichroplus elongatus*- Frecuencias promedio de quiasmas totales por célula en diplotene y valores del estadístico "F" para la comparación de tales promedios entre células con diferente número de B.

Ind.	Número de B					F	p
	0	1	2	3	4		
700	--	13.06	12.74	13.15	--	1.99	0.15
702	--	13.11	12.95	13.04	12.91	0.13	0.94
740	13.69	13.58	13.81	13.44	13.20	0.84	0.50
747	12.70	12.79	13.00	--	--	0.48	0.62

Tabla 3- *Dichroplus elongatus*- Frecuencias promedio de quiasmas intersticiales por célula en diplotene y valores de los estadísticos "F", para la comparación de tales promedios entre células con diferente número de B, y de "t", para la comparación de las frecuencias extremas dentro de cada individuo.

Ind.	Número de B				F	p	t	p	
	1	2	3	4					
700	--	5.29	5,15	6.08	--	2.66	0.07	2.34	0.01
702	--	5.11	5.90	5.86	6.73	1.24	0.30	1.57	0.06
740	5.86	6.25	6.75	6.81	7.40	1.98	0.11	2.86	0.004
747	4.60	6.30	6.89	--	--	6.66	0.002	--	--

Tabla 4- *Dichroplus elongatus*- Frecuencias promedio de quiasmas intersticiales/totales por célula en diplotene y valores de los estadísticos "F", para la comparación de tales promedios entre células con diferente número de B, y de "t", para la comparación de las frecuencias extremas dentro de cada individuo.

Ind.	Número de B					F	p	t	p
	0	1	2	3	4				
700	--	0.407	0.405	0.463	--	1.78	0.17	1.91	0.03
702	--	0.387	0.455	0.452	0.520	1.49	0.22	1.88	0.03
740	0.429	0.463	0.488	0.509	0.561	2.66	0.04	--	--
747	0.362	0.495	0.529	--	--	5.86	0.005	--	--

Tabla 5- *Dichroplus elongatus*- Frecuencias promedio de datos transformados de las frecuencias de quiasmas intersticiales (X_i) e intersticiales/totales (X_i/X_T) para células con diferente número de B.

	Número de B				
	0	1	2	3	4
X_i	-0.6279	0.0113	0.0097	0.1531	0.4858
X_i/X_T	-0.6415	-0.0741	-0.0359	0.2247	0.5582

Tabla 6- *Amblytropidia australis*- Frecuencias promedios de quiasmas intersticiales (X_i) y totales (X_T) por célula en diplotene de individuos portadores(+B) y no portadores (OB) de cromosomas B.

	-B	+B
X_i	7.03	9.68
X_T	12.88	12.94

Tabla 7- *Amblytropidia australis*- Frecuencias promedio de quiasmas intersticiales (X_i) y quiasmas totales (X_T) de células en diplotene con distinto número de B en un individuo portador.

	OB	1B	2B
X_i	7.67	9.33	10.00
X_T	12.11	12.33	13.11

Tabla B- *Amblytropidia australis*- Análisis de varianza para comparar la frecuencia de quiasmas intersticiales entre células con diferente número de B.

	GL	SC	CM	F	p
Cariomorfos	2	26	13	4.88	0.016
Error	24	24	64		
Total	26	90			

Comparación entre medias:

Xi OB-1B	f/Sf = 2.16	F:2.333	p:0.11
Xi 1B-2B	f/Sf = 0.87	F:0.378	p:0.68
Xi OB-2B	f/Sf = 3.02	F:4.560	p:0.02

Tabla 9- *Amblytropidia australis*- Porcentaje de espermatidas haploides (X), diploides (2X) y tetraploides (4X) por macho.

Ind.	Número de espermatidas	X	2X	4X	Tot.anormal
P-47	516	99.61	0.39	--	0.39
OB P-45	539	99.81	0.19	--	0.19
P-43	569	99.47	0.53	--	0.53
Total	1624	99.63	0.37	--	0.37
B P-17	297	94.61	4.72	0.67	5.39
P-8	1737	98.67	1.33	--	1.33
Total	2034	98.28	1.82	0.10	1.92

Tabla 10- *Dichroplus elongatus*- Frecuencias medias de quiasmas intersticiales (Xi) totales (XT) e intersticiales/totales (Xi/XT) por célula en diplotene y valores del estadístico "F" para la comparación de dichos promedios entre cariomorfos.

	Homocigotas Básicos	Heterocigotas	F	p
Xi	5.0200	5.6125	1.77	0.20
XT	13.6900	13.7750	0.17	0.68
Xi/XT	0.3680	0.4095	1.50	0.23

Tabla 11- *Sinipta dalmani*- Frecuencias de inversión (i) en el par M4 y de sus diferentes cariomorfos, homocigotas básicos (A/A), heterocigotas (A/SM) y homocigotas de inversión (SM/SM) en la población de "Los Loros" en cuatro años consecutivos, indicando el número de individuos analizados (N) y los valores de χ^2 de bondad y ajuste.

	A/A	A/SM	SM/SM	N	i	χ^2	p
1985	0.66	0.33	--	9	0.17		
1986	0.40	0.40	0.20	30	0.40	0.83	0.36
1987	0.55	0.37	0.08	38	0.27	0.13	0.72
1988	0.44	0.36	0.20	55	0.38	2.92	0.09

Tabla 12- *Sinipta dalmani*- Frecuencias de inversión (i) en el par M_4 y de sus diferentes cariomorfos, homocigotas básicos (A/A), heterocigotas (A/SM) y homocigotas de inversión (SM/SM) en las poblaciones de "El Palmar" (EP), "Los Sauces" (LS) y "El Camino" (EC), indicando el número de individuos analizados (N) y los X^2 de bondad de ajuste.

Pob.	Año	A/A	A/SM	SM/SM	i	N	X^2	p
EP	1986	0.45	0.50	0.05	0.30	22	0.88	0.35
LS	1988	0.43	0.40	0.17	0.37	30	0.57	0.45
EC	1988	0.61	0.32	0.07	0.23	31	0.19	0.66

Tabla 13- Valores de FIS en las poblaciones de "Los Loros" (LL), "Los Sauces" (LS) y "El Camino" (EC) de 1988 y valores de X^2 para la determinación de su significación.

Población	FIS	X^2	p
LL	0.238364	3.1249	0.08
LS	0.155339	0.7239	0.39
EC	0.009356	0.2719	0.60

Tabla 14- *Sinipta dalmani*- Frecuencias de inversión (i) en el par M_7 en las poblaciones de "Los Loros" (LL) y "Los Sauces" (LS), indicando el número de heterocigotas (H) y el total de individuos analizados (N).

Pob.	Año	H	N	i
LL	1987	1	38	0.013
	1988	1	55	0.009
LS	1988	1	31	0.016

Tabla 15- *Sinipta dalmani*- Frecuencias medias de quiasmas intersticiales (Xi) y totales (XT) por célula en las poblaciones de "Los Loros" (LL) en 1986, 1987 y 1988 y "El Palmar" (EP) en 1986, y valores del estadístico "F" para la comparación de tales promedios entre diferentes cariomorfos, homocigotas básicos (A/A), heterocigotas (A/SM) y homocigotas de inversión (SM/SM) en el par M₄. (N: Número de individuos, n: número de células analizadas).

		A/A	A/SM	SM/SM	F	p
1986	N	9	8	5		
	n	90	80	50		
	Xi	4.22	4.53	3.46	--	--
	XT	12.11	12.28	12.30	--	--
1987	N	10	10	2		
	n	123	100	24		
	Xi	3.97	4.31	2.96	--	--
	XT	12.39	12.24	12.62	--	--
1988	N	8	8	6		
	n	80	66	61		
	Xi	3.79	4.03	3.08	--	--
	XT	12.38	12.20	13.08	--	--
Total	N	27	24	13		
	n	293	246	135		
	Xi	3.998	4.312	3.199	18.30	10 ⁻⁷
	XT	12.303	12.239	12.726	3.86	0.026
EP 1986	N	9	9	1		
	n	90	90	10		
	Xi	4.59	4.61	3.46	--	--
	XT	12.48	12.22	12.10	--	--

Tabla 16- *Sinipta dalmani*-Frecuencia de quiasmas totales en el par M_4 en los homocigotas básicos (A/A), heterocigotas (A/SM) y homocigotas de inversión (SM/SM) en las poblaciones de LL y EP (n: número de células analizadas).

		A/A	A/SM	SM/SM	F	p
LL	1986	n	90	78	50	
		X	1.0333	1.0000	1.1200	--
	1987	n	121	108	24	
		X	1.0331	1.0000	1.1667	--
	1988	n	80	95	63	
		X	1.1026	1.0000	1.2860	--
Total	X	1.0523	1.0000	1.2045	25.3	10^{-9}
EP	1986	n	90	90	10	
		X	1.0555	1.0000	1.10000	--

Tabla 17- *Sinipta dalmani*- Distribución de quiasmas en el par M4 para los homocigotas básicos (A/A), heterocigotas (A/SM) y homocigotas de inversión (SM/SM) en el par M4 en las distintas muestras de LL y en EP (de acuerdo a la figura 12).

	Región	A/A	A/SM	SM/SM
1986	1	21 %	0 %	--
	2	53 %	65 %	23 %
	3	25 %	36 %	--
	1 + 3	47 %	36 %	73.5 %
1987	1	10 %	0 %	--
	2	43 %	59 %	15 %
	3	47 %	41 %	--
	1 + 3	57 %	41 %	85 %
LL				
1988	1	9 %	0 %	--
	2	39 %	65 %	16 %
	3	52 %	35 %	--
	1 + 3	61 %	35 %	84 %
Total	1	13 %	0 %	--
	2	45 %	63 %	18 %
	3	42 %	37 %	--
	1 + 3	55 %	37 %	82%
EP 1986	1	16 %	0 %	--
	2	44 %	59 %	20 %
	3	40 %	41 %	80 %
	1 + 3	56 %	41 %	80 %

Tabla 18- *Sinipta dalmani*- Frecuencias de quiasmas intersticiales (Xi) y totales (XT) por célula eliminando el par M₄ en las muestras poblacionales de LL, en 1986,1987 y 1988, y los valores del estadístico "F" para la comparación de tales promedios entre diferentes cariomorfos ,homocigotas básicos (A/A), heterocigotas (A/SM) y homocigotas de inversión (SM/SM) .

		A/A	A/SM	SM/SM	F	p
1986	Xi	3.64	3.83	3.18	--	--
	XT	11.06	11.26	11.28	--	--
1987	Xi	3.48	3.70	2.79	--	--
	XT	11.35	11.29	11.46	--	--
1988	Xi	3.39	3.20	2.90	--	--
	XT	11.29	11.20	11.78	--	--
Total	Xi	3,5038	3.6057	2.9851	4.92	0.01
	XT	11.2423	11.2561	11.5373	1.69	0.19

Tabla 19- *Sinipta dalmani*- Distribución de quiasmas (en porcentaje) en los pares largos (L_1, L_2 y L_3), medianos (M_6, M_7 y M_8) y pequeños (S_9, S_{10} y S_{11}) en los homocigotas básicos (A/A), heterocigotas (A/SM) y homocigotas de inversión M_4 (SM/SM) (P=proximal, I=intersticial, D=distal). (Datos provenientes de la Tabla 15).

		A/A	A/SM	SM/SM
1986	P	19	20	16
	I	40	40	40
	D	41	40	44
1987	P	20	23	21
	I	35	39	30
	D	45	38	44
L_1 1988	P	18	29	26
	I	35	25	24
	D	47	46	50
X ² Conting. Entre años		1.61	8.76	7.60
p		0.81	0.07	0.11
Total	P	19	24	21
	I	37	35	31
	D	44	41	48
X ² Conting. Entre Cariomorfos				5.67
p				0.23

Continuación Tabla 19.

	P	14	18	21
1986	I	51	49	46
	D	35	33	33
	P	22	16	25
1987	I	39	49	46
	D	39	35	28
	P	20	20	23
L ₂ 1988	I	48	48	34
	D	32	32	43
X ² Conting. Entre años		5.59	0.98	4.09
p		0.23	0.91	0.39
	P	19	18	22
Total	I	45	48	41
	D	36	34	41
X ² Conting. Entre Cariomorfos				3.76
p				0.44

Continuación Tabla 19.

	P	7	11	12
1986	I	47	55	46
	D	46	34	42
	P	16	12	14
1987	I	45	47	34
	D	39	41	52
	P	14	8	11
L ₃ 1988	I	44	58	54
	D	42	34	35
X ² Conting. Entre años		3.82	3.24	3.45
p		0.43	0.52	0.
	P	13	10	12
Total	I	45	53	47
	D	42	37	41
X ² Conting. Entre Cariomorfos				3.83
p				0.43

Continuación Tabla 19.

	P	2	6.5	11
1986	I	34	32.5	20
	D	64	61	69
	P	4	3	-
1987	I	32.5	32	20
	D	63.5	65	80
	P	3	5.5	12
M _B -M _A 1988	I	31	23	28
	D	66	71.5	60
X ² Conting. Entre años		1.81	6.90	3.42
p		0.49	0.14	0.18
	P	3	5	9
Total	I	33	29	24
	D	64	66	67
X ₂ Conting. Entre Cariomorfos				19.14
p				0.0007

Continuación Tabla 19.

	F	6	12	9.5
1986	I	28	26	14.5
	D	66	62	76
	F	1	1	-
M ₇ -M ₈ 1987	I	22	23	20
	D	77	76	80
	F	-	1.5	2
1988	I	16	15.5	25
	D	84	83	73
	X ² Conting. Entre años	6.56	6.41	8.17
	p	0.04	0.04	0.02
	F	1	2	-
1986	I	46	46	41
	D	53	52	59
	F	-	-	-
1987	I	39	50	46
	D	61	50	54
S ₉	F	-	-	-
1988	I	29	25	20
	D	71	75	80
	X ² Conting. Entre años	4.97	14.80	8.11
	p	0.08	0.0006	0.017

Continuación Tabla 19.

	P	-	-	-
1986	I	9	14	12
	D	91	86	88
	P	-	-	-
1987	I	26	11	-
	D	74	89	100
S₁₀	P	-	-	-
1988	I	13	4	3
	D	87	96	97
	P	-	-	-
1986	I	1	1	2
	D	99	99	98
	P	-	-	-
1987	I	7	3	-
	D	93	97	100
S₁₁	P	-	-	-
1988	I	16	3	3
	D	84	97	97

Tabla 20- *Sinipta dalmani*-Distribución de quiasmas (en porcentaje) en los pares M_5-M_6 y M_7-M_8 en los homocigotas básicos (A/A), heterocigotas (A/SM) y homocigotas de inversión (SM/SM) del par M_4 en la población de EP. (P:proximales, I:intersticiales, D:distales).

		A/A	A/SM	SM/SM
	P	1	-	5
M_5-M_6	I	42	30	19
	D	57	70	76
	P	3	5	5
M_7-M_8	I	35	31	29
	D	62	64	66

Tabla 21- *Sinipta dalmani*- Frecuencias promedio de quiasmas intersticiales (Xi) por célula en las poblaciones de "Los Loros" (LL) y "Los Sauces" (LS) del año 1988 de individuos homocigotas básicos (A/A) y heterocigotas (A/SM) para la inversión M_7 (n:número de células analizadas).

		A/A	A/SM
	n	50	20
LL	Xi	3.10	3.90
	XT	12.50	11.60
	n	50	21
LS	Xi	3.16	3.33
	XT	12.30	12.71

Tabla 22- *Sinipta dalmani*- Distribución de quiasmas en porcentaje) en el bivalente M₇ en los homocigotas básicos (A/A) y en los heterocigotas (A/SM) para la inversión en el par M7, indicando el número de individuos analizados (N) y células estudiadas (n). (F=proximal, I=intersticial, D=distal).

	N	n	F	I	D
A/A	10	106	1	14	85
A/SM	2	40	--	25	75

Tabla 23- *Sinipta dalmani*- Porcentajes de espermátidas normales y anormales (macroespermátidas en individuos homocigotas básicos (A/A) ,heterocigotas (A/SM) y homocigotas para la inversión en el par M₄ (SM/SM).

		Número de Ind.	Número de Espermátidas	Normales	Anormales
		S-19	515	99.42	0.58
	A/A	S-12	1043	99.42	0.58
		S-8	499	99.60	0.40
		S-C	521	98.85	1.15
		Total	2578	99.34	0.66
		S-10	1320	99.24	0.76
1987	A/SM	S-7	684	99.42	0.58
		S-A	1159	99.22	0.78
		Total	3163	99.27	0.73
		S-11	1049	99.14	0.86
	SM/SM	S-21	1107	98.92	1.08
		S-243	568	99.12	0.88
		Total	2725	99.05	0.95
		S-238	994	99.50	0.50
	A/A	S-216	1974	99.34	0.66
		S-203	1120	99.46	0.54
		Total	4088	99.41	0.59
		S-213	1033	99.23	0.77
1988	A/SM	S-200	832	98.80	1.20
		S-207	1045	98.85	1.15
		S-342	834	99.52	0.48
		Total	3744	99.09	0.91
		S-248	904	99.34	0.66
	SM/SM	S-221	929	98.71	1.30
		S-249	1096	98.81	1.19
		S-252	905	99.12	0.88
		Total	3834	98.98	1.02

Tabla 24- *Sinipta dalmani*- Valores medios (expresados en milímetros) de los diferentes caracteres morfológicos analizados en los individuos homocigotas estándar (A/A), heterocigotas (A/SM) y homocigotas de inversión (SM/SM) en el par M₄ en las poblaciones LL y LS (N:número de individuos analizados).

		L.Total	L.Tibia	L.Torax	L.fémur	L.Tegmina	N
	A/A	28.62778	12.13333	4.88444	15.27777	20.66667	9
1986	A/SM	29.75000	12.61000	4.65550	15.18750	20.43750	8
	SM/SM	28.65000	12.00800	4.81600	15.30000	20.50000	5
LL							
	A/A	28.20440	12.27390	4.55780	15.04444	20.11111	18
1988	A/SM	28.63100	12.23600	4.67350	15.10000	20.75000	20
	SM/SM	27.95091	11.95091	4.49636	14.72270	19.72727	11
LS							
	A/A	30.09000	12.20202	4.85800	15.00000	20.35000	10
1988	A/SM	30.60000	12.21010	4.98400	15.11000	20.60000	10
	SM/SM	29.84000	12.20800	4.70400	14.80000	20.20000	5

Tabla 25- *Sinipta dalmani*- Valores medios (M), genotípicos arbitrarios (a y d) y del efecto medio de la inversión M_4 (&) para los distintos caracteres morfológicos analizados en las poblaciones de LL y LS.

		M	a	d	&
	L.Total	29.16999	0.0111	1.1111	0.13999
	L.Tibia	12.34208	0.0627	0.5394	0.02712
1986	L.Tórax	4.76264	0.0372	-0.1917	-0.04534
	L.Femur	15.26234	0.0111	-0.1014	-0.00549
	L.Tegmina	20.51333	0.0833	-0.1458	0.06750
LL					
	L.Total	28.11314	0.1267	0.5533	0.01804
	L.Tibia	12.21458	0.1615	0.1236	-0.10061
1988	L.Tórax	4.60315	0.0307	0.1464	0.00658
	L.Femur	15.02834	0.1609	0.2164	-0.06417
	L.Tegmina	20.35576	0.1919	0.8308	0.02605
	L.Total	30.29354	0.1250	0.6350	0.02526
	L.Tibia	12.20655	0.0030	0.0050	0.00271
LS 1988	L.Tórax	4.89566	0.0770	0.2030	-0.01526
	L.Femur	14.90000	0.1000	0.2100	-0.02860
	L.Tegmina	20.44602	0.0750	0.3250	0.00599

Tabla 26-Sinipta dalmani-Valores genotípicos (VG), reproductivos (VR) relativos y desviaciones de dominancia (DD) estimados para los distintos caracteres morfológicos analizados en los homocigotas estándar (A/A), heterocigotas (A/SM) y homocigotas de inversión (SM/SM) en el par M₄ en las poblaciones de LL y LS.

		A/A	A/SM	SM/SM
	VG	-0.16372	0.26287	-0.41721
1988	VR	-0.02030	0.00789	0.03609
	DD	-0.14342	0.25498	-0.45330
LL				
	VG	-0.54222	0.58000	-0.52000
L.Total	1986 VR	-0.18667	0.04667	0.27999
	DD	-0.35555	0.53333	-0.79999
	VG	-0.20352	0.30647	-0.45353
LS	1988 VR	-0.02967	0.01043	0.05053
	DD	-0.17386	0.29604	-0.50406
	VG	0.08115	0.01293	-0.30247
	1988 VR	0.11319	-0.04402	-0.20123
	DD	-0.03204	0.05695	-0.10124
LL				
	VG	-0.20875	0.26792	-0.33408
L.Tibia	1986 VR	-0.03616	0.00904	0.05424
	DD	-0.17259	0.25888	-0.38832
	VG	-0.00455	0.00345	0.00144
	LS 1988 VR	-0.00318	0.00112	0.00542
	DD	-0.00137	0.00233	-0.00397

		VG	-0.04535	0.07035	-0.10679
	1988	VR	-0.00740	0.00288	0.01316
		DD	-0.03795	0.06747	-0.11994
	LL	VG	0.12180	-0.10714	0.22872
L.Torax	1986	VR	0.06045	-0.01511	0.09068
		DD	0.06135	-0.09203	0.13804
		VG	-0.03766	0.08834	-0.19166
	LS 1988	VR	0.01792	-0.00630	-0.03052
		DD	-0.05558	0.09464	-0.16114
		VG	-0.14315	0.07165	-0.30563
	1988	VR	0.07219	-0.02808	-0.12834
		DD	-0.21534	0.09973	-0.17729
	LL	VG	0.00473	-0.05048	0.06199
L.Fémur	1986	VR	0.00732	-0.00183	-0.01099
		DD	-0.00259	-0.04865	0.07297
		VG	-0.02390	0.10970	-0.22389
	LS 1988	VR	0.03359	-0.01180	-0.05720
		DD	-0.05749	0.09790	-0.16669
		VG	-0.24465	0.39423	-0.62849
	1988	VR	-0.02931	0.01140	0.05210
		DD	-0.21534	0.38283	-0.6805
	LL	VG	0.13666	-0.09249	-0.03000
L.Tegmina	1986	VR	0.09000	-0.02250	-0.13500
		DD	0.04666	-0.06999	0.10499
		VG	-0.09602	0.15399	-0.24602
	LS 1988	VR	-0.00703	0.00247	0.01197
		DD	-0.08899	0.15152	-0.25799

Tabla 27- *Sinipta dalmani*- Valores genotípicos (VG) y reproductivos (VR) absolutos estimados para las distintos caracteres morfológicos analizados en homocigotas de estándar (A/A), heterocigotas (A/SM) y homocigotas de inversión (SM/SM) en el par M₄ en las poblaciones de LL y Ls.

			A/A	A/SM	SM/SM
L.Total	1988	VG	27.94942	28.37601	27.69593
		VR	28.09284	28.12103	28.14923
	LL	VG	28.62777	29.74999	28.64999
		VR	28.98333	29.21666	29.44998
	LS 1988	VG	30.09002	30.60001	29.84001
		VR	30.26387	30.30397	30.34407
L.Tibia	1988	VG	12.29573	12.22751	11.91211
		VR	12.32777	12.17056	12.01335
	LL	VG	12.13333	12.60999	12.00799
		VR	12.30592	12.35112	12.39632
	LS 1988	VG	12.60629	12.61429	12.61229
		VR	12.60767	12.61197	12.61627
L.Tórax	1988	VG	4.55780	4.67350	4.49636
		VR	4.59575	4.60603	4.61631
	LL	VG	4.88444	4.65549	4.99136
		VR	4.82309	4.74753	4.85332
	LS 1988	VG	4.85800	4.98400	4.70400
		VR	4.91358	4.88936	4.86514

		VG	14.88519	15.09999	14.72271
	1988	VR	15.10053	15.00026	15.15668
	LL				
L.Fémur		VG	15.26707	15.21186	15.32433
	1986	VR	15.26966	15.26051	15.25135
		VG	14.87610	15.00970	14.67611
	LS 1988	VR	14.93359	14.88820	14.84280
		VG	20.11111	20.74999	19.72727
	1988	VR	20.32645	20.36716	20.40786
	LL				
L.Tegmina		VG	20.64999	20.42084	20.48333
	1986	VR	20.60333	20.49083	20.37833
		VG	20.35000	20.60001	20.20000
	LS 1988	VR	20.43899	20.44849	20.45799

Tabla 28- *Sinipta dalmani*- Varianzas muestrales en los caracteres morfológicos analizados en los homocigotas estándar (A/A), heterocigotas (A/SM) y homocigotas de inversión en el par M₄ en las poblaciones de LL y LS indicando los valores de X² de la comparación de varianzas entre cariomorfos.

		A/A	A/SM	SM/SM	X ²	p
	LL 1986	0.67563	0.33599	0.30829	1.26	0.53
L.Total	LL 1988	1.89179	1.16085	0.82393	2.33	0.31
	LS 1988	1.15708	0.73511	1.12828	0.51	0.78
	LL 1986	0.08329	0.32822	0.18031	3.37	0.19
L.Tibia	LL 1988	0.73743	0.24221	0.16178	9.07	0.01
	LS 1988	0.45035	0.14451	0.17052	3.21	0.20

Continuación Tabla 28

	LL 1986	0.02178	0.01837	0.04508	1.22	0.54
L.Tórax	LL 1988	0.08583	0.05355	0.04725	1.51	0.47
	LS 1988	0.04812	0.06620	0.04508	0.29	0.86
	LL 1986	0.31943	0.28125	0.07499	2.33	0.31
L.Fémur	LL 1988	0.72534	0.48946	0.21817	3.97	0.14
	LS 1988	0.44443	0.26665	0.32499	0.34	0.84
	LL 1986	0.18749	0.17411	0.49999	1.09	0.57
L.Tegmina	LL 1988	2.19279	0.51315	0.90291	5.34	0.07
	LS 1988	0.78055	0.59998	0.70000	0.09	0.96

Tabla 29-Sinipta dalmani- Varianza muestral de los diferentes caracteres morfológicos en las poblaciones LL y LS, indicando los valores de X^2 de la prueba de Barlett para la comparación de varianzas entre muestras (N:número de individuos analizados).

	LL1986	LS1988	LL1988
N	22	25	49
L.Total	0.670761	0.99363	1.37769
L.Tibia	0.23674	0.25150	0.40736
L.Tórax	0.03478	0.06154	0.06674
L.Fémur	0.23214	0.33333	0.51803
L.Tegmina	0.23593	0.66000	1.34375

Tabla 30-*Sinipta dalmani*- Varianzas fenotípica (VP), genotípica (VG), aditiva (VA) y de dominancia (VD) estimadas para los caracteres morfológicos analizados en las distintas muestras poblacionales.

		L.Total	L.Tibia	L.Tórax	L.Fémur	L.Tegmina
LL 1988	VP	1.37769	0.40736	0.06674	0.51803	1.34375
	VG	6.537 10 ⁻²	1.066 10 ⁻²	9.430 10 ⁻³	1.458 10 ⁻²	1.473 10 ⁻¹
	VA	3.671 10 ⁻⁴	7.419 10 ⁻³	4.879 10 ⁻³	4.633 10 ⁻³	7.636 10 ⁻⁴
	VD	6.500 10 ⁻²	3.244 10 ⁻³	4.551 10 ⁻³	9.946 10 ⁻³	1.466 10 ⁻¹
	VA/VP	0.03	2.00	7.00	0.90	0.06
	VG/VP	4.75	2.60	14.13	2.81	10.96
	VP	0.67076	0.23674	0.03479	0.23214	0.23593
LL 1986	VG	3.106 10 ⁻¹	6.800 10 ⁻²	1.121 10 ⁻²	1.031 10 ⁻²	1.098 10 ⁻²
	VA	2.613 10 ⁻²	9.807 10 ⁻⁴	2.741 10 ⁻³	3.992 10 ⁻³	6.075 10 ⁻³
	VD	2.844 10 ⁻¹	6.702 10 ⁻²	8.469 10 ⁻³	1.027 10 ⁻²	4.899 10 ⁻³
	VA/VP	4.00	0.40	7.90	0.02	2.60
	VG/VP	46.00	28.70	32.23	4.44	4.60
	VP	0.99363	0.25150	0.06154	0.33333	0.66000
LS 1988	VG	8.839 10 ⁻²	1.405 10 ⁻³	9.229 10 ⁻³	1.054 10 ⁻²	2.299 10 ⁻²
	VA	7.497 10 ⁻⁴	8.620 10 ⁻⁴	2.735 10 ⁻⁴	9.609 10 ⁻⁴	4.207 10 ⁻³
	VD	8.764 10 ⁻²	5.434 10 ⁻⁴	8.956 10 ⁻³	9.585 10 ⁻³	2.296 10 ⁻²
	VA/VP	0.08	0.003	0.50	0.30	0.006
	VG/VP	8.90	0.006	14.99	3.16	3.480

Tabla 31- *Sinipta dalmani*- Frecuencias de las diferentes orientaciones del trivalente en metafase I y combinaciones cromosómicas en metafase II.

Distribución cromosómica	Metafase I	Metafase II
$M_6 \rightarrow + M_6/M_7$ o $M_6 \rightarrow + M_7/M_6$	78 (77%)	12 (50%)
$M_6 \rightarrow / M_6 + M_7$	23 (23%)	12 (50%)

Tabla 32- *Sinipta dalmani*- Frecuencias de distribución de quiasmas en el trivalente según su orientación en metafase I (F=proximal, I=intersticial, D=distal).

Distribución de quiasmas		Alternativa	Lineal
M_6	M_7		
I	D	3 (19%)	21 (38%)
D	I	1 (6%)	18 (32.5%)
D	D	11 (69%)	12 (22%)
D	F	0	1 (2%)
F	D	0	2 (3.5%)
I	I	1 (6%)	1 (2%)

Tabla 33- *Sinipta dalmani*- Frecuencias de distribución de quiasmas en los bivalentes M₆ y M₇ y en el trivalente en metafase I. (P=proximal, I=intersticial, D=distal).

	II		III	
	M6	M7	M6	M7
P	5(7%)	9(12%)	3(4%)	2(3%)
I	19(25%)	24(31.5%)	23(34%)	20(30%)
D	52(68%)	43(56.5%)	42(62%)	45(67%)

Tabla 34- *Sinipta dalmani*- Frecuencias absolutas para los diferentes cariomorfos y relativas de fusión (f) observadas en machos de la población de Los Loros, Los Sauces y El Camino.

	X0	neo XY	f
1986	29	1	0.0333
LL 1987	33	5	0.1316
1988	52	3	0.0545
EC 1988	30	1	0.0323
LS 1988	27	3	0.1000

Tabla 35- *Sinipta dalmani*- Frecuencias de quiasmas intersticiales (Xi) y totales (XT) en individuos homocigotas básicos para la inversión en el par M₄ con distintos cariomorfos de fusión de la población de LL(1987), indicando el número de células analizadas (n).

neo XY				X0										
Ind.	9	13	Tot.	24	19	14	26	8	27	12	18	6	2	Tot.
n	25	25	50	10	14	13	18	12	12	10	12	10	12	123
Xi	3.24	3.22	3.23	4.2	2.8	5.4	3.8	3.6	4.5	3.7	4.2	3.9	3.7	3.97
XT	11.80	12.16	11.98	12.2	12.1	13.2	11.6	13.1	12.7	12.8	12.0	11.7	12.8	12.4

Tabla 36- Frecuencias de quiasmas intersticiales(Xi) y totales (XT) en individuos heterocigotas para la inversión M₄ con diferentes cariomorfos de fusión de la población de LL (1987), indicando el número de células analizadas (n).

neo XY				X0										
Ind.	1	20	Tot.	8	17	28	15	22	3	30	10	5	7	Tot.
n	20	20	40	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	100
Xi	3.3	3.5	3.4	4.3	3.7	4.1	5.4	4.1	5.5	3.7	3.5	4.8	4	4.31
XT	12.05	11.55	11.80	12.6	12.4	12.6	11.5	11.7	12.6	12.4	12.5	11.8	12.3	12.24

Tabla 37- *Sinipta dalmani*- Frecuencias de quiasmas intersticiales (Xi) y totales (XT) en individuos con diferente cariomorfo de fusión, indicando el número de células analizadas (n).

neo XY		X0
n	90	117
Xi	3.31	4.09
XT	11.90	12.19

Tabla 38- *Sinipta dalmani*- Distribución de quiasmas (en porcentaje) en el par M_6 de individuos XO y neo XY con diferente cariomorfo para la inversión en el par M_4 (F=proximal, I=intersticial, D=distal, n=número de células).

	Homocigotas Básicos		Heterocigotas	
	XO	neo XY	XO	neo XY
n	109	103	94	45
P	1	-	5	-
I	49	12	40	8
D	50	88	55	92

Tabla 39- *Sinipta dalmani*- Frecuencias de quiasmas intersticiales (X_1) en individuos con distinto cariomorfo de fusión excluyendo los datos del par M_6 , indicando el número de células analizadas (n).

	neo XY	XO
n	90	117
X_1	3.222	3.658

Tabla 40- *Sinipta dalmani*-Frecuencias de quiasmas intersticiales (Xi) y totales (XT) en individuos heterocigotas para la inversión pertenecientes a la población de LL (1988) con distintos cariomorfos de fusión (n:número de células analizadas).

	neo XY			X0						
Ind.	217	242	Tot.	256	208	200	213	250	202	Total
n	10	35	45	10	10	16	10	10	10	66
Xi	3.30	3.11	3.156	3.5	3.8	3.7	4.1	4.5	4.7	4.0303
XT	12.10	12.09	12.089	12.2	12.2	12.4	12.3	12.3	11.7	12.200

Tabla 41- *Sinipta dalmani*-Frecuencias de quiasmas intersticiales (Xi) en individuos con distinto cariomorfo de fusión excluyendo los datos del par M_6 de la población de LL 1988 (n:número de células analizadas).

	neo XY	X0
n	45	66
Xi	3.1111	3.6818

Tabla 42- *Sinipta dalmani*. Porcentaje de espermatidas normales (N) y macroespermatidas y microespermatidas en individuos con diferente cariomorfo de fusión.

	Número de Ind.	Número de Espermatidas	Normales	Macro-esperm.	Micro esperm.	Total anormales
XO 1987	S-19	515	99.42	0.58	-	0.58
	S-12	1043	99.42	0.58	-	0.58
	S-8	499	99.60	0.78	-	0.78
	S-A	1159	99.22	0.78	-	0.78
	S-10	1320	99.24	0.76	-	0.76
	S-7	684	99.42	0.59	-	0.59
	Total	5741	99.30	0.70	-	0.70
neo XY 1987	S-1	1042	96.16	3.58	0.26	3.84
	S-13	1437	98.47	1.53	-	1.53
	S-9	1524	96.39	2.76	0.85	3.61
	S-20	514	98.05	1.95	-	1.95
	Total	4620	97.16	2.49	0.35	2.84
XO 1988	S-218	664	98.95	1.05	-	1.05
	S-224	493	98.78	1.22	-	1.22
	S-342	834	99.52	0.48	-	0.48
	S-248	904	99.34	0.66	-	0.66
	S-201	1045	98.18	1.82	-	1.82
	S-249	1096	98.81	1.19	-	1.19
	Total	5036	98.91	1.09	-	1.09
neo XY 1988	S-217	555	90.81	9.19	-	9.19
	S-242	879	94.31	5.58	0.11	5.69
	S-253	503	94.23	5.77	-	5.77
	Total	1937	93.29	6.66	0.05	6.71

Tabla 43- *Sinipta dalmani*- Contenido de ADN en espermátidas de individuos neo XY (en unidades arbitrarias: UA).

Nivel de ploidía	Valor medio	Error Estándar	Nº de células analizadas
2c	38.869971 UA	0.3185	52
3c	63.008666 UA	3.1537	4
4c	82.196666 UA	2.4507	3
5c	92.518333 UA	0.4063	1

Tabla 44- Registros medios (anuales y estacionales) pluviométricos (en mm.) y de temperatura (en °C) en la estación meteorológica de Concordia -próxima a "El Palmar"- en los años de colección 1985, 1986, 1987 y 1988. Datos del Servicio Meteorológico Nacional.

Año	Temp. media anual	Temp. media estacional	Registro pluviométrico estacional	Registro pluviométrico anual
1985	19.29	21.45	330	1245.5
1986	19.49	21.45	542.6	1558.0
1987	18.85	19.58	305.8	1118.3
1988	18.2	20.45	367.6	1110.7
Normal (1951-1980)	18.0	20.45	460	1264.6

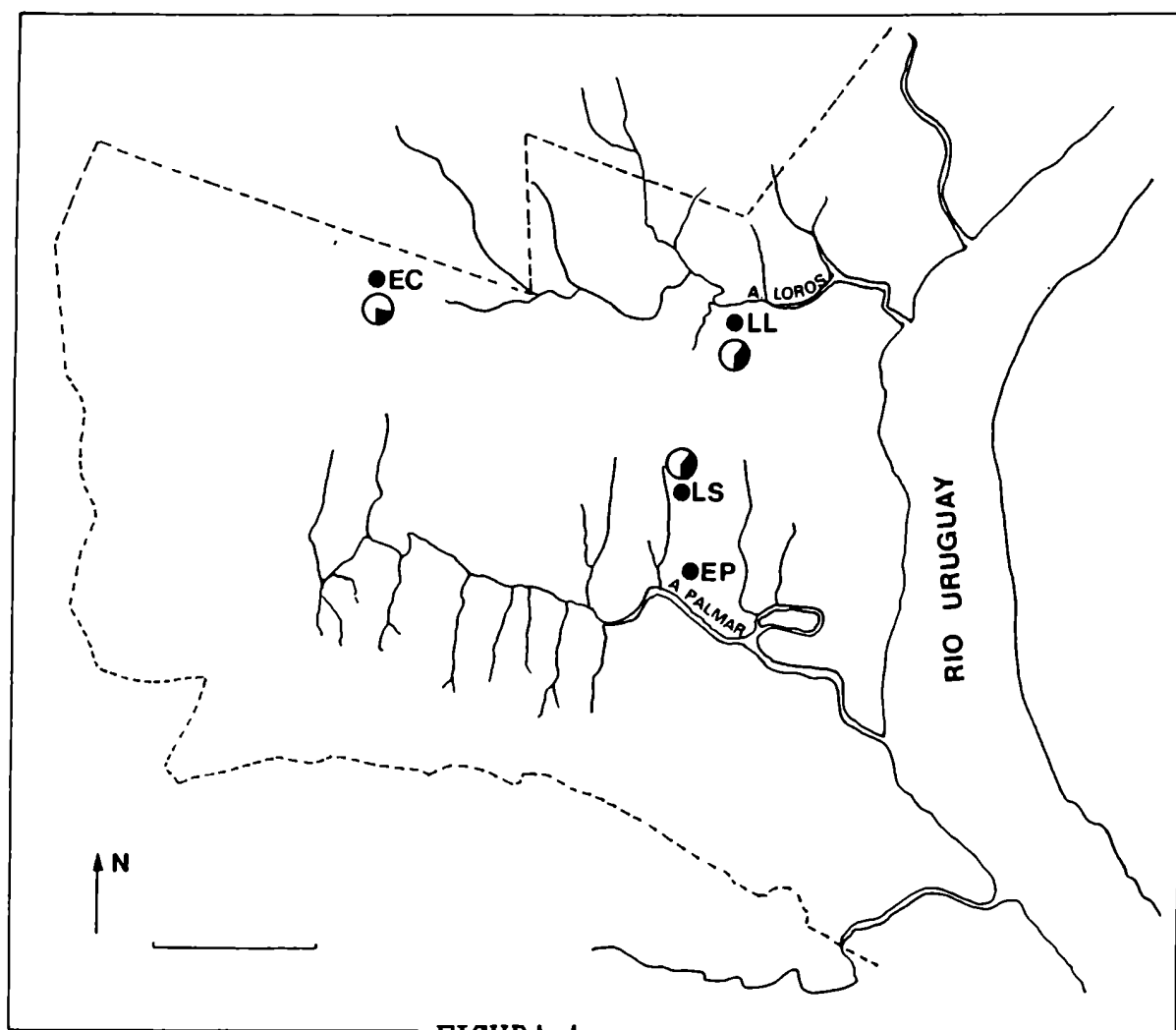


FIGURA 1

Figura 1- Poblaciones de *Sinipta dalmani* coleccionadas en el "Parque Nacional El Palmar" (Pcia. de Entre Ríos) y sus correspondientes frecuencias relativas de inversión en el par M4. LL: Los Loros, EP: El Palmar, LS: Los Sauces, EC: El Camino. Barra :2 Km.



Figura 2: *Dichroplus elongatus*. A-D)- Células en diplotene mostrando un cromosoma B asociado al X (A), 2 B formando un pseudobivalente (B), 3 B constituyendo 3 univalentes (C) o formando una cadena (D). E)- Diacinesis con 4 B asociados entre ellos y con el cromosoma sexual. F)- Diplotene temprano con 5 B. G)- Bivalente (II) B con un quiasma intersticial. H)- Detalle del cromosoma B metacéntrico de la Fig. F. I)- Diplotene mostrando 6 cromosomas B constituyendo 3 bivalentes. Las flechas señalan los cromosomas B libres o asociados entre ellos o con el cromosoma X. Barra: 10µ.

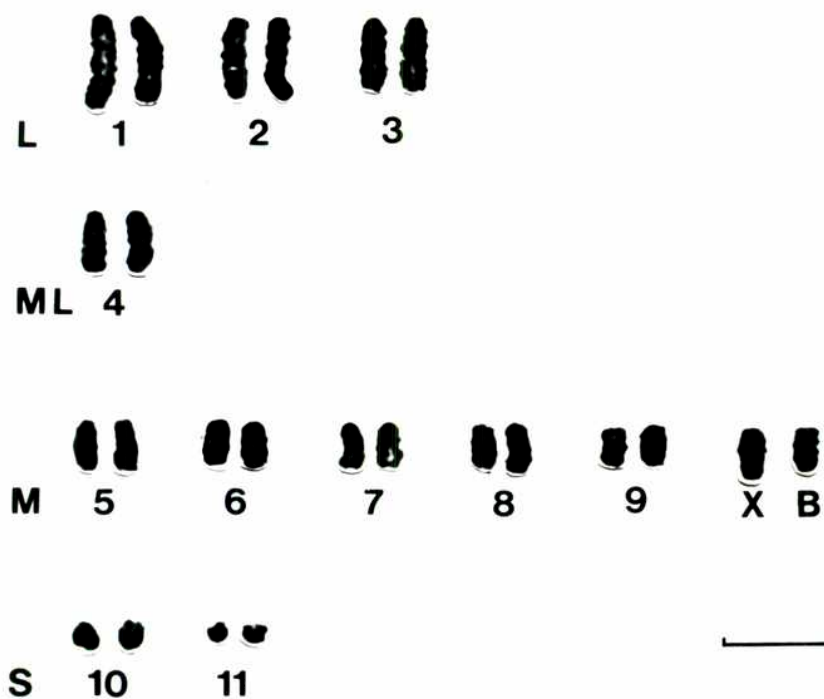


Figura 3- *Amblytropidia australis*. Cariograma de *A. australis* realizado a partir de una célula espermatogonial con un cromosoma B en metafase. Barra: 10 μ .



Figura 4- *Amblytropidia australis*- A)- Diplotene de un individuo con el complemento básico (\blacktriangle bivalente megamérico) B)- Cromosoma B de una célula en paquitene con una región eucromática (Δ) y otra heterocromática ($\hat{\Delta}$). C)- Cromosoma B de una célula en diplotene mostrando la región eucromática(Δ). D)-Bivalente B en diplotene con un quiasma ($\hat{\Delta}$) en el segmento eucromático. E-F)- Células en metafase I mostrando los cromosomas B y X migrando hacia el mismo (F) o diferente polo (E).G-H)- Espermatidas haploides (X), diploides (2X) y tetraploides (4X) diferenciadas por el tamaño y número de adjuntos centriolares. Las flechas señalan las regiones teñidas diferencialmente de los cromosomas B y X. Barra:10 μ .

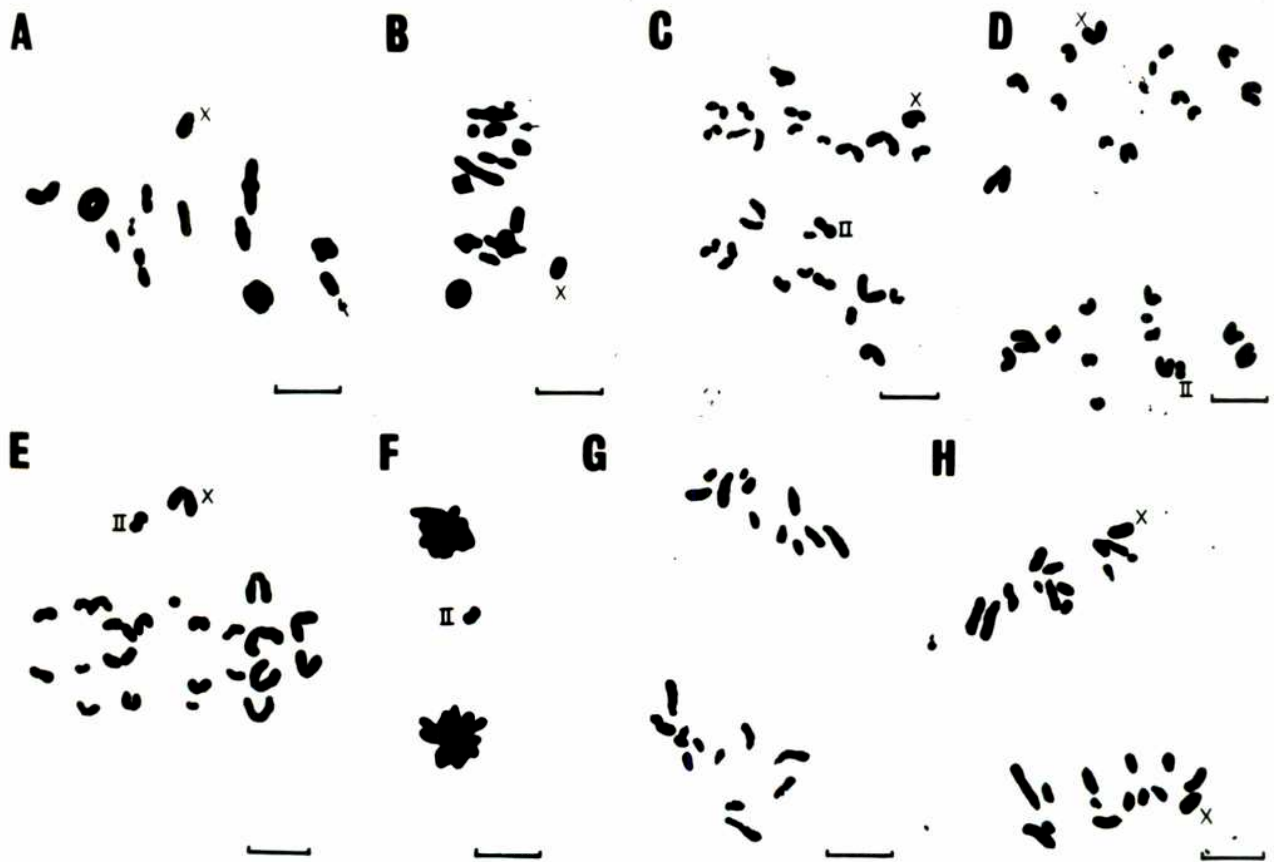


Figura 5- *Dichroplus elongatus*- A-B)- Células en metafase I con univalentes (cabeza de flecha) y bivalentes B (flecha). C)-Anafase I mostrando un bivalente B(II) migrando indiviso hacia un polo. D)- Anafase I mostrando un bivalente B (II) y un univalente B (no individualizado) en un polo y al cromosoma sexual en el otro. E)- Anafase I con temprana migración de un bivalente B (II) indiviso (hacia el mismo polo que el cromosoma X). F)- Telofase I con un bivalente B rezagado. G)- Anafase II con 11 cromosomas en el polo superior y 13 en el polo inferior. H)- Anafase II con 15 cromosomas en el polo superior y 14 en el polo inferior.

Barra: 10 μ .

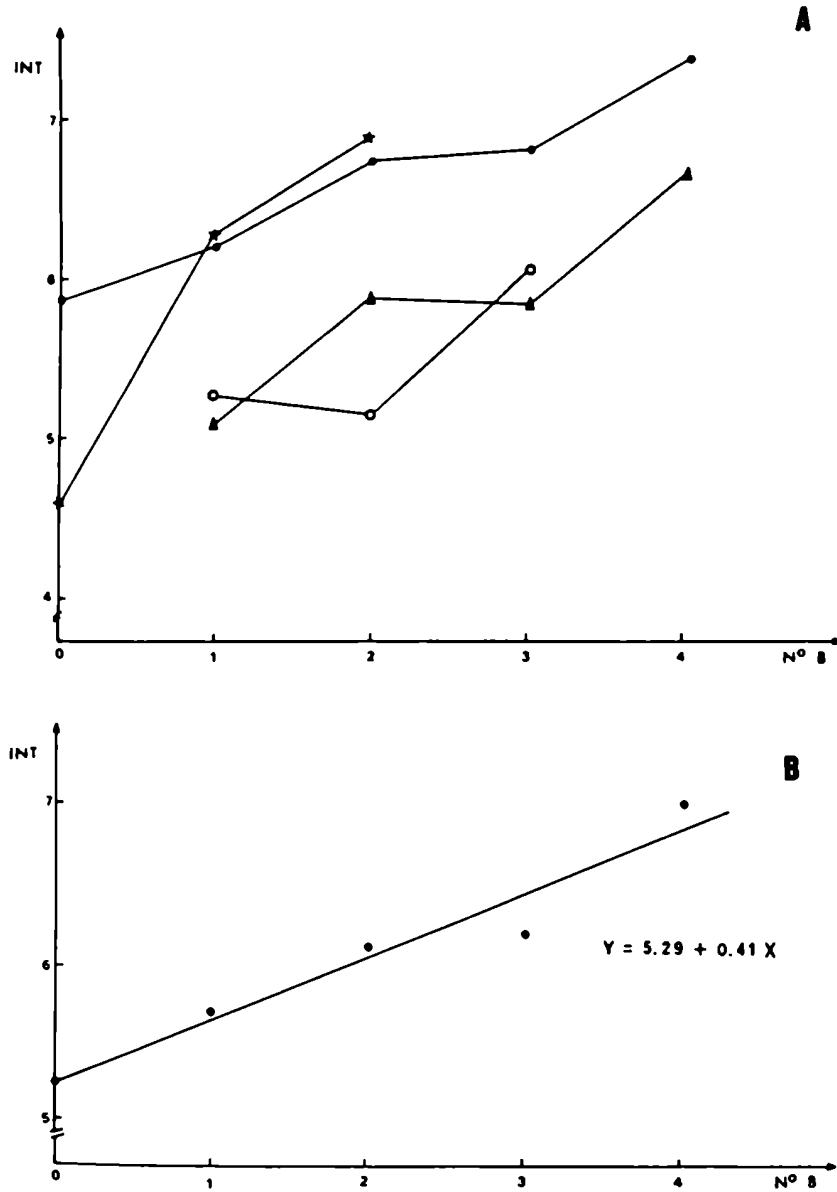


Figura 6- *Dichroplus elongatus*. A) Gráfico de la frecuencia de quiasmas intersticiales (X_i) versus número de B por célula en diplotene.

○: Individuo 700, ▲: Individuo 702,

●: Individuo 740, ★: Individuo 747.

B) Regresión de la frecuencia de quiasmas intersticiales (X_i) versus número de B por célula en diplotene.

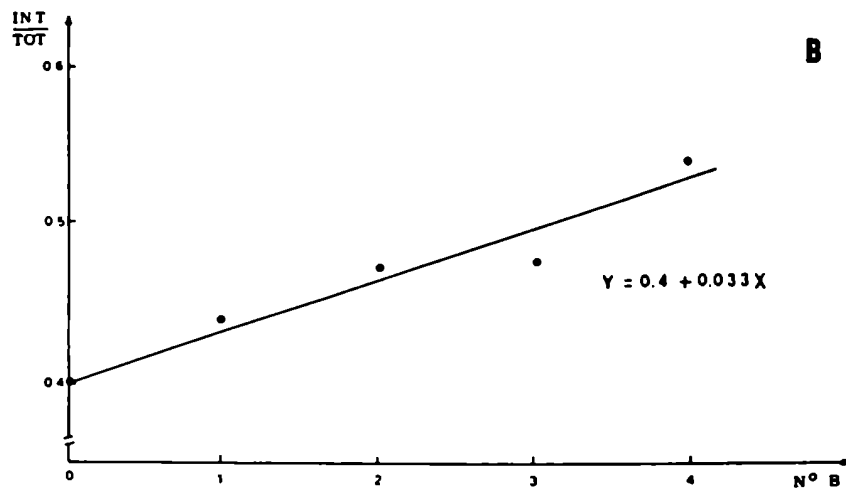
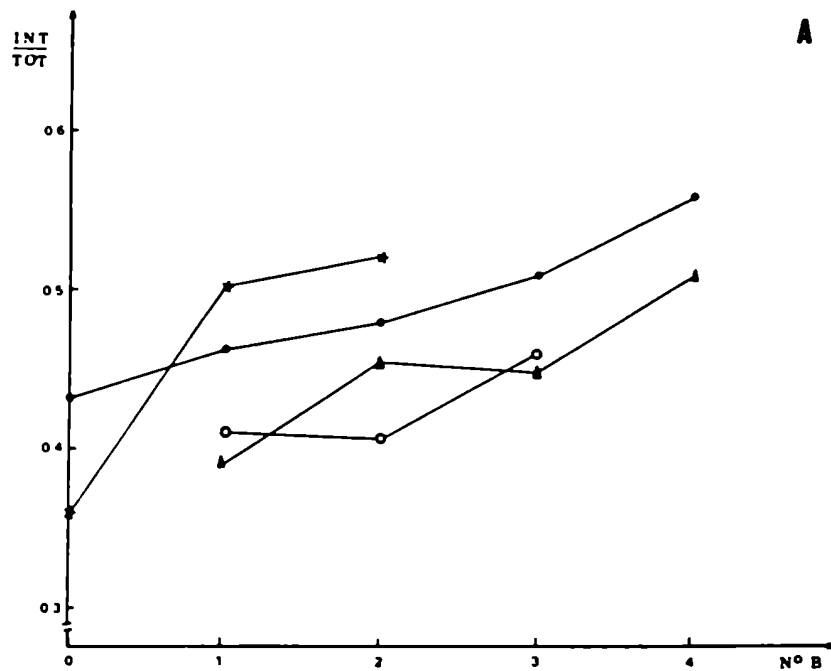


Figura 7- *Dichroplus elongatus*. A)- Gráfico de la frecuencia de quiasmas intersticiales/totales (X_i/X_T) versus número de B por célula en diplotene.

○: Individuo 700, ▲: Individuo 702,
●: Individuo 740, ★: Individuo 747.

B)- Regresión de la frecuencia de quiasmas intersticiales/totales (X_i/X_T) versus número de B por célula en diplotene.

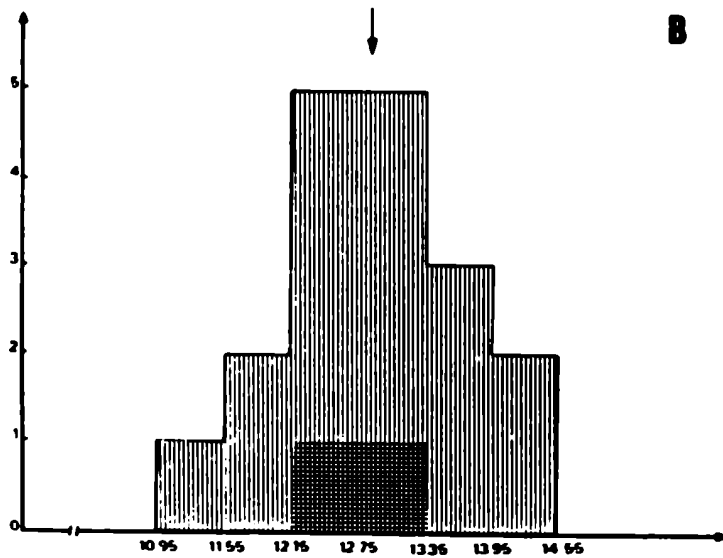
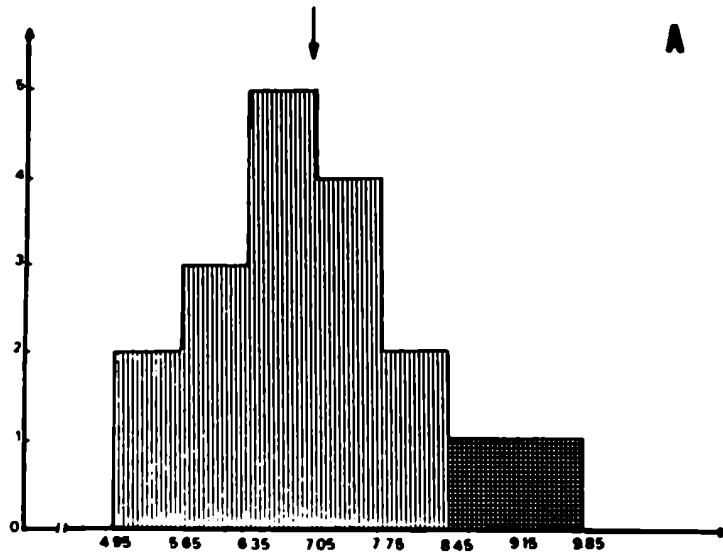


Figura 8- *Amblytropidia australis*- A)- Histograma de la frecuencia de quiasmas intersticiales.
 B)- Histograma de la frecuencia de quiasmas totales.
 ▨ Individuos portadores, ▩ Individuos no portadores.
 La flecha señala la frecuencia media de la población.

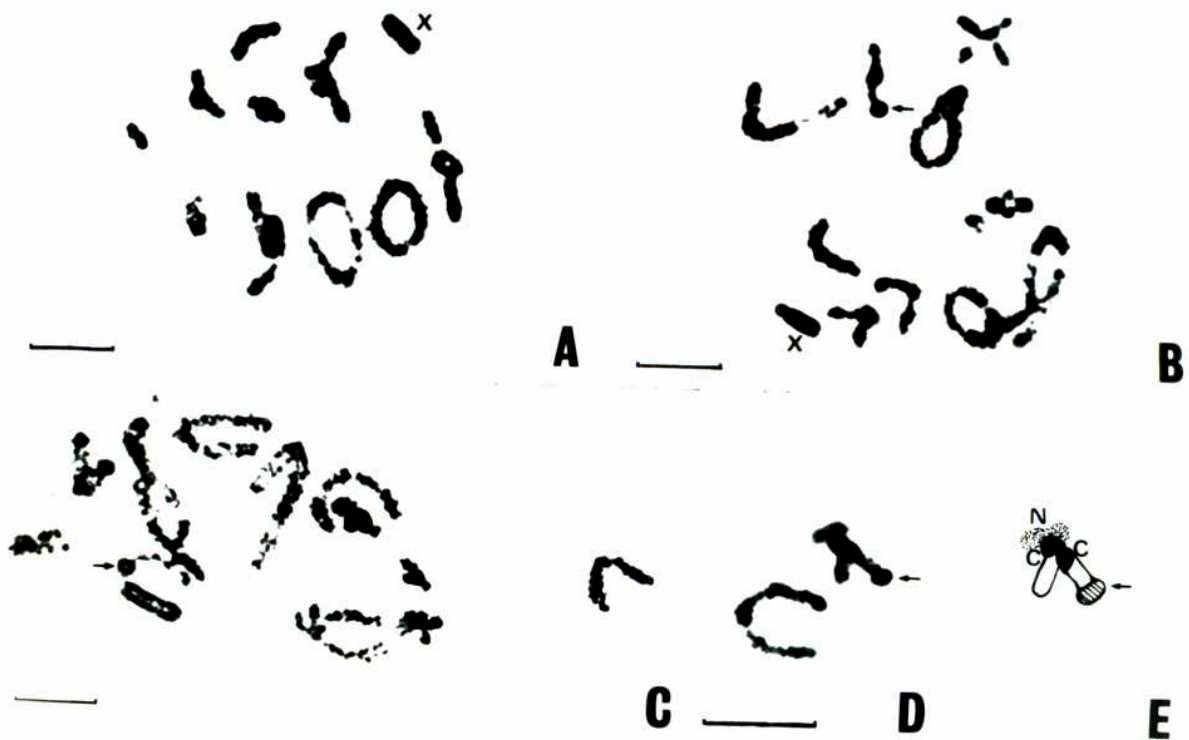


Figura 9- *Dichroplus elongatus*- A)- Diplotene tardío de un homocigota básico. B)- Diplotene tardío mostrando el bivalente heteromórfico. C)- Diplotene temprano mostrando la asociación del bivalente heteromórfico y del cromosoma X. D)- Bivalente heteromórfico, con un nucleolo asociado, de una célula en diplotene. E)- Esquema del bivalente mostrado en "D" (C: centrómero, N: nucleolo). Las flechas indican el segmento supernumerario.
Barra: 10µ.

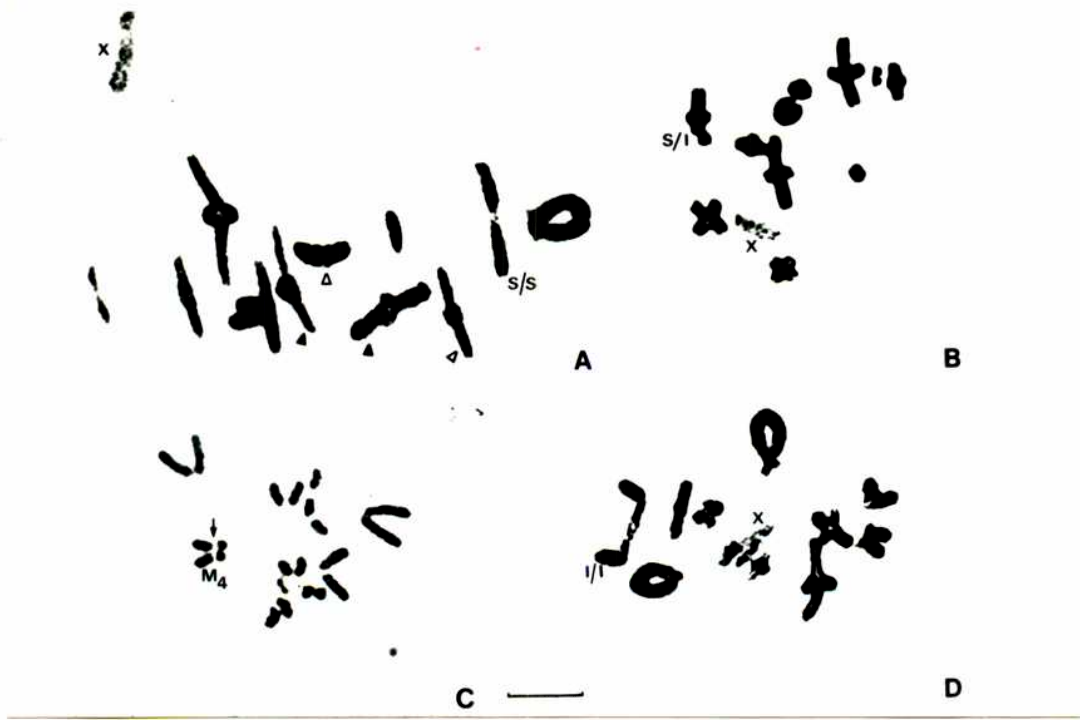


Figura 10- *Sinipta dalmani*- A)- Metafase I de un homocigota básico para la inversión en el par M4 (S/S). Los pares M5-M6 y M7-M8 son indicados con cabezas de flechas sombreadas y vacías respectivamente. B)- Metafase I de un heterocigota para la inversión M4 (S/I). C)- Metafase II mostrando al cromosoma M4 invertido (flecha). D)- Metafase I de un homocigota para la inversión en el par M4 (I/I).

Barra: 10 μ .



Figura 11- *Sinipta dalmani*- Doble heterocigota para las
inversiones en los pares M7 y M4 (Metafase I).
Barra: 10 μ .

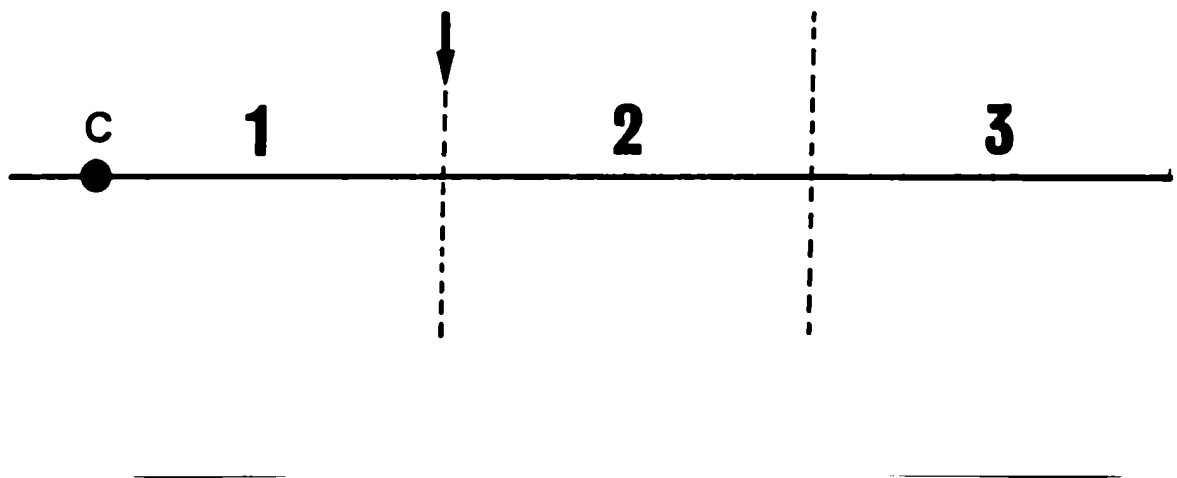


Figura 12- *Sinipta dalmani*- Regiones del par M4 para analizar la ubicación de los quiasmás.

C: posición del centrómero en el cromosoma básico.

↓: posición del centrómero en el cromosoma invertido.

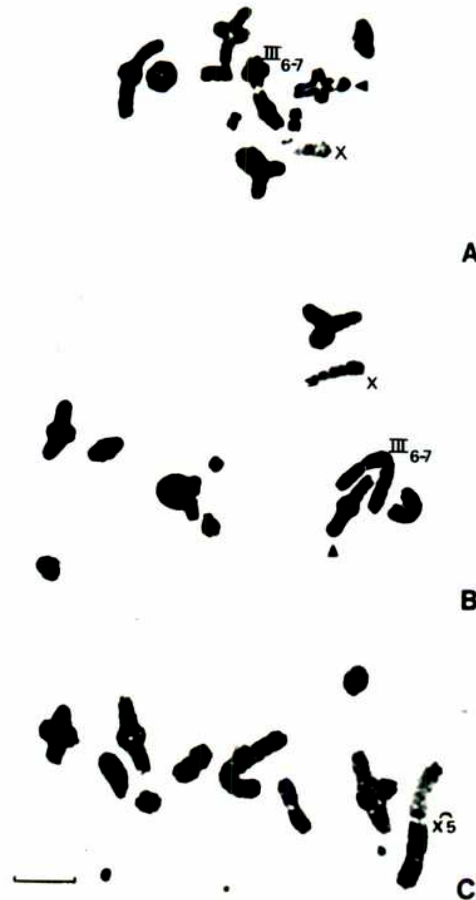


Figura 13- *Sinipta dalmani*- A-B)- Células en Metafase I mostrando el trivalente de fusión (III) con orientación lineal (A) y alterna (B). C)- Metafase I mostrando el bivalente sexual heteromórfico (X-M5). La cabeza de flecha señala al bivalente heteromórfico para la inversión en el par M4.

Barra: 10 μ .

DISCUSION

El entrecruzamiento presenta dos funciones principales:

-Asegurar la unión de los cromosomas homólogos en metafase I conduciendo a su correcta orientación y segregación.

-Permitir la recombinación entre loci .

El estudio de la condición de los mismos, nos brinda información acerca de la capacidad de una especie para responder mediante recombinación a cambios ambientales (Shaw 1972). Las mutaciones cromosómicas que pueden afectar la formación de los quiasmas ofrecerían el potencial para modificar la cantidad de variación en la población (John 1983).

I VARIACIONES CROMOSOMICAS HETEROCROMATICAS:

Existen dos formas de variaciones heterocromáticas en poblaciones naturales. Una involucra la presencia de cromosomas supernumerarios y la otra la ocurrencia de segmentos extras en miembros normales del complemento (Jones y Rees 1982).

En principio, se ha considerado que debido a la naturaleza heterocromática del material los cromosomas y segmentos supernumerarios debían ser inertes. Sin embargo, en la actualidad se han descrito numerosos ejemplos en donde tal material extra afecta el fenotipo del portador. (Hewitt 1979, Jones y Rees 1982, John 1983).

La existencia de polimorfismos indicaría que la heterocromatina supernumeraria en cualquiera de sus formas no sería necesaria para el normal desarrollo del individuo. Sin embargo, la mayoría de ellos se mantienen en las poblaciones y en algunos casos puede existir una tendencia a la acumulación (Nur 1963,1969, John y Miklos,1979).

Por ello resulta de interés el estudio de los efectos de la heterocromatina supernumeraria con el objeto de analizar la probable función de este material.

En este trabajo se analizaron dos poblaciones de *Dichroplus elongatus* y una de *Amblytropidia australis* y se han descrito el comportamiento meiótico y posibles efectos de cromosomas y segmentos supernumerarios.

a)-Cromosomas Supernumerarios:

a₁)-Morfología y comportamiento meiótico:

Los cromosomas supernumerarios son generalmente heterocromáticos (Fuentes 1975, Hewitt 1979, Jones y Rees 1982, John 1983), aunque algunos de ellos pueden tener un segmento eucromático (Bidau y Hasson 1984, Confalonieri y Bidau 1986).

En *Amblytropidia australis* los cromosomas B son de gran tamaño ($3/4$ del cromosoma X) y presentan un pequeño segmento procéntrico eucromático. En *Dichroplus elongatus* los B son totalmente heterocromáticos y presentan un tamaño menor ($1/3$ del cromosoma X). La estructura de los cromosomas B en varios ejemplos citados, no suele ser estable. Se han descrito cambios morfológicos secundarios y aún terciarios en

su estructura (Southern 1967, Jones y Rees 1982, Henriques Gil et al 1984). En *Dichroplus elongatus* esta inestabilidad fue evidente ya que dentro de un mismo individuo se han encontrado cromosomas B acro o metacéntricos en lugar de su morfología telocéntrica original.

Estos cromosomas extras, generalmente, presentan un comportamiento meiótico diferente del de los miembros normales del complemento (Nur 1963, Hewitt 1973a,b). Durante mitosis ellos pueden rezagarse o sufrir un proceso de no disyunción el cual conduciría a una variación en el número de B por célula. Los cromosomas detectados en las especies estudiadas en el presente trabajo son mitóticamente inestables conduciendo a una variación intraindividual en el número de supernumerarios. Esta situación podría seleccionarse en contra ya que dificulta el ajuste de un individuo y de la población a un número óptimo de B a menos que dicha inestabilidad mitótica conduzca a un mecanismo de acumulación (Nur 1963, 1969).

Durante la meiosis pueden presentar segregación anormal, rezagarse en la primera o en la segunda anafase y presentar un bajo grado de apareamiento en comparación con los miembros normales del complemento. En *Dichroplus elongatus*, se han observado diferentes asociaciones de los B entre sí y con el cromosoma sexual durante diplotene y diacinesis. La asociación de dos cromosomas B fue probablemente la única de naturaleza quiasmática ya que se mantiene hasta metafase I e incluso se ha detectado a un bivalente con quiasma intersticial. El resto de las asociaciones finalizan antes de metafase I y posiblemente sean de naturaleza no quiasmática. El punto de vista clásico, considera que el entrecruzamiento no ocurre en regiones heterocromáticas (John y Lewis 1965, John 1976,

Miklos y John 1979) ni particularmente en cromosomas B (Yunis y Yasmineh 1971). Sin embargo, en machos de hamster chino se observó la ocurrencia de entrecruzamiento en el bivalente sexual (Vistorin et al 1977). El hallazgo de asociaciones quiasmáticas en los B de *Dichroplus elongatus*, implicaría que estaría ocurriendo entrecruzamiento, a menos que se produjera en un pequeño segmento eucromático no visible al microscopio óptico. El hecho que los cromosomas B esten reunidos en la región periférica del núcleo, aún cuando ellos no están unidos, indicarían que durante estadios tempranos de la profase pueden haberse producido asociaciones heterocromáticas que finalizarían antes de diplotene.

En *Amblitropidia australis* también se han encontrado asociaciones entre los B, el cromosoma sexual y en algunos casos el bivalente megamérico. Sin embargo, ellas son de naturaleza transitoria y finalizan antes de metafase I. Cuando la célula presentaba dos cromosomas B ellos siempre estaban asociados a través de un quiasma en la región eucromática.

Estos resultados indicarían que en algunas asociaciones de cromosomas B ocurriría recombinación genética.

a.1.1)-Efecto sobre la formación de quiasmas:

Entre los efectos fenotípicos de los cromosomas supernumerarios la influencia sobre la formación de quiasmas fue observada en numerosas especies de ortópteros. Los B pueden afectar la frecuencia de quiasmas en forma variada. Ellos pueden producir un aumento en la frecuencia media de quiasmas y/o en la varianza entre células (John y Hewitt 1965

a,b,Hewitt y John 1967, Hewitt y Brown 1970, Stephens y Bregman 1972, Schroeter y Hewitt 1974, Camacho et al 1980, Vilardi 1983, 1985). Fletcher y Hewitt (1980) han encontrado que los B de *Euthystira brachyptera* no sólo afectan la media y la varianza de la frecuencia de quiasmas sino también la localización de los mismos. Por el contrario, los B de *Camnulla pellucida* y *Chimarocephala pacifica pacifica* parecen no ejercer ningún efecto sobre la condición de los quiasmas (Schroeter y Hewitt 1974).

Dichroplus elongatus es una especie que frecuentemente presenta polimorfismos para heterocromatina supernumeraria. En la población de Raco (Tucumán) se ha detectado en los portadores de B un notorio incremento en la varianza entre células de la frecuencia de quiasmas totales (Vilardi 1985). En el presente trabajo se observó que los mismos cromosomas supernumerarios están asociados con un incremento en la frecuencia de Xi y de la relación Xi/XT. El mencionado efecto es leve y sólo se detectaron diferencias significativas en un único individuo. Estos resultados indicarían que los B incrementarían levemente la frecuencia de Xi pero su efecto es acumulativo. De esta forma, las células con varios B presentarían un incremento más marcado en la mencionada variable. Estas conclusiones estarían avaladas por el análisis global de todos los individuos con los datos transformados, donde se observa que las frecuencias de Xi y Xi/XT se incrementarían significativamente al aumentar el número de B por célula (Remis y Vilardi 1987).

Recientemente, en una población de *D.elongatus* situada en Tafl Viejo, al pie del cerro San Javier (Tucumán) se ha detectado un cromosoma B el cual de acuerdo a la morfología ,

comportamiento meiótico y mitótico podrían ser el mismo analizados en el presente trabajo. En esta población los B estarían asociados con una reducción de la frecuencia de quiasmas intersticiales sin modificar el número promedio de quiasmas totales ni la varianza en la frecuencia de quiasmas entre células (Loray et al 1990). Consecuentemente, en ambas poblaciones los B producirían efectos opuestos. Sin alterar la frecuencia de quiasmas totales afectarían la distribución de los mismos produciendo un incremento en la frecuencia de quiasmas intersticiales en la población de Raco y una disminución de la misma variable en la población de Tafi Viejo. Del mismo modo, sólo en la población aquí analizada se ha detectado un efecto significativo sobre la varianza en la frecuencia de quiasmas totales entre células (Vilardi 1985).

Resultados similares fueron detectados en *Trimerotropis pallidipennis* en donde los supernumerarios estarían asociados con una disminución significativa de la frecuencia de quiasmas totales sólo en dos de las quince poblaciones estudiadas, no detectándose ningún efecto en el resto (Confalonieri 1990).

Estas observaciones sugerirían que los cromosomas B podrían presentar no sólo diferentes efectos entre diferentes especies sino también entre distintas poblaciones de la misma especie. Así, la influencia de esta forma de heterocromatina supernumeraria sobre el control de la formación de quiasmas debe estar afectada tanto por el fondo genético como por el ambiente particular de cada población.

Resultados semejantes a los hallados en la población de Raco se detectaron al analizar la frecuencia de Xi en *Amblytropidia australis*. Los supernumerarios hallados en esta especie incrementan la frecuencia de quiasmas en posición

intersticial y dicho incremento es mayor en las células con mayor número de B. Este efecto lineal produce diferencias significativas entre clases extremas (0-2B) pero no entre clases continuas (0-1B o 1-2B). Esta influencia evidencia nuevamente la existencia de un efecto aditivo.

Sin embargo, este efecto de dosis no siempre está asociado con el incremento en la frecuencia de quiasmas. En *Myrmeleotettix maculatus*, por ejemplo, los individuos portadores de B mostraron un incremento marcado en la frecuencia de quiasmas pero constante entre células con distinto número de supernumerarios (John y Hewitt 1965a,b, Hewitt y John 1967).

En numerosas especies los gráficos que representan los efectos de los cromosomas B sobre varios aspectos del fenotipo (condición de los quiasmas, viabilidad, fertilidad etc.) muestran una característica forma de "zig-zag" como una consecuencia a la respuesta de la célula a las dosis pares e impares de supernumerarios (Baezinger y Knowles 1962, Jones y Rees 1982, Vosa y Barlov 1972, Chang y Kikudome 1974). Sin embargo en las poblaciones de *Dichroplus . elongatus* y *Amblytropidia australis* aquí estudiadas no fue evidente tal condición. El efecto de estos supernumerarios sobre la frecuencia de quiasmas fue lineal conduciendo a un incremento de la variable mencionada conforme aumenta el número de B por célula. La modificación en la formación de quiasmas, principalmente cuando involucra la frecuencia de quiasmas intersticiales, afectaría la capacidad de liberar variabilidad genética. De esta forma, las variantes cromosómicas que estén asociadas con estos efectos podrían ser de considerable importancia en la adaptación poblacional.

a.1.1.1) Efecto sobre la formación de espermátidas:

El estudio de la formación de espermátidas normales y anormales permite analizar si las variaciones presentes en el genoma podrían modificar los procesos de espermiogénesis y espermatogénesis alterando la fertilidad de los portadores.

En general, una determinada especie presenta una tasa de anomalías que constituye el nivel basal de espermátidas anormales de cualquier individuo (Suja et al 1986a). En los ortópteros, frecuentemente esta producción basal puede ser incrementada por la presencia de cromosomas supernumerarios (Nur 1969, Viseras y Camacho 1985, Suja et al 1986a y b, Bidau y Confalonieri 1988, Remis 1989a, Loray et al 1990).

En *Amblytropidia australis* los cromosomas B descritos afectan la formación de espermatozoides conduciendo a la formación de macroespermátidas. Las preparaciones citológicas, realizadas en este caso con hematoxilina acética, han permitido resolver el número de adjuntos centriolares indicando que las macroespermátidas producidas pueden ser 2X o menos frecuentemente 4X.

En general, la producción de macroespermátidas que presentan un nivel de ploidía par (2X y 4X) están relacionadas con el bloqueo del proceso de citocinesis por rezagamiento de los cromosomas B (Nur 1969, Bidau 1988, Confalonieri y Bidau 1986, Bidau y Confalonieri 1988).

La producción en *Amblytropidia australis* de una mayor frecuencia de espermátidas diploides sugeriría que los B bloquearían la citocinesis en la primera o en la segunda

división pero raramente en las dos simultáneamente (Remis 1989a).

En el presente trabajo no se analizó la influencia sobre la fertilidad de los cromosomas B de *Dichroplus elongatus* de la población de Raco. Sin embargo, hemos encontrado que los B detectados en la población de Tafi Viejo, que como se indicó previamente podrían coincidir con los B estudiados en el presente trabajo, producirían una influencia notoria sobre la producción de esperma (Loray et al 1990). Los efectos detectados podrían reunirse bajo los siguientes puntos:

- Los individuos portadores de B presentan mayor proporción de espermátidas anormales (macro y microespermátidas) respecto de los no portadores.
- La proporción de macroespermátidas se incrementa con el aumento del número de supernumerarios por célula.
- La frecuencia de macroespermátidas es mayor en los folículos OB de los machos portadores con respecto a los folículos OB de los machos normales.

A partir de los resultados hallados se ha sugerido que dos mecanismos diferentes deben estar operando simultáneamente. El rezagamiento de cromosomas B justificaría la producción de macroespermátidas con nivel de ploidia 2X o 4X así como la formación de microespermátidas. De la misma forma, tal mecanismo justificaría el efecto de dosis detectado en la producción de macroespermátidas ya que a mayor número de B mayor probabilidad de rezagamiento y de inhibición de la citocinesis.

Sin embargo, debe existir otra explicación que justifique la producción diferencial de espermátidas anormales entre folículos OB de individuos portadores y no portadores.

Recientemente, se ha postulado un mecanismo alternativo para explicar la producción de espermatidas. Este mecanismo, sugerido inicialmente por Suja et al (1986b), postula que si es dañado el mecanismo que mantiene los puentes citoplasmáticos entre células en la línea germinal ; que sólo deberían resolver durante la espermiogénesis conduciendo a la individualización de las espermatidas; se puede conducir a la fusión celular y posterior fusión nuclear (Bidau 1987).

Así, en *D.elongatus*, otro mecanismo mediado por efectos fisiológicos, que aunque no existan evidencias directas de su ocurrencia podría tratarse de la fusión celular, sería responsable de la elevada producción de macroespermátidas en los folículos OB de los machos portadores.

b)-Segmento supernumerario:

b.)-Morfología y comportamiento meiótico:

La mayoría de los segmentos supernumerarios de los ortópteros son de naturaleza heterocromática y generalmnete están localizados terminalmente.

En la población de *D.elongatus* de Buenos Aires se detectó un segmento heterocromático distal en el par S10. Durante profase I, el bivalente heteromórfico se asociaba a través del segmento al cromosoma sexual. Esta asociación finalizaba antes de metafase I indicando la naturaleza heterocromática de la misma.

En *Dichroplus elongatus*, el par S_{10} del cariotipo estándar presenta dos bloques heterocromáticos terminales. Estas observaciones sugerirían que el origen más plausible de este segmento, como el de la mayoría de los detectados en saltamontes, estaría relacionado con la duplicación de heterocromatina existente.

b_{1.1}) - Efecto sobre la formación de quiasmas:

Este material extra, frecuente dentro de los ortópteros, puede afectar la frecuencia y distribución de quiasmas (Hewitt 1979, John 1983). Existen numerosos ejemplos de situaciones polimórficas evidenciando que tales segmentos están asociados con modificaciones en la distribución de quiasmas en los bivalentes involucrados (Shaw, 1970, John 1973, 1981a, 1983, Hewitt 1979, Navas Castillo et al 1985, De la Torre et al 1986, García de la Vega et al 1986, Rufas et al 1986, Remis 1989a, Loray et al 1990). Efectos semejantes también fueron detectados en situaciones politípicas (John y King 1980, 1982, John 1981a). Incluso, como es el caso de *Heteropterinis obscurella*, tales mutaciones pueden conducir a la anulación de la formación de quiasmas produciendo en el par de homólogos involucrados un mecanismo no quiasmático de segregación (John y King 1982).

En *D.elongatus*, en la población analizada en el presente trabajo, la presencia del segmento extra analizado altera la localización del quiasmas en el par S10 de posición distal a proximal. Es evidente que los bloques heterocromáticos producen un reajuste radical en la posición de los quiasmas dentro del bivalente involucrado, conduciendo a un incremento de la frecuencia de entrecruzamiento en posición distal al segmento.

Resultados recientes del análisis de la población de *D.elongatus* de Tafi Viejo han evidenciado la presencia de polimorfismos para segmentos supernumerarios proximales y distales en los pares M6, S9 y S10. Estos segmentos extras también estarían asociados con efectos intracromosómicos determinando, los proximales, un incremento en la frecuencia de quiasmas distales y los distales, un incremento de la frecuencia de quiasmas intersticiales (Loray et al 1990).

Existen varias hipótesis en referencia a la redistribución quiasmática producida por la presencia de segmentos extras principalmente en heterocigosis relacionando tal efecto con la baja ocurrencia de entrecruzamiento en las regiones heterocromáticas, la asimetría del bivalente involucrado e incluso con la formación del complejo sinaptónemico (Camacho et al 1984, John y King 1982, Navas Castillo et al 1985, Rufas et al 1986, De la Torre et al 1986). No obstante, cualquiera sea la causa que produzca tal efecto, la consecuencia genética que trae aparejada es la restricción total o parcial del entrecruzamiento y por ende de la recombinación genética en el bivalente involucrado.

Otro efecto que los segmentos extras presentan es modificar la frecuencia media de quiasmas y/o la varianza entre células en dicha variable (Hewitt y John 1968, Westerman 1969, Shaw 1971, John 1973, 1983, Fontana y Vickery 1974). En *D.elongatu*, la presencia del segmento supernumerario produce un leve incremento en la frecuencia de Xi y XT en diplotene. Sin embargo, tales diferencias no resultaron ser significativas desde el punto de vista estadístico.

El segmento analizado afectaría únicamente la distribución de quiasmas intracromosómica, restringiendo así la recombinación genética sólo en el par involucrado.

c)-Diferenciación cromosómica dentro y entre poblaciones:

La heterocromatina supernumeraria, como se mencionó anteriormente, no es indispensable para el normal desarrollo celular u orgánico. Sin embargo, la mayoría de tales variantes se mantienen en poblaciones naturales y en algunas ocasiones llegan a presentar mecanismos de acumulación (Nur 1963, 1969, 1977). En varias especies de plantas y animales, los cromosomas B tienden a ser eliminados de los tejidos somáticos y a ser mantenidos, a través de tales mecanismos, en la línea germinal (Müntzing 1974, White 1973). De esta forma la regular eliminación de la forma supernumeraria de algunos o todos los tejidos somáticos sería ventajoso a las especies, limitando sus efectos sin limitar su transmisión en las futuras generaciones.

En los casos particulares de *Amblytropidia australis* y *Dichroplus elongatus* los cromosomas B son inestables mitóticamente, lo que sugeriría que tales supernumerarios podrían estar asociados con un mecanismo de acumulación.

Ya que la mayoría de las formas heterocromáticas son eliminadas o mantenidas en menor frecuencia en la línea somática es de particular interés el análisis de tales variantes sobre los procesos meióticos. Los principales efectos están asociados con el apareamiento cromosómico y la recombinación genética (John 1981a). En las dos especies aquí estudiadas se evidenciaron notorios efectos sobre la condición de los quiasmas intra y en algunas ocasiones intercromosómicamente. Tal influencia no afectaría la eficacia biológica del portador pero sí podría incrementar la variabilidad genética de la descendencia.

Además los cromosomas B de *A.australis* están asociados con la producción de macroespermátidas. En *D.elongatus*, en función del comportamiento meiótico anormal de los B y de los resultados hallados en la población de Tafi Viejo se evidenciaría que tales supernumerarios también estarían involucrados en la producción de esperma anormal. Así, en contraposición con la acumulación, los B de *A.australis* y *D. elongatus* pueden tener comprometida la fertilidad del portador al menos si el esperma de los portadores debe competir (en cantidad y calidad) con el de individuos normales en el tracto femenino (Hewitt et al 1987).

El mantenimiento de estos B en las poblaciones podría estar relacionado con la inestabilidad mitótica como mecanismo de acumulación y/o a sus efectos adaptativos entre los que puede contarse su influencia sobre la recombinación genética. Obviamente, si los cromosomas extras constituyen un polimorfismo estable, los efectos de los B sobre la fertilidad de los portadores deben estar contrabalanceados por el mecanismo de acumulación y/o alguna ventaja selectiva. Tal sería el caso del polimorfismo aparentemente estable de cromosomas B de *D.elongatus* en la provincia de Tucumán, que se ha detectado en dos poblaciones y en diferentes años de muestreo en cada una de ellas (Vilardi 1985, Remis y Vilardi 1987, Alberti et al manuscrito en preparación). Por el contrario, en poblaciones de *D.elongatus* de otras regiones geográficas (Fcia de Buenos Aires) no se han detectado cromosomas extras (Remis 1989, Remis 1990 resultados no publicados). La restricción de los B a determinadas regiones reflejaría en cierta medida la importancia adaptativa de tales variantes cromosómicas.

Por otro lado, los segmentos supernumerarios presentan limitadas oportunidades para su acumulación. En *D.elongatus* dichos segmentos fueron observados en varias poblaciones. En la población de Tucumán estudiada en el presente trabajo (Raco), Vilardi 1985 detectó dos segmentos supernumerarios en los pares 8 y 9 respectivamente. En la población de Tafi Viejo, Loray et al (1990) detectaron en una muestra coleccionada en 1987 segmentos en los pares 6, 9 (similar al encontrado el Raco) y 10 (similar al detectado en la población de Buenos Aires aquí analizada). Un análisis poblacional de 1988 indicó que los segmentos 6 y 10 siguen manteniéndose en

la población (Alberti et al, resultados no publicados). Ya que la mayoría de los segmentos presentan efectos intracromosómicos y en algunos casos muestran influencia sobre la varianza entre células en la frecuencia de quiasmas intersticiales, su presencia en las poblaciones debe ser importante para la adaptación de estas, permitiendo la producción de nuevas combinaciones génicas.

II VARIACIONES CROMOSOMICAS ESTRUCTURALES:

En los ortópteros son frecuentes las reestructuraciones cromosómicas que conducen a variaciones dentro o entre poblaciones naturales.

Todo rearrreglo cromosómico interfiere en mayor o menor grado con el normal desarrollo de la meiosis, y por ello sólo una pequeña parte de las variantes que surgen se establecen en la población.

Resulta de particular interés, el análisis de especies que presenten variación cromosómica con el objeto de determinar que parte de la variación existente es significativa desde el punto de vista evolutivo.

Sinipta dalmani es una especie sudamericana que se distribuye desde el sur de Bolivia, Perú, Paraguay y hasta la Pcia de Río Negro de la República Argentina (Ronderos, comunicación personal). De las poblaciones analizadas hasta el presente, sólo las pertenecientes al "Parque Nacional El Palmar" (Pcia. de Entre Ríos) presentan variación cromosómica debida a inversiones pericéntricas y una fusión céntrica. Las poblaciones de Pto Talavera (Pcia Buenos Aires) y Gualeguaychú (Pcia de Entre Ríos) estudiadas también en el presente trabajo no presentaron variación cromosómica intrapoblacional. Las poblaciones de Río Negro (Km 1059, Ruta Nacional N 3) y de las cercanías de la ciudad de Buenos Aires(Parque "Pereyra Iraola") estudiada por Bidau (1984 , 1988) no presentaron alteraciones estructurales. Esta última población presentó un polimorfismo para un cromosoma B de diminuto tamaño. Este tipo de cromosoma señala la existencia pasada de reestructuraciones

que podrían haberle dado origen, aunque tales cambios estructurales no se mantengan.

Estas observaciones sugerirían que esta especie presenta una tasa mutacional cromosómica relativamente alta aunque la variación intrapoblacional se mantenga en determinados ambientes no perturbados, como puede ser las regiones de un Parque Nacional.

a)- Inversiones pericéntricas:

En *Sinipta dalmani* se han detectado dos cambios en la posición del centrómero en los pares M4 y M7 que modifican la morfología del cromosoma de acrocéntrico a submetacéntrico. Durante paquitene, el apareamiento entre los cromosomas homólogos en los pares involucrados no presenta asa o rulo, siendo la naturaleza del mismo estrictamente lineal. Los cambios en la posición del centrómero detectados son considerados como inversiones pericéntricas de acuerdo a dos evidencias que avalan esta consideración:

-No se detectaron puentes dicéntricos y fragmentos en anafase I (como consecuencia del entrecruzamiento en heterocigotas para transposiciones centroméricas)

-Se evidenció supresión de la formación de quiasmas dentro de los límites de la inversión en heterocigosis.

De esta forma, los heterocigotas para cambios en la posición del centrómero en *Sinipta dalmani*, el apareamiento lineal observado es estrictamente no homólogo.

a.)-Efecto sobre la formación de quiasmas:

En general las inversiones pericéntricas están asociadas con efectos notorios sobre la recombinación. Pueden afectar la formación de quiasmas intra o intercromosómicamente conduciendo a una modificación de la frecuencia y/o distribución de los mismos (Weissman 1976, Vaio et al 1979, Goñi et al 1985, Confalonieri 1988).

Como se mencionó anteriormente, los polimorfismos para inversiones pericéntricas de los ortópteros están asociados con una supresión del entrecruzamiento en heterocigosis entre las secuencias estándar e invertida (White y Morley 1955, Weissman 1976, Vaio et al 1979, Goñi et al 1985, Cabrero y Camacho 1986). Este efecto intracromosómico, a menos que la inversión ocurra en un segmento del material genético que este preadaptado, sería una condición indispensable para el mantenimiento de la mutación en la población. De esta forma, la supresión de la recombinación en determinadas regiones protegen una combinación génica, conduciendo a un aislamiento genético entre las regiones involucradas.

En *Sinipta dalmani* la inversión en el par M4 conduce a una ligera disminución en la frecuencia de quiasmas totales en los heterocigotas y un marcado y significativo incremento en la misma variable en homocigosis. Tal efecto fue verificado y analizado en las poblaciones de LL y EP (Remis 1989b). Cuando se analizó la frecuencia de Xi se observó un incremento en heterocigosis y una disminución en homocigosis. Los homocigotas básicos forman uno o menos frecuentemente dos quiasmas. Los heterocigotas presentarían sólo un quiasma ya que en los bivalentes heteromórficos no se produce

entrecruzamiento entre las secuencias estándar e invertida. Tal situación conduce a un incremento del entrecruzamiento en zonas vecinas. La frecuencia de Xi se incrementa notoriamente a expensas de los proximales, ya que la frecuencia de quiasmas distales permanece prácticamente constante.

En los homocigotas de inversión la frecuencia de bivalentes con dos quiasmas es mayor que en los homocigotas básicos. En general, no existen muchos ejemplos en donde la inversión en homocigosis también altera el patrón de distribución de quiasmas en el bivalente involucrado. *Trimerotropis pseudofasciata* y *T. pallidipennis* constituyen ejemplos en donde esta situación se cumple (Weissman 1976, Confalonieri 1988). En *Sinipta dalmani*, los homocigotas de inversión muestran un incremento en la frecuencia de quiasmas distales aunque no exista restricción para que se produzca el entrecruzamiento. De esta forma, la inversión en el par M4 posee un efecto intracromosómico sobre la distribución de quiasmas tanto en heterocigosis como en homocigosis. Así existirían dos explicaciones posibles en referencia al incremento en la frecuencia de quiasmas en homocigosis en el bivalente afectado: a)-relajación de la interferencia a través del centrómero y b)-reducción de la distancia diferencial entre el telómero y el primer quiasma aumentando la probabilidad de un segundo evento de entrecruzamiento. El incremento en la frecuencia de quiasmas distales detectada indicaría que la segunda hipótesis podría explicar los resultados hallados. Sin embargo, a partir de los análisis realizados no puede descartarse que la primera hipótesis pueda complementar a la primera.

Generalmente, la homocigosis estructural no implica homocigosis génica. Así, los valores selectivos de supergenes particulares dependen del orden lineal de los genes y de los alelos particulares que están presentes en cada uno de ellos (Wasserman 1968). De esta forma la secuencia alélica en la región invertida es preservada de la recombinación en heterocigosis y homocigosis.

Otro efecto que pueden presentar las inversiones sobre la condición de los quiasmas es con respecto a la frecuencia de los mismos.

En general los heterocigotas para el rearrreglo presentan una reducción en la frecuencia de quiasmas totales (Vaio et al 1979, Goñi et al 1985, Confalonieri 1988). Sin embargo, tal disminución puede verse compensada por un aumento en la frecuencia de quiasmas en otros pares del complemento (White y Morley 1955, Weissman 1976). Así, la heterocigosis en algunos pares puede alterar la relación de interferencia en otros pares del complemento (Schultz y Redfield 1951).

En *Sinipita dalmani* los heterocigotas presentaron una ligera disminución en la frecuencia de quiasmas que no reveló ser estadísticamente significativa. Esto puede deberse a que en el par M4 los homocigotas básicos presentaban una frecuencia relativamente baja de bivalentes con dos quiasmas. Sin embargo, los homocigotas para la inversión muestran una frecuencia de XT superior a la presentada en otros cariomorfos. Dicha superioridad se explicaría por el efecto intracromosómico, que conduciría como se mencionó anteriormente a un incremento de los quiasmas en posición distal, ya que al eliminar los datos del par M4 del análisis las frecuencias de los tres cariomorfos son semejantes.

Al analizar la frecuencia de Xd, también se demostró un incremento en los individuos homocigotas invertidos. Sin embargo, tal superioridad se sigue manteniendo al eliminar los datos del par involucrado del análisis, evidenciándose una influencia intercromosómica sobre la distribución de los quiasmas.

Efectos similares fueron detectados en *Aiolopus strepens* en donde una inversión pericéntrica en el par S11 muestra en heterocigosis una alteración en el patrón de distribución de quiasmas en el resto de los pares pequeños (Cabrero y Camacho 1982).

El efecto intercromosómico detectado en *Sinipta dalmani* se debería a que la inversión favorece el entrecruzamiento en posición distal los pares medianos y/o pequeños.

En las dos poblaciones analizadas se verifica que dicho efecto es notorio y constante en los pares M5-M6, donde se hallaron diferencias significativas o altamente significativas en todas las muestras. EL análisis de la distribución de quiasmas en los distintos cariomorfos de inversión reveló que en dichos pares existe un efecto de dosis, ya que dicha influencia se manifiesta en los heterocigotas y más pronunciadamente en los homocigotas de inversión (Remis 1989).

En los pares M7-M8 se observó un efecto semejante en las muestras de 1986 de las poblaciones de LL y EP (Remis 1989). Concomitantemente se observó una disminución en la frecuencia de Xi en los pares S9 y S10 en las muestra de 1987 y 1988 de la población de LL. El efecto en el par S11 es marcado, detectándose diferencias estadísticamente significativas tanto en heterocigosis como en homocigosis.

Estas observaciones sugerirían que la inversión en homocigosis conduce a un incremento en la frecuencia de quiasmas localizados en posición distal intra e intercromosómico, involucrando a los pares medianos y/o pequeños y ajustando a los portadores de la inversión a un nivel de recombinación menor que los homocigotas básicos.

Es bien sabido que la recombinación en la meiosis es una de las principales fuentes de variación entre fenotipos (John 1983). Así, un ajuste en la cantidad de recombinación puede asumir una función adaptativa importante en regular la cantidad de variabilidad dentro y entre poblaciones.

La inversión en el par M7 fue detectada en heterocigosis en dos de las cuatro poblaciones analizadas. Los individuos homocigotas básicos presentan en el par involucrado un único quiasma generalmente localizado en posición distal y menos frecuentemente en posición intersticial o proximal. En los heterocigotas el bivalente heteromórfico presenta también sólo un quiasma frecuentemente distal y no observándose entrecruzamiento en posición proximal. La ausencia de diferencias significativas en la distribución de quiasmas se debería a la baja ocurrencia de quiasmas en posición proximal en los homocigotas básicos. Es decir, el par M7 presenta condiciones que favorecería la ocurrencia de inversiones debido a la localización distal de quiasmas en los homocigotas básicos.

La frecuencia de Xi presentó una ligera superioridad en los heterocigotas. Sin embargo, la frecuencia de Xi y XT no difieren significativamente entre cariomorfos. Estos resultados son semejantes a los hallados en la inversión en el par M4. Lamentablemente no se han detectado homocigotas de

inversión para comprobar si este rearrreglo en doble dosis también afecta la recombinación.

En consecuencia los resultados hallados indican que la inversión no permitiría la producción de quiasmas entre las secuencias estándar e invertida aunque este tipo de entrecruzamiento es poco frecuente en los homocigotas básicos.

a.1.1)-Efecto sobre la formación de espermatidas:

La tasa de anomalías que constituyen el nivel basal de espermatidas anormales presentes en cualquier individuo de una especie también puede verse afectada por reestructuraciones cromosómicas presentes en poblaciones naturales. En los ortópteros, existen escasos ejemplos de inversiones asociadas con este tipo de influencia. Morán (1981), ha descrito el caso particular de *Caledia captiva* en donde la F₁ entre dos razas que diferían para una serie de inversiones, heterocigotas múltiples, presentaban un nivel variable de anomalías principalmente formación de univalentes y producción de asociaciones múltiples. Estas anomalías conducirían a un incremento en la producción de espermatidas anormales. Sin embargo, Morán sugiere que tal condición no sería causada por la heterocigosis estructural sino por un desbalance genotípico evidente por la falta de correlación entre el tamaño de las inversiones y la incidencia de asinapsis.

En *Sinipta dalmani* el nivel basal de espermatidas anormales en la población de LL en 1987 y 1988 fue aproximadamente 0.6%. Los individuos portadores de la

inversión presentan valores ligeramente superiores en la producción de macroespermátidas. No obstante, tales diferencias no fueron estadísticamente significativas, indicando que la inversión en el par M4 no afectaría la fertilidad.

a₁₁₁)-Efecto sobre rasgos exomorfológicos:

En las tres muestras poblacionales analizadas se verificó cierta influencia de la inversión pericéntrica en el par M₄ sobre cinco caracteres exomorfológicos evidenciada por un efecto de superdominancia (en general positivo) en el tamaño corporal acompañado frecuentemente por una disminución del mismo en los homocigotas de inversión. Un análisis estadístico multivariado confirmó que en la población de LL tales diferencias resultaron ser estadísticamente significativas.

En general, dentro de los ortópteros existen escasos ejemplos de reestructuraciones cromosómicas asociadas con efectos sobre la morfología. White y Andrew (1960) estudiando características exomorfológicas en *Keyacris scurra*, quizás hasta el presente el único caso de inversiones pericéntricas asociadas con este tipo de influencia, registraron que dos inversiones (Tidbinbilla y Blundell) estarían relacionadas con una reducción del peso corporal.

Evidentemente, en *Sinipta dalmani* la presencia de la inversión en el par M₄ afecta ciertos rasgos morfológicos pero en diferente forma según esté en simple o doble dosis. El estudio de los valores genotípicos estimados y de sus componentes, valor reproductivo y desviación de dominancia, analizando a la inversión como unidad es decir considerando a

los genes involucrados en el rearreglo en conjunto (como un supergen), ha permitido evaluar detalladamente la influencia mencionada. Al considerar el valor reproductivo se está considerando la suma de los efectos medios de los supergenes presentes en las distintas secuencias cromosómicas que posee el portador. Por lo tanto, los valores reproductivos de los distintos cariomorfos presentarían un incremento o disminución lineal en los valores métricos de los caracteres medidos a medida que aumenta el número de cromosomas invertidos ($A/A \ll A/SM \ll SM/SM$ o $A/A \gg A/SM \gg SM/SM$). Sin embargo estos resultados distan notoriamente de los valores genotípicos estimados. Tal diferencia sería atribuida a desvíos por dominancia en la determinación de los caracteres morfológicos analizados. Las desviaciones de dominancia son muy marcadas en las tres muestras poblacionales y explicarían en mayor porcentaje el valor genotípico detectado. Es decir, los valores genotípicos serían el resultado de un efecto aditivo (incremento o disminución del tamaño) superpuesto por un notorio efecto de dominancia.

En *Keyacris scurra* se evidenció que la inversión Tidbinbilla estaría relacionada con efectos debidos a dominancia en contraposición con la inversión Blundell, la cual no parecería tener ningún efecto manifiesto de este tipo de interacción ya que los heterocigotas serían intermedios en comparación con los homocigotas respectivos (White y Andrew 1960). Una situación similar fue encontrada al estudiar una fusión céntrica en *Leptyisma argentina* que conduce a un incremento en el tamaño corporal. Las mediciones de seis caracteres morfológicos de los heterocigotas fueron

intermedios evidenciando así ausencia de dominancia (Colombo 1989).

De esta forma el hecho que en los ortópteros no ocurra entrecruzamiento dentro de los límites del rearreglo permite en las distintas secuencias cromosómicas la acumulación de complejos génicos que pueden estar asociados con efectos particulares aditivos y/o dominantes. En *Sinipta dalmani* el efecto es preponderantemente debido a la interacción superdominante.

Además en *Sinipta dalmani* los distintos cariomorfos de inversión mostraron cierta heterogeneidad en las varianzas. Los individuos homocigotas básicos son los que presentarían mayor varianza y los homocigotas de inversión los valores de varianza menores. Si bien sólo la comparación de algunos caracteres en algunas muestras presentaron diferencias estadísticamente significativas, una prueba de signos evidenció una tendencia notoria hacia una reducción de la varianza de los homocigotas de inversión. Cuando se compararon poblaciones enteras, se evidenció que la muestra de LL de 1986, que posee mayor frecuencia de inversión (0.40), presentaba menor varianza fenotípica en todos los caracteres analizados. Estos resultados sugerirían un consistente efecto de la inversión M_4 sobre la cantidad de variación en el tamaño corporal entre individuos.

Un resultado similar fue hallado en *Keyacris scurra* donde en tres de las cuatro poblaciones de Nueva Gales del Sur (Australia) los individuos homocigotas para cualquiera de las inversiones analizadas presentaban valores de varianza más bajos (White y Andrew 1960).

De acuerdo a los efectos meióticos producidos por las inversiones pericéntricas en los ortópteros, en *S. dalmani* y *K. scurra* existe una restricción en la formación de quiasmas en los heterocigotas que conduciría a una reducción en la recombinación genética. Ante tal situación se esperaría una asociación positiva entre la capacidad de liberar variación genética y la variación morfológica.

En contraste con estos resultados, Westerman (1983) detectó en poblaciones naturales de dos especies de *Phaulacridium* una correlación negativa entre la frecuencia de quiasmas y la variación morfológica. El autor sugiere que las poblaciones con elevada frecuencia de quiasmas conducen a una mayor cantidad de variación genética liberada, la cual estaría sujeta a selección y por ende podría ser perdida rápidamente. En cambio las poblaciones con menor frecuencia de quiasmas tenderían a mantener su variabilidad preservada ya que dentro del genoma ocurre menor recombinación.

Una situación intermedia fue descrita en *Dichroplus pratensis* en donde las poblaciones con menor frecuencia de fusiones céntricas presentan mayor índice de recombinación pero no muestran variaciones morfológicas estadísticamente significativas (Bidau 1990).

Los polimorfismos para fusiones e inversiones que conducen a una restricción de la recombinación generan menor variabilidad genética en las secuencias invertidas o en los cromosomas fusionados con respecto a las secuencias o cromosomas estándar. Si bien la restructuración puede tener cierta antigüedad, obviamente a través de mutación no podría almacenar la variación existente en las formas estándar y más aún en el caso en donde los homocigotas para el rearreglo

cromosómico también presentan restricciones en el entrecruzamiento. Siguiendo este razonamiento, si se considera reestructuraciones cuyos genes involucrados afectan algún rasgo morfológico, es de esperar mayor variabilidad en los individuos con cariotipo básico si tal variación es explicada principalmente por efectos aditivos. Si bien en *Sinipta dalmani* no se analizaron morfológicamente poblaciones monomórficas, se evidenció una superioridad en la varianza fenotípica en los homocigotas básicos así como una disminución en tal variable en la muestra poblacional que presenta mayor frecuencia de inversión (LL 1986).

Sin embargo, debería considerarse que parte de la variación fenotípica observada es atribuible a causas genéticas aditivas. En el caso particular de la especie aquí estudiada, los valores genotípicos estimados difieren de los valores fenotípicos observados para varios caracteres analizados y dentro de la variación genotípica estimada la mayor parte de ella es debida a efectos de dominancia. Estos resultados sugerirían dos conclusiones importantes:

-La variación genotípica detectada se explicaría preponderantemente por un efecto de dominancia.

-La variación fenotípica observada es atribuible principalmente a efectos del ambiente y genotípicos residuales siendo tal influencia notoriamente superior en las muestras poblacionales de 1988 (LL y LS).

White y Andrew (1960) concluyeron que la diferencia detectada en el tamaño en *M.scurra* se debería a una acumulación diferencial de genes que incrementan o disminuyen el peso corporal en las distintas alternativas cromosómicas, siendo el efecto producido netamente aditivo. No obstante,

sólo algunas de las poblaciones estudiadas presentaron correlación entre la frecuencia del rearreglo y la variación fenotípica. Además se evidencia una considerable variación geográfica de forma tal que las diferencias entre cariomorfos pueden presentar distinto sentido. Estos hallazgos sugerirían una neta influencia ambiental que en ciertas ocasiones justificaría los resultados obtenidos y que no se ha tenido en cuenta.

De la misma forma sería interesante reevaluar la situación de las dos especies de *Phaulacridium* estudiada por Westerman (1983), pero teniendo en cuenta que parte de la variación morfológica es debida a causas genéticas aditivas.

Los resultados hallados en *S.dalmani* señalan que sólo una fracción pequeña de la variación observada se esperaría que sea transmitida a la siguiente generación. Sin embargo, aunque con escaso componente aditivo el efecto sobre los rasgos morfológicos detectado, así como la diferencia en la variación observada son notorios y se manifiestan en las distintas poblaciones y los distintos años. En el ambiente particular del Parque Nacional, la inversión sería la responsable de la disminución en la varianza fenotípica asociada con la formación de fenotipos notoriamente diferentes entre cariomorfos lo cual podría conferir alguna ventaja adaptativa en la explotación del habitat.

a.1.v)-Diferenciación cromosómica dentro y entre poblaciones:

Las poblaciones del Parque Nacional "El Palmar" resultaron ser polimórficas para dos inversiones pericéntricas.

Es de importancia considerar cuales son las posibles causas del establecimiento y mantenimiento de la variación cromosómica detectada en este ambiente particular.

De hecho, el establecimiento de una mutación cromosómica está relacionado directamente con los efectos que pueda producir sobre la meiosis. Bajo ciertas circunstancias los procesos estocásticos pueden jugar un importante papel en el establecimiento inicial de una mutación cromosómica, explicando en parte, la abundancia de variantes cromosómicas halladas en poblaciones naturales (Charlesworth y Charlesworth 1973, John 1981b). Sin embargo, es difícil que una mutación cromosómica que produzca una reducción en la fertilidad pueda mantenerse a menos que esté compensada por una ventaja selectiva o algún mecanismo de acumulación (John 1981b). El mismo Wright enfatizó que no se puede atribuir a la deriva genética cualquier cambio evolutivo excepto como un disparador que permite liberar a la selección en busca de un pico adaptativo más alto (Hartl 1980).

En particular, las inversiones pericéntricas polimórficas de los ortópteros halladas en poblaciones naturales han alcanzado una adaptación, ya que generalmente están acompañadas de apareamiento lineal no homólogo entre sus límites evitando la formación de productos meióticos desbalanceados (Hewitt 1979, John 1983).

Se han postulado varias teorías para explicar el establecimiento de una inversión relacionando la superioridad del heterocigota con los efectos de posición (Sperlich 1966) o efectos de sobredominancia (Nei et al 1967). Sin embargo, estas teorías no pueden explicar completamente los resultados hallados por Dobzhansky y col. al analizar el comportamiento de poblaciones artificiales de *Drosophila pseudobscura* formados por mezcla de razas de diferente origen geográfico (Dobzhansky 1970). Estos resultados condujeron a Dobzhansky a introducir el término de coadaptación para hacer referencia al ajuste mutuo de complejos poligénicos que ocurren en una misma población. A partir de entonces se reconoció la importancia de los grupos de ligamiento y enfatiza que la selección natural favorecería el ligamiento cerrado entre alelos cuya interacción incrementa la eficacia biológica.

Charlesworth y Charlesworth (1973) sostienen que un factor genético que modifique el ligamiento entre los alelos se expandirá en una tasa significativa en la población, si esta produce un ligamiento cerrado entre los loci y es introducida en gametas que presenten una eficacia biológica superior que la eficacia biológica promedio de la población. Así, una inversión se expandirá con una tasa significativa si es introducida en una gameta con eficacia biológica marginal superior a la poblacional.

De esta forma, si una inversión nueva surge en un sistema multilocus puede ser:

-Seleccionada eficientemente, si la población donde ingresa esta en equilibrio pero existe desequilibrio de ligamiento.

-Selectivamente neutra, si la población está en estado de equilibrio con equilibrio de ligamiento.

Es decir, una inversión puede ser introducida en un sistema multilocus sin desequilibrio de ligamiento. Este tipo de oportunidad de incorporación de una inversión es del orden de la recíproca del tamaño poblacional (Charlesworth y Charlesworth 1973). De esta forma sería necesaria una gran tasa de mutación para que un polimorfismo se establezca. En grupos donde la tasa de mutaciones espontáneas es baja sería difícil que el establecimiento de la inversión se produzca bajo estas condiciones. En ortópteros la frecuencia de inversiones espontáneas detectadas es baja, incluso dentro de los grupos de los Trimerotropinos y Morabinos, donde los polimorfismos de inversiones son frecuentes. Estas observaciones sugerirían que las inversiones se establecerían en forma más frecuente si se seleccionaran eficientemente. Aún, si la mutación es introducida bajo la segunda condición, ni bien esta aumente su frecuencia estaría sometida a presiones selectivas (Charlesworth y Charlesworth 1973).

Estas conclusiones harían pensar que las inversiones que presentan una frecuencia de valor considerable y más aún si constituyen un polimorfismo estable, seguramente presentan ligamiento cerrado entre alelos que afectan la eficacia biológica.

En *Sinipta dalmani*, la inversión en el par M4 ha sido detectada en las cuatro poblaciones estudiadas: LL, EP, LS y EC. Una de ellas (LL) fue mostrada durante cuatro años consecutivos. La frecuencia de inversión no difiere significativamente entre años. Estas observaciones hacen suponer que si la inversión mantuvo su frecuencia a través de

tres años su situación podría estar constituyendo un polimorfismo estable.

En cada una de las poblaciones analizadas y en cada muestra de ellas las frecuencias de los diferentes cariomorfos para la inversión en el par M4 se ajustan a las esperadas de acuerdo al equilibrio de Hardy Weinberg. No obstante, en las muestras de LL (1986, 1987, 1988), EP y LS se evidencia un ligero exceso de homocigotas. Aunque tal diferencia obviamente no es estadísticamente significativa es constante en LL y sólo no se evidenció en la población de EC.

Cuando se comparó el ajuste a Hardy Weinberg en la población de LL considerando los resultados de todos los años conjuntamente (ya que no se detectaron diferencias significativas entre ellos) se evidenció un exceso significativo de homocigotas. En las otras poblaciones o en el análisis separado de las muestras de LL no se detectaron diferencias significativas pero generalmente se evidenció un ligero exceso de homocigotas.

Las explicaciones habituales para explicar un exceso de homocigotas son la ocurrencia de cruzamientos consanguíneos, algún tipo de apareamiento preferencial o una subestructuración de la población, ya que una desventaja de los heterocigotas conduciría a un polimorfismo inestable.

La existencia de endogamia como sistema reproductivo dentro de las poblaciones de gran tamaño de estos ortópteros es poco probable, observándose (como evidencia indirecta) ajuste a Hardy Weinberg en la mayoría de las mutaciones cromosómicas analizadas (Hewitt 1979, John 1983).

De esta forma queda abierto el interrogante acerca si en estas poblaciones existiría: algún tipo de apareamiento

preferencial tal como se ha detectado en poblaciones polimórficas para rearrreglos cromosómicos en otros insectos (Dobzhansky 1970), o cierto grado de estructuración.

Las observaciones en el campo han revelado que los machos de esta especie son eficaces voladores respondiendo a la perturbación de pastos con vuelos rápidos pero cortos. En cambio las hembras son de mayor tamaño y presentan menor movilidad escondiéndose entre los pastos como respuesta al acecho. Las poblaciones muestreadas presentan una distribución uniforme, la que sumada a la vagilidad presentada por los machos hace poco probable la existencia de una marcada estructuración es decir formación de demos o subpoblaciones locales con determinado grado de aislamiento. No obstante, aunque esta hipótesis sea poco probable, no puede descartarse a partir de los análisis realizados en el presente trabajo, la existencia en la población de cierta tendencia al apareamiento entre individuos nacidos en la misma región originando cierto grado de diferenciación espacial sin evidenciarse obviamente una marcada estructuración.

EL estudio de la inversión en el par M_4 en 1988 dentro del Parque Nacional (analizando evaluando las muestras de LL, LS y EC) ha permitido evaluar la diferenciación cromosómica dentro y entre poblaciones. Los valores de F_{IS} son positivos indicando una superioridad de los homocigotas observados pero estadísticamente no significativa. El valor de F_{IS} promedio es también positivo y el correspondiente valor de X^2 está cercano a la significación.

El valor de F_{ST} es bajo y el valor de X^2 correspondiente está cercano a la significación.

El valor de F_{IT} es positivo y estadísticamente significativo, indicando que al considerar a todos los individuos como pertenecientes a una única población se observa un ligero incremento en la frecuencia de homocigotas observados. Este resultado se debería conjuntamente al ligero exceso de homocigotas con respecto a los esperados de acuerdo al equilibrio de Hardy-Weinberg en cada población así como a cierta diferenciación entre las poblaciones.

Cuando se comparan las frecuencias de la inversión entre las poblaciones, se observa que la población de LL no difiere significativamente con respecto a la de LS pero si con respecto a la población EC.

Las poblaciones de LL y LS presentan un ambiente semejante. Están ubicadas en las cercanías de un arroyo o afluente del mismo en regiones húmedas caracterizadas por árboles y pastos altos. La población de EC está más alejada de los arroyos y presenta un ambiente más seco caracterizado por pastos cortos. De acuerdo con las condiciones ambientales semejantes, las poblaciones de LL y LS presentan frecuencias de inversión semejantes. La población de EC presenta una frecuencia de inversión menor justificando las diferencias halladas.

Paralelamente, la población de LL presentó una disminución, aunque no significativa, en la frecuencia de inversión en 1987. En dicho año se registró (según datos de la Estación de Concordia) una disminución en el registro pluviométrico anual pero fundamentalmente estacional (considerando al periodo Setiembre-Diciembre que involucra desde la eclosión de huevos hasta la mortalidad de la mayoría de los individuos, Ronderos, comunicación personal) (Tabla

44). Estas observaciones sugerirían que la frecuencia de la inversión poblacional podría estar relacionada con las condiciones ambientales del lugar. No existe ninguna evidencia que señale una causalidad de la asociación. Sin embargo existe y es sugestiva.

En la actualidad, se admite que el control de la frecuencia de quiasmas es doble genético y ambiental (Shaw 1971b,1972). Ya que la inversión afectaría la recombinación genética y por ende la variabilidad liberada en la siguiente generación, la frecuencia de la misma podría estar regulada de acuerdo de variación genética adecuada en ambientes particulares.

La inversión en el par M7 fue detectada sólo en heterocigosis en dos poblaciones (LL y LS). En la población LL fue detectada sólo en los dos últimos años de muestreo. La frecuencia de este rearrreglo es baja en el parque nacional. Pueden considerarse tres hipótesis concernientes a este rearrreglo:

-La mutación es de origen reciente y se encuentra en periodo de incremento de su frecuencia el cual, como se mencionó anteriormente, puede o no estar relacionados con fuerzas selectivas.

-La mutación está presente en la población como una "reliquia histórica" debido a que el rearrreglo está siendo eliminado de la misma.

-La mutación está mantenida en la población en baja frecuencia a través de un equilibrio estable.

Las últimas hipótesis serían poco probables ya que aunque la mutación esté en baja frecuencia, no se detectó en las

otras muestras de LL o en las otras poblaciones con tamaños muestrales semejantes.

El hecho que la mutación se encuentre en dos poblaciones cercanas, sumado a lo antes mencionado, otorgaría mayor probabilidad de ocurrencia a la primera hipótesis.

Sin embargo, estas conclusiones son quizás especulativas, en función de los datos con que se cuenta. Esta inversión constituye un rearrreglo que resulta de interés seguir analizando con el objeto de esclarecer su situación.

Ahora bien, existe todavía el interrogante crucial de que aspectos de la eficacia biológica pueden ser afectados por los cambios cromosómicos y por ende puedan estar relacionados con su establecimiento y mantenimiento.

John y Lewis han hecho diferencia entre los efectos endo y exofenotípicos haciendo referencia al componente de la eficacia biológica que resta sobre el desarrollo y metabolismo para definir el primero y a la regulación de la composición de las gametas y cigotas que produce un individuo para referirse al segundo (John 1981b).

Como se mencionó anteriormente, existen en la naturaleza numerosos ejemplos que conducen a considerar que las variantes cromosómicas pueden afectar el curso y consecuencias de la meiosis. En *Sinipta dalmani* las dos inversiones pericéntricas analizadas presentan un notorio efecto sobre la formación de quiasmas. El efecto intracromosómico constituye un importante requerimiento para el mantenimiento de la mutación cromosómica ya que impediría la formación de gametas desbalanceadas. La consecuencia genética más importante de tales polimorfismos sería la diferenciación progresiva entre las secuencias estándar e invertidas. Así, los genes involucrados no

actuarían independientemente sino que interactuarían en conjunto (supergen). Teniendo presente ahora el efecto intracromosómico sobre la recombinación, una hipótesis preadaptativa (los rearrreglos que involucren combinaciones génicas con cierta coadaptación serán favorecidos) constituiría la explicación más plausible como modelo de evolución de los polimorfismos de inversiones de *S.dalmani*. Es decir la función biológica de los mismos sería el establecimiento de desequilibrio de ligamiento y supergenes con valor adaptativo.

Además del efecto intracromosómico la inversión en el par M4 afecta la condición de los quiasmas en los pares medianos y/o pequeños conduciendo también a una disminución de la frecuencia de quiasmas intersticiales y por ende de la recombinación. Estas observaciones permiten predecir que las reestructuraciones analizadas pueden modificar el sistema de control de quiasmas dependiendo de la flexibilidad de recombinación genética adecuada. La regulación de la recombinación es entonces un importante efecto que manifiestan dichas mutaciones.

De esta forma, los efectos intracromosómicos que pueden conducir a la formación de supergenes así, como los intercromosómicos que producen una restricción parcial del entrecruzamiento afectando el nivel de variación genética de la progenie podrían tener un significado adaptativo relacionado con el mantenimiento de la mutación.

De esta forma, las dos inversiones analizadas presentarían una distribución geográfica no aleatoria, habiéndose detectado tales variantes en situación polimórfica exclusivamente dentro de los límites del Parque Nacional.

El resto de las poblaciones estudiadas son monomórficas y sólo se ha detectado en una de ellas un cromosoma B de diminuto tamaño como indicio de alguna mutación cromosómica ocurrida.

El tamaño poblacional no fue estimado a través de métodos directos, pero medido a través del esfuerzo de captura, las poblaciones de "Gualeguaychú" y "Puerto Talavera" son menos densas que las de "El Palmar".

Estas observaciones indicarían que las poblaciones que presentan mayor polimorfismo poseen un nivel de recombinación genética menor y serían más densas.

Los resultados hallados podrían ser explicados de acuerdo a los argumentos aplicados en el modelo de "patrón de frecuencias de inversión central marginal" detectado en varias especies del género *Drosophila*. En él las poblaciones ecológicamente centrales presentan mayor grado de polimorfismos de inversiones. Este patrón se atribuye a que las poblaciones ecológicamente marginales requieren mayor variabilidad genética para hacer frente a los ambientes fluctuantes de las áreas periféricas (Carson 1958, Brussard 1984).

Dentro de los ortópteros existen algunos ejemplos en donde se refleja dicho patrón. En *Trimerotropis pseudofasciata* analizando la variación cromosómica debida a inversiones pericéntricas presentes en cuatro poblaciones continentales y cinco insulares se demostró que las poblaciones más densas son ecológicamente centrales y son cromosómicamente polimórficas, presentando mayor frecuencia de quiasmas totales pero menor de quiasmas intersticiales (indicando que los quiasmas extras serían de localización distal). Las poblaciones menos densas

son ecológicamente marginales y presentan uniformidad cromosómica y alto índice de recombinación (Weissman 1976).

Resultados similares se encontraron en *Trimerotropis Helfferi*, una especie que también presenta polimorfismos para inversiones pericéntricas (Schroeter 1968).

En *Leptysma argentina* se detectó un polimorfismo para una fusión céntrica que conduce a una reducción de la recombinación intra e intercromosómicamente. La distribución geográfica de dicha fusión también refleja el modelo central marginal (Colombo 1989).

Las poblaciones de *Sinipta dalmani* del Parque Nacional presentarían las características de poblaciones ecológicamente centrales ya que sólo en ellas se han detectado dos inversiones pericéntricas polimórficas. Esta hipótesis estaría avalada por el hecho que en estas poblaciones se ha detectado simultáneamente otra reestructuración cromosómica que está asociada, al igual que las inversiones, con una marcada reducción de la recombinación genética. Estas poblaciones, por estar en ambientes ecológicamente favorables, podrían reducir el nivel de recombinación intra e intercromosómicamente y por ende mantener los polimorfismos estructurales. Por el contrario las poblaciones uniformes cromosómicamente presentarían características de poblaciones ecológicamente marginales (aunque no sean geográficamente marginales) presentando menos restringido el sistema de recombinación a través de la ausencia de heterocigotas estructurales.

De esta forma, se retendría la flexibilidad de recombinación que permitiría a las poblaciones soportar las presiones selectivas características de ambientes ecológicamente marginales.

En el caso particular de la inversión en el par M_4 se ha detectado un efecto significativo sobre algunos rasgos morfológicos que conducirían a una marcada diferenciación fenotípica entre cariomorfos y una disminución en la variación fenotípica en los individuos portadores de la inversión. Aunque la variación fenotípica tenga un componente aditivo pequeño, dentro del ambiente particular del Parque Nacional, el efecto de este rearrreglo se mantiene en las distintas muestras poblacionales.

Así, estas poblaciones que habitarían regiones ecológicamente centrales presentarían mayor frecuencia de reordenamientos y menor varianza fenotípica que las esperadas en poblaciones periféricas.

Como se mencionó previamente, Westerman (1983) en dos especies de *Phaulacridium* detectó una correlación negativa entre la variación morfológica y la frecuencia de quiasmas. Ya que los cromosomas B hallados en estas especies producen un incremento en la frecuencia de quiasmas, ellos estarían asociados con una disminución de la variación fenotípica. Tales cromosomas extras sólo fueron detectados en poblaciones ecológicamente centrales.

Así, resulta interesante resaltar que aunque las distintas mutaciones cromosómicas actuarían en distinta forma sobre la recombinación genética el resultado final sería una mayor variabilidad fenotípica para hacer frente a los ambientes ecológicamente marginales. No obstante sería de interés analizar que parte de la variación observada es atribuida al componente aditivo y por ende se esperaría que se heredara independientemente del efecto ambiental.

En el caso de *S.dalmani* la reducción de la recombinación estaría relacionada con una disminución de la variación fenotípica, dentro de la cual un componente aunque pequeño estaría representando a la variación genética aditiva sugiriendo en cierta forma una diferenciación entre ambientes en ese componente. Las poblaciones de esta especie que pertenecen a un ambiente no perturbado por el hombre constituyen un ambiente particular que permitiría tolerar la reducción en la recombinación y en algunos casos en la variación fenotípica manteniendo los polimorfismos estructurales. De esta forma, presiones diferenciales en ambientes ecológicamente distintos podrían justificar la ausencia de polimorfismos para reestructuraciones cromosómicas fuera del Parque Nacional.

Las conclusiones enunciadas constituyen una primera aproximación al análisis del mantenimiento de los polimorfismos de inversiones en *S.dalmani*. Sería de interés continuar en esta línea de trabajo principalmente analizando la inversión M_4 que ofrece una inmejorable oportunidad de estudiar efectos simultáneos sobre la meiosis y rasgos exomorfológicos.

b)-Fusiones Céntricas:

En *Sinipta dalmani* se han detectado dos fusiones céntricas, una en situación espontánea y otra polimórfica (Remis 1990).

La fusión espontánea estuvo presente en toda la línea germinal sugiriendo que la mutación ocurrió en una etapa temprana de la diferenciación de la línea germinal o en el desarrollo del individuo.

La fusión polimórfica involucra al quinto par del complemento. El cromosoma neo Y no ha sufrido modificaciones secundarias siendo de naturaleza eucromática y presentando el mismo tamaño del componente X_R del neo X. Estas observaciones sugerirían que la fusión debe ser de origen relativamente reciente.

b₁)-Efecto sobre la formación de quiasmas:

Las fusiones céntricas a diferencia de las inversiones poseen un efecto inmediato sobre la recombinación reduciendo el número de grupos independientes de ligamiento.

En los ortópteros, las fusiones céntricas polimórficas están asociadas, como es de esperarse, con una disminución en la frecuencia de quiasmas en posición proximal e intersticial asegurando la normal orientación de los trivalentes durante la primera metafase meiótica (Hewitt y Schroeter 1968, Bidau y Hasson 1984, Colombo 1987).

En general, las fusiones espontáneas presentan una frecuencia de orientación lineal mayor que las polimórficas

debido a que las primeras no están asociadas con efectos sobre la condición de los quiasmas en los pares involucrados. Southern (1967) detectó una fusión entre cromosomas de semejante tamaño en *Myrmeleotettix maculatus* que puede presentar orientación alterna o lineal pero no afectaría intracromosómicamente la formación de quiasmas. En *Valanga nigrocornis*, una fusión en mosaico que produce igual proporción de orientación alterna y lineal, sólo presentaría un notorio efecto intercromosómico (Teoh y Yong 1983). Colombo (1987) encontró que una fusión espontánea en *Leptysma argentina* con 36% de orientación lineal no alteraría ni la frecuencia ni la distribución de los quiasmas en el trivalente al compararse con los bivalentes respectivos. En *Chorthippus jucundus*, una fusión entre acrocéntricos de diferente tamaño con alta frecuencia de orientación lineal (72%) produciría una leve reducción de la frecuencia de quiasmas proximales en uno de los brazos del metacéntrico (López Fernández et al 1984).

En *Sinipta dalmani* el mutante espontáneo presentó una elevada frecuencia de orientación lineal (75%). La comparación de la frecuencia de quiasmas en el trivalente y en los bivalentes estándar indicó que el rearreglo mencionado no afectaría la distribución de quiasmas en los pares M6 y M7 (Remis 1990).

Estas observaciones avalarían la hipótesis postulada por Colombo (1987) y Bidau y Mirol (1988) que la redistribución de quiasmas presente en las situaciones polimórficas no sería una consecuencia directa del rearreglo. Tal efecto intracromosómico sería el resultado de una adaptación posterior a través de presiones selectivas sobre la formación

de quiasmas en posición proximal e intersticial en el trivalente de fusión.

Las fusiones que producen alta frecuencia de orientación lineal es de esperar que produzcan una concomitante disminución en la fertilidad de los portadores. Sin embargo, en *Myrmeleotettix maculatus* la fusión espontánea mencionada anteriormente aparentemente no afectaría la producción de gametas normales a pesar de la orientación lineal observada en metafase I (Southern 1967). Similarmente, *Sinipta dalmani* presenta un incremento en la frecuencia de productos balanceados de células en segunda división con respecto al porcentaje de orientación lineal observada. Este resultado sugiere inestabilidad de la orientación lineal. El trivalente puede reorientarse en el huso antes de la separación en anafase I (Southern 1967, Sybenga 1975, Arrundhati et al 1986). Así, las gametas balanceadas de un portador de una fusión espontánea puede ser más alta que la esperada en base al recuento de orientación del múltiple en metafase I.

Varios factores pueden jugar una función en la variación de la frecuencia de la orientación de los multivalentes. Dos de ellos son el tamaño de los cromosomas involucrados y la distribución de los quiasmas. En *Chortippus jucundus* el desigual tamaño de los cromosomas podría ser el principal factor que afecte la frecuencia relativa de orientación lineal ya que la distribución de quiasmas es heterogénea en ambas orientaciones (López Fernández et al 1984). En *Sinipta dalmani*, los cromosomas involucrados poseen un tamaño similar. Sin embargo, de acuerdo a los resultados presentados aquí, la distribución de quiasmas tendría una

importante influencia en la orientación del trivalente en el huso. La lineal presenta alta frecuencia de quiasmas intersticiales en uno o ambos brazos del metacéntrico mientras que la alterna está asociada con dos quiasmas distales (Remis 1990). Colombo (1987) encontró en *Leptysma argentina* que el arreglo lineal del trivalente de fusión espontánea presentaba alta frecuencia de quiasmas proximales.

Estos resultados indicarían que la orientación que permite la disyunción cromosómica está asociada con quiasmas a considerable distancia del centrómero en los dos brazos del cromosoma fusionado.

La fusión polimórfica detectada involucra al cromosoma sexual y al quinto par del complemento. La presencia de la misma produce una reducción en la frecuencia de quiasmas intersticiales. Tal disminución se explicaría sólo por un efecto intracromosómico, ya que al eliminar los resultados del par involucrado las diferencias observadas no son estadísticamente significativas (Remis 1990).

Los individuos portadores de la fusión presentan un significativo incremento en la frecuencia de quiasmas distales en el bivalente neo XY.

Resultados similares fueron detectados en *Podisma pedestris* en donde una fusión que involucra al cromosoma sexual, también parece ser evolutivamente reciente y conduce a una reducción en la frecuencia de quiasmas distales en el bivalente heteromórfico (John y Hewitt 1970, Hewitt y John 1972).

Estos resultados indicarían que las fusiones que involucran al cromosoma sexual podrían también estar relacionadas con una reducción en la recombinación

intracromosómica, restringiendo la ocurrencia de quiasmas en posición proximal e intersticial. El efecto mencionado, protegería combinaciones génicas de la desintegración (al igual que las inversiones) conduciendo a una diferenciación cada vez mayor de los cromosomas neo X y neo Y.

Estas observaciones sugerirían que las modificaciones secundarias del neo Y no serían indispensables para que este tipo particular de fusión conduzca a una redistribución quiasmática.

En términos generales, la fusión polimórfica esta asociada con efectos sobre la condición de los quiasmas, el cual podría tener consecuencias evolutivas, en contraste con la fusión espontánea la cual raramente persiste en la población.

b_{1.1}) - Efecto sobre la formación de espermatidas:

Como se mencionó anteriormente las alteraciones estructurales o numéricas pueden afectar los procesos de espermiogénesis o espermatogénesis conduciendo a la formación de esperma anormal (Morán 1981, Peters 1981, 1982, Bidau y Confalonieri 1988).

En *Sinipta dalmani* los individuos portadores de la fusión producen un incremento en la frecuencia de macroespermátidas en comparación con los individuos de cariotipo estándar. A través de un estudio citoespectrofotométrico, que permite diferenciar el nivel de ploidia de las espermatidas anormales, se evidenció que la

mayoría de ellas presentan un contenido de ADN equivalente a 2c (88%) indicando que las mismas serían diploides. Las espermatidas tri, tetra y pentaploide se producen en una frecuencia baja (5%, 3.5% y 3.5% respectivamente).

De hecho, el alto porcentaje de espermatidas haploides sugeriría que el bloqueo en la citocinesis sería la explicación más plausible de esta anomalía. Sin embargo en el presente trabajo no se ha detectado en los portadores rezagamiento del bivalente heteromórfico. No obstante, podría existir un comportamiento meiótico anormal y no haber sido detectado debido a que ocurre en baja frecuencia justificando el mencionado mecanismo en cierta manera la baja producción de esperma anormal. El hecho de encontrar microespermátidas en *Sinipta dalmani* aunque en baja frecuencia, constituiría una evidencia indirecta de la existencia de algún tipo de rezagamiento en la división celular.

No obstante, se han detectado en baja frecuencia espermatidas con nivel de ploidía impar (tri y pentaploide). Tales resultados sugerirían que los procesos de fusión celular y posterior fusión nuclear también estarían relacionados con la disminución en la fertilidad detectada.

Los resultados hallados sugerirían que los individuos portadores de la fusión presentarían entre 2.8-6.7% de reducción de la fertilidad.

b.1.1.1)-Diferenciación cromosómica dentro y entre poblaciones:

En las poblaciones naturales de ortópteros, las fusiones céntricas en estado politípico son más frecuentes que en

estado polimórfico (Hewitt 1979, John 1983). Incluso, hasta el presente no se han detectado polimorfismos de fusiones que involucren al cromosoma sexual (John 1983).

Como se mencionó anteriormente, el mecanismo de determinación del sexo de la mayoría de los saltamontes es $XO \text{ O}/XX \text{ O}$. La fusión particular X-autosoma conduce a la incorporación de un segmento autosómico, con todos sus genes, al cromosoma sexual y la conversión de un autosoma en Y o neo Y que quedaría confinado en la línea masculina (Sáez y Díaz 1958).

En los ortópteros, aunque se han citado numerosos ejemplos de fusiones entre autosomas o involucrando al cromosoma X en estado politípico, sólo la variación intraespecífica neo XY presente en poblaciones de *Fodisma pedestris* se ha estudiado exhaustivamente. Esta especie, está ampliamente distribuida a través de Rusia, Siberia, Mongolia y oeste de Europa. Las poblaciones europeas son de dos clases, las $XO \text{ O}/XX \text{ O}$ y las neo XY $\text{O}/\text{neoXX O}$ restringidas a los Alpes Marítimos. Esta sería una situación politípica donde una angosta región híbrida limitaría una zona polimórfica (John y Hewitt 1970, Hewitt y John 1972, Halliday et al 1984).

En *Sinipta dalmani*, en tres de las cuatro poblaciones estudiadas en el Parque Nacional (P.N.) se detectó una fusión X-autosoma. En el resto de las poblaciones del país estudiadas hasta el presente el mencionado rearrreglo no fue detectado. De acuerdo con los resultados obtenidos y con el hecho que particularmente las poblaciones del P.N. son cromosómicamente variables, es de suponer que esta mutación existe sólo en este ambiente y constituye una verdadera situación polimórfica.

La frecuencia de la fusión céntrica es muy baja y semejante en las distintas poblaciones analizadas el mismo año de muestreo. Además, la frecuencia del rearreglo fue estudiado durante tres años consecutivos en la población de LL. La frecuencia en el primer año que se la detectó fue un cuarto del valor del segundo. En el tercer año de muestreo la frecuencia disminuyó a la mitad. El análisis estadístico indicó que la frecuencia de la fusión no varió significativamente entre años (quizás debido a que la frecuencia del rearreglo es muy baja). Sin embargo, estas fluctuaciones en "zig-zag" son sugestivas y resultaría interesante continuar con el análisis poblacional con el propósito de elucidar si ellas indicarían las oscilaciones típicas de un rearreglo ligado al sexo antes de alcanzar la fase de equilibrio.

En las distintas poblaciones y en las distintas muestras de LL la frecuencia del rearreglo fue baja. Bajo ciertas circunstancias, estas observaciones reflejarían las propiedades adaptativas de las formas XO y neo XY.

Como se mencionó anteriormente, el componente endofenotípico de la eficacia biológica puede verse afectado por la presencia de reordenamientos cromosómicos.

En el caso particular de *Sinipta dalmani*, la fusión produce una redistribución de quiasmas en el par M5 que limitaría el entrecruzamiento, protegiendo complejos génicos aislados. Este efecto directo sobre la recombinación genética podría tener un significado evolutivo ya que limitaría la variabilidad genética de la progenie de los portadores (Remis 1990). Esta influencia parecería tener un significado adaptativo en el ambiente del Parque Nacional.

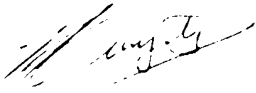
Además los individuos neo XY presentan un incremento significativo en la producción de espermátidas anormales. Las espermátidas poliploides no participan de la fertilización (Hewitt 1979, Morán 1981, John 1983). Las microespermátidas, a no ser que esten constituidas por cromosomas B, eliminarían autosomas rezagados con la concomitante producción de espermatozoides aneuploides. Así, las macro y microespermátidas traerían aparejada una disminución en la producción de espermatozoides viables y por ende la fertilidad del portador.

En *Sinipta dalmani*, los individuos neo XY producen macro y microespermátidas aunque en frecuencia no muy elevada. Hewitt et al (1987) sostiene que la fertilidad del macho en un simple apareamiento (en función de la cantidad de espermatozoides que produce) no se vería afectada por una disminución en la producción de espermatozoides. Sin embargo, si la hembra se apareara varias veces, la naturaleza y cantidad de espermatozoides en la competición, decidirá como puede verse afectada la fecundidad del macho.

En *Sinipta dalmani*, si la influencia sobre la producción de gametas viables afectara algún componente de la eficacia biológica, sin duda representaría un mecanismo que limitaría la frecuencia del rearreglo. Este mecanismo, junto con el efecto que produce la fusión sobre la recombinación, el cual puede tener significado adaptativo, podrían estar relacionados con el mantenimiento del mismo en una relativamente baja frecuencia.

No obstante, la fusión céntrica descrita constituye un interesante ejemplo para continuar los muestreos a través de los años, estudiando de ser posible la frecuencia del rearreglo en machos y hembras, con el objeto de analizar su

estabilidad así como las fuerzas involucradas en el mantenimiento del polimorfismo.

A handwritten signature in cursive script, appearing to read "H. J. ...".A handwritten signature in cursive script, appearing to read "M. A. ...".

RESUMEN

Se analizaron citogenéticamente poblaciones naturales de *Dichroplus elongatus*, *Amblytropidia australis* y *Sinipta dalmani* (Orthoptera:Acrididae) haciendo especial referencia al estudio de la influencia de los reordenamientos cromosómicos sobre la frecuencia y distribución de quiasmas, fertilidad y en el caso de la última especie mencionada sobre caracteres exomorfológicos.

Estas especies presentan un cariotipo básico de 23 cromosomas con centrómero terminal o subterminal y un sistema de determinación del sexo XO ♂/XX ♀.

En *Dichroplus elongatus* y *Amblytropidia australis* se detectó la existencia de polimorfismos para heterocromatina supernumeraria. Las poblaciones de Raco (Pcia de Tucumán) de *Dichroplus elongatus* y del Parque Nacional "El Palmar" (Pcia de Entre Ríos) de *Amblytropidia Australis* resultaron ser polimórficas para cromosomas B o supernumerarios mitótica y meióticamente inestables. La población del noroeste de la localidad de San Clemente del Tuyú (Pcia de Buenos Aires) de *Dichroplus elongatus* presentó un segmento supernumerario en el par S₁₀ en heterocigosis.

Los cromosomas B, en ambas especies, afectarían la frecuencia de quiasmas intersticiales en forma lineal conduciendo a un incremento en la mencionada variable conforme aumenta el número de supernumerarios por célula. Este aumento se produciría a expensas de los quiasmas terminales ya que no se altera la frecuencia de quiasmas totales.

Además estos cromosomas B estarían asociados con la producción de esperma anormal. En *Amblytropidia australis* se evidencia un incremento en la producción de macroespermátidas 2x y menos frecuentemente 4x, sugiriendo que su formación estaría relacionada con el bloqueo de la citocinesis en la primera o segunda división meiótica pero raramente en las dos simultáneamente. En este trabajo no se analizó la influencia de los B de *Dichroplus elongatus* de Raco sobre la fertilidad. Sin embargo, los supernumerarios detectados en Tafi Viejo, similares en morfología y comportamiento meiótico a los aquí estudiados estarían asociados con la producción de

esperma anormal a través de dos mecanismos diferentes simultáneos. Tales resultados harían suponer que los B de *D. elongatus* aquí estudiados también estarían involucrados en la producción anormal de esperma.

Así, en contraposición con la acumulación, los B de las especies estudiadas pueden tener comprometida la fertilidad del portador al menos si el esperma del portador debe competir con el de individuos normales.

El mantenimiento de los B en las poblaciones podría estar relacionado con la inestabilidad mitótica como mecanismo de acumulación y/o a sus efectos adaptativos entre los que puede contarse su influencia sobre la recombinación genética. En el caso particular de los B de Tucumán se discute la posibilidad que constituyan un polimorfismo estable. De ser así, los efectos de los B sobre la fertilidad deben estar contrabalanceados por algún mecanismo de acumulación y/o alguna ventaja selectiva.

El segmento supernumerario detectado presenta un notorio efecto intracromosómico sobre la distribución de los quiasmas sin afectar la frecuencia de quiasma totales o intersticiales al considerar todo el complemento cromosómico. Por otro lado se han detectado en la misma especie otros polimorfismos con efectos intra e intercromosómicos sugiriendo que su presencia en las poblaciones puede ser de importancia en la adaptación de las mismas, permitiendo la producción de nuevas combinaciones génicas.

En *Sinipta dalmani*, se han analizado 6 poblaciones, cuatro de las cuales pertenecen al Parque Nacional "El Palmar" (Pcia. Entre Ríos) y son polimórficas para dos inversiones pericéntricas en los pares M_4 y M_7 y una fusión céntrica que involucra al cromosoma sexual. Además en una de las poblaciones del Parque se detectó una fusión espontánea entre dos autosomas. Las dos poblaciones restantes (Gualeduaychú, Pcia de Entre Ríos y Puerto Talavera, Pcia de Buenos Aires) presentaron el cariotipo básico de la especie.

Las inversiones pericéntricas están asociadas con efectos intracromosómicos ya que evitan la formación de entrecruzamiento dentro de los límites del rearrreglo incrementando la frecuencia de quiasmas en posiciones distales al mismo. La inversión M_4 , además, afecta la distribución de

quiasmas intercromosómicamente en los pares medianos y/o pequeños conduciendo a una reducción significativa de la frecuencia de quiasmas intersticiales. De esta forma, ambas reestructuraciones afectarían el nivel de recombinación que sin duda afectaría la variabilidad genética liberada en la siguiente generación. La inversión M_4 , además, está asociada con un incremento en los valores fenotípicos de 5 caracteres exomorfológicos en heterocigosis, evidenciando un claro efecto de superdominancia.

Se postula que el mantenimiento de las inversiones, al menos la M_4 que mantuvo estabilidad a lo largo de cuatro años de muestreo, sería el establecimiento de desequilibrio de ligamiento y formación de supergenes con valor adaptativo.

La fusión polimórfica que involucra al quinto par del complemento y al cromosoma X produce una redistribución de quiasmas en el bivalente heteromórfico que limitaría el entrecruzamiento protegiendo complejos génicos aislados. Además, esta fusión estaría relacionada con la producción de esperma anormal. Si tal influencia afectará algún componente de la eficacia biológica, sin duda representaría un mecanismo que limitaría la frecuencia del rearreglo. Este mecanismo junto con el efecto que produce la fusión sobre la recombinación, el cual podría tener significado adaptativo, estaría relacionado con el mantenimiento del mismo en relativamente baja frecuencia.

En contraposición, la fusión espontánea está asociada con un comportamiento meiótico irregular presentando un alto porcentaje de trivalentes con orientación lineal. La misma no afecta la frecuencia y distribución de quiasmas. Estos resultados sugerían que tal mutación raramente pueda persistir en la población.

Así, las poblaciones de *S.dalmani* del Parque Nacional "El Palmar" pertenecerían a un ambiente particular que permitiría tolerar la reducción de la recombinación genética y en algunos casos de la variación fenotípica manteniendo los polimorfismos estructurales.

BIBLIOGRAFIA

- Arundhati, A.; Narasinga Rao, P.S.R.L.; Sybenga, J. 1986. Possible causes of variation in trivalent orientation frequencies in pearl millet and rye. *Genetica* 70: 81-87.
- Baenziger, H.; Kanowles, R.P. 1986. Agronomic significance of supernumerary chromosomes in crested wheat grass. *Crp.Sci.*, 2: 417-420.
- Bidau, C.J. 1984. Estudios citogenéticos en Orthoptera de Sudamérica. Tesis Doctoral. Fac.Cs.Exactas y Naturales Universidad de Buenos Aires.
- _____ 1986. Effects of cytokinesis and sperm formation of a B-isochromosome in *Metaleptea brevicornis adspersa* (Acridinae, Acrididae). *Caryologia* 39: 165-177.
- _____ 1987. Influence of a rare unstable B-chromosome on chiasma frequency and non-haploid sperm production in *Dichroplus pratensis* (Melanoplinae, Acrididae). *Genetica* 73: 201-210.
- _____ 1988. Micro and macrospermatid production induced by meiotically unstable B-chromosome in two species of grasshoppers (Acrididae). *Rev. Brasil.Genet.* 11: 547-561.
- _____ 1989. Zonas híbridas en ortópteros: El ejemplo de *Dichroplus pratensis* (Acrididae). *Actas I Congr.Soc.Arg. Entomol.* 109-126.
- _____ 1990. The complex Robertsonian system of *Dichroplus pratensis* (Melanoplinae, Acrididae) II Effects of the fusion polymorphisms on chiasma frequency and distribution. *Heredity* 64: 145-159.
- Bidau, C.J.; Confalonieri, V. 1988. A cytophotometric study of micro and macrospermatids in three species of grasshoppers (Acrididae). *Cytobios* 53, 31-41.
- Bidau, J.C.; Hasson, E.R. 1984. Population cytology of *Leptysma argentina* Bruner (Leptysminae, Acrididae). *Genetica* 62: 161-175.
- Bidau, J.C.; Mirol, P.M. 1988. Orientation and segregation of Robertsonian trivalents in *Dichroplus pratensis* (Acrididae). *Genome* 30: 947-955.
- Brussard, P.F. 1984. Geographic patterns and environmental gradients: The central-marginal model in *Drosophila* revisited. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 15: 25-64.

- Cabrero, J.; Camacho J.F.M. 1982. Pericentric inversion polymorphism in *Aiolopus strepens* (Orthoptera: Acrididae): Effects on chiasma formation. *Caryologia* 35: 411-424.
- Cabrero, J.; Camacho, J.P.M. 1986. Population cytogenetics of *Chorthippus vagans* I Polymorphisms for pericentric inversion and for heterochromatin deletion. *Can. J. Genet. Cytol.* 28: 540-544.
- Camacho, J.P.; Carballo, A.R.; Cabrero, J. 1980. The B-chromosome system of the grasshopper *Eyprepocnemis plorans subsp plorans* (Charpentier). *Chromosoma* 80: 163-176.
- Camacho, J.P.M.; Viseras, E.; Navas Castillo, J.; Cabrero J. 1984. C-heterochromatin content of supernumerary chromosome segments in grasshoppers: Detection of an euchromatic extra segment. *Heredity* 53: 167-175.
- Carson, H.L. 1958. Response to selection under different conditions of recombination in *Drosophila*. *Cold.Spring.Harbor.Symp.Quant.Biol.* 23: 291-305.
- Colombo, P.C. 1984. Polimorfismos cromosómicos en una población bonaerense de *Leptysma argentina* Bruner (Leptysminae:Acrididae). *Actas XV Congreso Argentino de Genética* (Rosario) Pág. 19.
- _____ 1987. Effects of centric fusions on chiasma frequency and position in *Leptysma argentina* (Acrididae:Orthoptera) I Spontaneous and stable polymorphic centric fusions. *Genetica* 72: 171-179.
- _____ 1989a. Effects of centric fusions on chiasma frequency and position in *Leptysma argentina* (Acrididae:Orthoptera) II Intra and interchromosome effect. *Caryologia* 42: 65-79.
- _____ 1989b. Chromosome polymorphism affecting recombination and exophenotypic traits in *Leptysma argentina* (Orthoptera). *Heredity* 62: 289-299.
- _____ 1990. Effects of centric fusions on chiasma frequency and position in *Leptysma argentina* (Acrididae:Orthoptera). II Intra and interchromosome effects. *Caryologia* 43: 131-147.

- Confalonieri, V.A. 1988. Effects of centric-shift polymorphisms on chiasma conditions in *Trimerotropis pallidipennis* (Oedipodinae:Acrididae). *Genetica* 76:171-179.
- _____ 1990. Estudios citogenéticos e isoenzimáticos sobre polimorfismos cromosómicos en Acrididos sudamericanos (Orthoptera). Tesis Doctoral, F.C.E. y N. Universidad de Buenos Aires.
- Confalonieri, V.A.; Bidau, C.J. 1986. The B-chromosomes of two species of *Cylindrotettix* (Leptysminae:Acrididae). *Genetica* 68: 87-95.
- Confalonieri, V.A.; Colombo, P.C. 1989. Inversion polymorphisms in *Trimerotropis pallidipennis* (Orthoptera): Clinal variation along altitudinal gradient. *Heredity* 62: 107-112.
- Chang, C.C.; Kikudome, G.Y., 1974. The interaction of knobs and B-chromosomes of maize in determining the level of recombination. *Genetics*, 77: 45-54.
- Charlesworth, B; Charlesworth, D. 1973. Selection of new inversions in multi-locus genetic systems. *Genet. Res.Camb.* 21: 167-183.
- Decosse, J.J.; Aiello, N. 1966. Feulgen hydrolysis effects of acid and temperature. *The Journ. of Histochem. and Citochem.* 14: 601-604.
- De la Torre, J.; López-Fernández, C.; Nichols, R.; Gosálvez, J. 1986. Heterochromatin readjusting chiasma distribution in two species of genus *Arcyptera* : The effect among individuals and populations. *Heredity* 56: 177-184.
- Dobzhansky, Th. 1970. *Genetics of the Evolutionary Process.* Columbia University Press. New York and London.
- Falconer, D.S. 1984. *Introducción a la Genética Cuantitativa.* C.E.C.S.A., México.
- Fletcher, H.L.; Hewitt, G.M. 1980. Effects of B chromosome on chiasma localization and frequency in male *Euthystira brachyptera*. *Heredity* 44: 341-347.
- Fontana, P.G.; Vickery, V.R. 1974. Heterochromatin content and chiasma distribution in the megameric chromosomes of *Stethophyma gracilis* and *S. lineatum* (Orthoptera: Acrididae). *Chromosoma* 46: 375-395.

- García de la Vega, C.; Gosálvez, J.; López-Fernández, C.; Rufas, J.S. 1986. Effects of different supernumerary segments on chiasma distribution of the polymorphic species *Chorthippus jucundus* (Orthoptera:Acrididae). *Genetica* 69: 183-190.
- Goñi, B.; de Vaio, E.S.; Beltrami, M.; Leira, M.S.; Crivel, M.; Panzera, F.; Castellanos, P.; Basso, A. 1985. Geographic patterns of chromosomal variation in populations of the grasshopper (*Trimerotropis pallidipennis*) from southern Argentina. *Can. J. Genet. Cytol.* 27: 59-271.
- Gosálvez, J. López Fernández, C.; García-Lafuente, R. 1982. A spontaneous translocation heterozygotes involving centromere regions in *Gomphocerus sibiricus* (L) (Orthoptera:Acrididae). *Chromosoma* 86: 49-57.
- Halliday, R.B.; Webb, S.F.; Hewitt, G.M. 1984. Genetic and chromosomal polymorphism in hybridizing populations of the grasshopper *Podisma pedestris*. *Biol.Journ.Linnean Soc.* 21: 299-305.
- Hartl, D.L. 1980. Principles of Population Genetics. Sinauer Associated, Inc. (Eds.). Sunderland. Massachusetts USA.
- Henrique-Gil, N.; Arana, P.; Santos, J.L. 1983. Spontaneous translocations between B chromosomes and the normal complement in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Chromosoma* 88: 145-148.
- Henriques-Gil, N.; Santos, J.L.; Arana, P. 1984. Evolution of a complex B-chromosome polymorphism in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Chromosoma* 89: 290-293.
- Hewitt, G.M. 1973a. Variable transmission rates of B-chromosome in *Myrmeleotettix maculatus* (Thunb) (Acrididae:Orthoptera). *Chromosoma* 40: 83-106.
- _____ 1973b. The integration of supernumerary chromosomes into the Orthopteran genome. *Cold.Spr. Harb.Symp.Quant.Biol.* 38: 183-194.
- _____ 1976. Meiotic drive for B-chromosomes in the primary oocytes of *Myrmeleotettix maculatus* (Orthoptera:Acrididae). *Chromosoma* 56: 381-391.
- _____ 1979. Orthoptera. *Animal Cytogenetics*, Vol.3:Insecta 1. Gerbruder, Borntraeger. Berlin, Stuttgart.

- Hewitt, G.M.; Brown, F.M. 1970. The B-chromosome system of *Myrmeleotettix maculatus*. V. A steep cline in East Anglia. *Heredity* 25: 363-371.
- Hewitt, G.M.; East, T.M.; Shaw, M.W. 1987. Sperm dysfunction produced by B-chromosomes in the grasshopper *Myrmeleotettix maculatus*. *Heredity* 58: 59-68.
- Hewitt, G.M.; John, B. 1967. The B-chromosome system of *Myrmeleotettix maculatus* (Thunb) (Acrididae : Orthoptera). III The statistics. *Chromosoma* 21: 140-162.
- _____ 1968. Parallel polymorphism for supernumerary segments in *Chorthippus parallelus* (Zetterstedt). *Chromosoma* 25: 319-342.
- _____ 1972. Interpopulation sex chromosome polymorphism in the grasshopper *Podisma pedestris* : II Population parameters. *Chromosoma* 37:23-42.
- Hewitt, G.M.; Schroeter, G.L. 1968. Population cytology of the genus *Oedaleonotus* . I The karyotypic facies of *Oedaleonotus enigma* (Scudder). *Chromosoma* 25: 121-140.
- Jackson, R.C. 1973. Chromosomal evolution in *Haplopappus gracilis*: A centric transposition race. *Evolution* 27: 243-256.
- John, B. 1973. The cytogenetic system of grasshoppers and locusts. II The origin and evolution of supernumerary segments. *Chromosoma* 44: 123-146.
- _____ 1976. Myths and mechanisms of meiosis. *Chromosoma* 54: 295-325.
- _____ 1981a. Heterochromatin variation in natural populations. *Chromosomes Today* 7: 128-137.
- _____ 1981b. Chromosome change an evolutionary change: A critique. In Atcheley, W.R. and Wooddruff, D.S. (eds.). *Evolution and Speciation*, Cambridge University Press, Cambridge, pp. 23-51.
- _____ 1983. The role of chromosome change in the evolution of orthopteroid insects. In: *Chromosomes in Evolution of Eukaryotic Groups*. Vol.1. Edited by A.K.Sharma and A.M. Sharma. C.R.C. Press, Florida pp 1-114.
- John, B.; Freeman, M. 1975. Causes and consequences of Robertsonian exchange. *Chromosoma* 52: 123-136.

- _____ 1976. The cytogenetic systems of grasshoppers and locusts: III : The genus *Tolgadia* (Oxyinae: Acrididae). *Chromosoma* 55: 105-119.
- John, B.; Hewitt G.M. 1965a. The B-chromosome system of *Myrmeleotettix maculatus* (Thunb). I The mechanics. *Chromosoma* 16: 548-578.
- _____ 1965b. The B-chromosome system of *Myrmeleotettix maculatus* (Thunb). II The statics. *Chromosoma* 17: 121-138.
- _____ 1970. Interpopulation sex chromosome polymorphism in the grasshopper *Podisma pedestris* : I Fundamental facts. *Chromosoma* 31: 291-308.
- John, B.; King, M. 1977. Heterochromatin variation in *Cryptobothrus chrysophorus* : II Patterns of C-banding. *Chromosoma*. 65: 59-79.
- _____ 1980. Heterochromatin variation in *Cryptobothrus chrysophorus* : III Synthetic hybrids. *Chromosoma* 78: 165-186
- _____ 1982. Meiotic effects of supernumerary heterochromatin in *Heteropternis obscurella*. *Chromosoma* 85: 39-69.
- John, B.; Lewis, K.R. 1965. The Meiotic System. *Protoplasmatologia*, VI/F/1, Springer, Wien-New York.
- John, B.; Miklos, G.L.G. 1979. Functional aspects of heterochromatin and satellite DNA. *Int. Rev. Cytol.* 40: 1-100.
- Jones, R.N.; Rees, H. 1982. B-chromosomes. Academic Press Inc. London.
- Lafuente, N. 1977. Citogenética del género *Dichroplus*. *An. Mus. Hist. Nat. Valparaiso*, Chile 10: 211-214.
- Lafuente, N.; Guerra, R. 1977. Citotaxonomía de cuatro especies de *Dichroplus*. *An. Mus. Hist. nat. Valparaiso* 10: 205-210.
- Levan, A.; Fredga, K.; Sandberg, A.A. 1964. Nomenclature for centromeric position of chromosomes. *Hereditas* 52: 201-220.
- Lewontin, R.C., White, M.J.D. 1960. Interaction between inversion polymorphisms of two chromosome pairs in the grasshopper *Naraba scurra*. *Evolution* 14: 116-129.

- López-Fernández, C.; Gosálvez, L. 1972. Detection of abnormal spermatid nuclei by silver staining. *Cytobios* 34: 71-71.
- López-Fernández, C.; Rufas, J.S.; Gosálvez, L. 1982. Non-random segregation during anaphase II in an individual of *Arcyptera tornosi* (Bol.) (Orthoptera) heterozygous for three supernumerary heterochromatic segments. *Genetica* 60: 37-39.
- López-Fernández, C.; Rufas, J.S.; García de la Vega, C.; Gosálvez, J. 1984. Cytogenetic studies on *Chortippus jucundus* (Fisch) (Orthoptera) III The meiotic consequences of a spontaneous centric fusion. *Genetica* 63: 3-7.
- Loray, M.A.; Remis, M.I.; Vilardi, J.C. 1990. Parallel polymorphism for supernumerary heterochromatin in *Dichroplus elongatus* (Orthoptera): Effects on recombination and fertility. Enviado a *Genetica* para su publicación.
- Mesa, A. 1956. Los cromosomas de algunos acridoideos uruguayos. *Agros, Montev.* 141: 32-45.
- Mesa, A.; Ferreira, A.; Carbonell, C. 1982. Cariología de los acridoideos neotropicales: Estado actual de su conocimiento y nuevas contribuciones. *Annales Soc. Ent. Fr.* 18: 507-526.
- Mesa, A.; Mesa, R.S. de. 1967. Complex sex-determining mechanisms in three species of south-american grasshoppers (Orthoptera, Acridoidea). *Chromosoma* 21: 163-180.
- Miklos, G.L.G.; John, B. 1979. Heterochromatin and satellite DNA in man: Properties and prospects. *An.J.Hum.Genet.* 31: 264-280.
- Miklos, G.L.G.; Nankivell, R.N. 1976. Telomeric satellite DNA functions in regulating recombination. *Chromosoma* 56: 143-167.
- Morán, C. 1981. Spermatogenesis in natural and experimental hybrids between chromosomally differentiated taxa of *Caledia captiva*. *Chromosoma* 81: 579-591.
- Muntzing, A. 1974. Accessory chromosomes. *Ann.Rev.Genetics.* 8:243-266.

- Nankivell, R.N. 1974. Interactions between inversion polymorphisms and the colour pattern polymorphism in the grasshopper *Austroicetes interioris*. *Acrida* 3: 93-111.
- Navas-Castillo, J.; Cabrero, J.; Camacho, J.P.M. 1985. Chiasma redistribution in bivalents carrying supernumerary chromosome segments in grasshoppers. *Heredity* 55: 245-248.
- Nei, M. 1977. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Ann. Hum. Genet.* 41:225-233.
- Nei, M.; Kojima, K.; Schaffer, H.E. 1967. Frequency changes of new inversions in populations under mutation-selection equilibria. *Genetics* 57: 741-750.
- Nei, M.; Chesser, R.K. 1983. Estimation of fixation indices and gene diversities. *Ann. Hum. Genet.* 47: 253-259.
- Nur, U. 1963. A mitotically unstable supernumerary chromosome with an accumulation mechanism in a grasshopper. *Chromosoma* 14: 407-422.
- _____ 1969. Mitotic instability leading to an accumulation of B chromosomes in grasshoppers. *Chromosoma* 27: 1-19.
- _____ 1977. Maintenance of a "parasitic" B-chromosome in the grasshopper *Melanoplus femur rubrum*. *Genetics* 87: 499-512.
- Peters, G.B. 1981. Germ line polysomy in the grasshopper *Atractomorpha similis*. *Chromosoma* 81: 593-617.
- _____ 1982. The recurrence of chromosome fusion in Inter-population hybrids of the grasshopper *Atractomorpha similis*. *Chromosoma* 85: 323-347.
- Fuertas, M.J. 1975. B-chromosomes. Ser. Monogr. Depto Genética. Fac. Biol. Universidad Complutense de Madrid. Vol.2.
- Remis, M.I. 1989a. Effects of supernumerary heterochromatin on chiasma condition in two species of Acrididae (Orthoptera). *Genetica* 79: 53-61.
- _____ 1989b. Cytogenetic studies in *Sinipta dalmani* Stal (Orthoptera:Acrididae). I Effects of a pericentric inversion on chiasma conditions. *Caryologia* 42: 285-294.
- _____ 1990. Cytogenetic studies in *Sinipta dalmani* Stal (Orthoptera:Acrididae). II Effects of centric fusions on chiasma frequency and distribution. *Genet. Sel. Evol.* 22: 263-272.

- Remis, M.I.; Vilardi, J.C. 1987. meiotic behaviour and dosage effect of B-chromosomes on recombination in *Dichroplus elongatus*. (Orthoptera:Acrididae). *Caryologia* 39: 287-301.
- Riva, E.; Fox, D.P.; Giraldez, R.; Santos, J.L. 1984. Chiasma frequency and distribution in the presence and absence of supernumerary chromosome segments in the grasshopper *Euchorthippus pulvinatus gallicus*. *Heredity* 53: 101-106.
- Rothfelds, K.; Procunier, B. 1975. B- chromosomes of *Neopodismopsis abdominalis* (Acrididae). *Chromosoma* 52: 137-148.
- Rufas, J.S.; Suja J.A.; García de la Vega, C. 1986. Generation by a polymorphic supernumerary segment of recombination in a normally achiasmate proximal region in *Acritylus insubricus* (Scopoli) (Orthoptera: Acrididae). *Can. J. Genet. Cytol.* 28: 433-438.
- Sáez, F.A. 1930-1932. Organización y número de cromosomas en los ortópteros de América del Sud. Congr. Intern. Biol. Montevideo, Secc. Citología, Histología, Embriología y Anatomía, 1-8 (1930). *Arch. Soc. Biol. Montevideo*, Supl. 7: 1912-1929 (1932).
- _____ 1956a. Cytogenetics of South-American Orthoptera. *Nature* 177: 490.
- _____ 1956b. Estudios citogenéticos en ortópteros sudamericanos, el cariotipo de treinta y dos especies. *Biológica* (Santiago de Chile) 22: 27-30.
- _____ 1960. El empleo de la hematoxilina acética o propiónica para el estudio de los cromosomas con la técnica del aplastamiento. *Com. Soc. Biol. Montevideo*.
- _____ 1963. Gradient of the heterochromatinisation in the evolution of the sexual system "neo X-neo Y". *Port. Acta. Biol. Ser. A.* 7: 111-138.
- Sáez, F.A.; Díaz, A. 1958. Sistema sexual neo X neo Y en *Xyleus laevipes* (Orthoptera: Romaleinae). *Apartado Arch. de la Soc. de Biol. de Montevideo.* 23: 13-27.
- Sentis, C.; Fernández-Piqueras, J. 1985. The B chromosomes of *Pycnogaster cucullata* (Charp.) and their effects on the A complement. *Heredity* 55: 375-380.
- Scheffé, H. 1959. *The analysis of variance*. Wiley, New York.

- Schroeter, G.L. 1968. Pericentric inversion polymorphism in *Trimerotropis helperi*. Ph. D. Thesis. University of California, Davis (en John 1983).
- Schroeter, G.L.; Hewitt, G.M. 1974. The effects of supernumerary chromatin in three species of grasshoppers. *Can.J.Genet.Cytol.* 16: 285-296.
- Schultz, J.; Redfield, H. 1951. Interchromosomal effects on crossing over in *Drosophila*. *Cold.Spring.Harbour Symp.Quant.Biol.* 16: 175-197.
- Shaw, D.D. 1970. The supernumerary system of *Stethophyma* : I Structural basis. *Chromosoma* 30 : 326-343.
- _____ 1971a. The supernumerary system of *Stethophyma*. II Heterochromatin polymorphism and chiasma variation. *Chromosoma* 34: 19-39.
- _____ 1971b. Genetic and Environmental components of chiasma control. I Spatial and temporal variation in *Schistocerca* and *Stethophyma*. *Chromosoma* 34: 281-301.
- _____ 1972. Genetic and environmental components of chiasma control. II. The response to selection in *Schistocerca*. *Chromosoma* 37: 297-308.
- Southern, D.I. 1967. Fragment chromosomes in *Myrmeleotettix maculatus* (Thunb). *Chromosoma* 22: 227-240.
- Sperlich, D. 1966. Equilibria for inversions induced by X-rays in isogenic strains of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* 53: 835-842.
- Stephens, R.T.; Bregmen, A.A. 1972. The B-chromosome system of the grasshopper *Melanoplus femur rubrum*. *Chromosoma* 38: 297-311.
- Suja, J.A.; Gosálvez, J.; López Fernández C.; Rufas, J.S. 1986a. A cytogenetic analysis in *Psophrus stridulus* (Orthoptera:Acrididae) : B-chromosomes and abnormal spermatid nuclei. *Genetica* 70: 217-224.
- Suja, J.A.; García de la Vega, C.; Rufas, J.S. 1986b. Meiotic stability of B-chromosomes and production of macrospermatids in *Aiolopus strepens* (Orthoptera: Acrididae) (en Bidau 1987).
- Sybenga, J. 1975. Meiotic Configurations. *Monogr.Theor .ApplGenet.* Berlin, Heidelberg. New York, Springer.

- Teoh, S.B.; Yong, H.S. 1983. A spontaneous centric fusion heterozygote in the tropical grasshopper *Valanga nigrocornis*. *Caryologia* 36: 165-173.
- Vaio, E.S. de; Goñi, B.; Rey, C. 1979. Chromosome polymorphism in populations of the grasshopper *Trimerotropis pallidipennis* from southern Argentina. *Chromosoma* 71: 371-386.
- Vilardi, J.C. 1983. Estudios citogenéticos en insectos sudamericanos. Tesis Doctoral. Fac. Cs. Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
- _____ 1984. Chromosome polymorphism and chiasma frequency in two populations of *Staurorhectus longicornis* (Orthoptera:Acrididae). *Cytologia* 49: 513-528.
- _____ 1985. Meiotic behaviour in a population of *Dichroplus elongatus* (Orthoptera:Acrididae). *Caryologia* 38: 147-16.
- _____ 1986a. Parallel polymorphisms for interstitial C-Bands and B chromosomes in *Zoniopoda tarsata* (Orthoptera:Romaleidae). *Caryologia* 39: 365-380.
- _____ 1986b. Parallel polymorphisms for interstitial C-Bands and B-chromosomes in *Zoniopoda tarsata*. (Orthoptera:Acrididae). *Caryologia* 39: 356-380.
- _____ 1988. Studies on chiasma distribution and chiasma movement in *Zoniopoda tarsata* (Orthoptera:Romaleidae). *Genetica* 76: 73-80.
- _____ 1989. Un programa Basic para calcular índices de fijación (F). *Mendeliana* 9: 67-68.
- Viseras, E.; Camacho, J.P.M. 1985. The B chromosome system of *Omocestus bolivari*: Changes in B behaviour in M4 polysomic B-males. *Heredity* 54:385-390.
- Vistorin, G.; Gamperi, R.; Rosenkranz, W. 1977. Studies on sex chromosomes of four hamster species *Cricetus griceus*, *Cricetulus griseus*, *Mesocricetus auratus* and *Phodopus scingorus*. *Cytogenet, Cell. Genet.* 18: 24-32.
- Vosa, C.G.; Barlow, P.W. 1972. Meiotic and B-chromosomes in *Listera ovata* (Orchidaceae). *Caryologia* 25: 1-8.
- Wasserman, M. 1968. Recombination induced chromosomal heterosis. *Genetics* 58: 125-139.

- Weissman, D.B. 1976. Geographical variability in the pericentric inversion systems of the grasshopper *Trimerotropis pseudofasciata*. *Chromosoma* 55: 325-347.
- Westerman, M. 1969. Parallel polymorphism for supernumerary segments in *Chortippus parallelus* (Zetterstedt): French populations. *Chromosoma* 26: 7-21.
- _____ 1983. Chiasma frequency and variability of morphological characters in populations of two grasshopper species. *Heredity* 51: 501-506.
- Westerman, M.; Fontana, P.G. 1973. Polymorphisms for extra heterochromatin in *Phaulacridium marginale*. *Heredity* 31: 223-229.
- White, M.J.D. 1949. A cytological survey of wild populations of *Trimerotropis* and *Cyrcotettix* (Orthoptera: Acrididae). I The chromosomes of twelve species. *Genetics* 34: 537-563.
- _____ 1951a. Structural heterocigosity in natural populations of the grasshopper *Trimerotropis sparsa*. *Evolution* 5: 376-394.
- _____ 1951b. A cytological survey of wild populations of *Trimerotropis* and *Circotettix* (Orthoptera:Acrididae).II. Racial Differentiation in *T.sparsa*. *Genetics*, 36:31-53.
- _____ 1954. *Animal Cytology and Evolution*. 2nd ed. Cambridge. University Press.
- _____ 1973. *Animal Cytology and Evolution*. 3rd Edition. University Press, Cambridge.
- White, M.J.D.; Andrew, L.E. 1960. Cytogenetics of the grasshopper *Moraba scurra*. V Biometric effects of chromosomal inversions. *Evolution* 14:284-292.
- White, M.J.D.; Morley, F.H.W. 1955. Effects of pericentric rearrangements on recombination in grasshopper chromosomes. *Genetics* 40: 604-619.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Ann. Eugen.* 15: 323-354.
- _____ 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395-420.
- Yunis J. ; Yasmineh, W. G., 1971. Heterochromatin, satellite DNA, and cell function. *Science* 174: 1200-1209.