

Tesis de Posgrado

Estudios cromosómicos poblacionales en la subfamilia Leptysmiinae (Acrididae = orthóptera)

Colombo, Pablo César

1989

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:

Colombo, Pablo César. (1989). Estudios cromosómicos poblacionales en la subfamilia Leptysmiinae (Acrididae = orthóptera). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2487_Colombo.pdf

Cita tipo Chicago:

Colombo, Pablo César. "Estudios cromosómicos poblacionales en la subfamilia Leptysmiinae (Acrididae = orthóptera)". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1989. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2487_Colombo.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y
NATURALES

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR AL TITULO DE

DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

TEMA:

**"ESTUDIOS CROMOSÓMICOS
POBLACIONALES EN LA SUBFAMILIA
LEPTYSMINAE (ACRIDIDAE:
ORTHOPTERA)"**

POSTULANTE: Lic. Pablo César Colombo.

DIRECTOR: Dr. Juan H. Hunziker.

LUGAR DE TRABAJO: Laboratorio de Genética
(Grupo de Citogenética de Insectos)
Departamento de Ciencias Biológicas
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Universidad de Buenos Aires

AÑO 1989

*Tesis.
2487
p. 2.*

A la memoria de mi padre

A mi madre

A Claudia

TABLA DE CONTENIDOS:

I. AGRADECIMIENTOS

II. RESUMEN

III. INTRODUCCION

1. Modos en que se presenta la variación cromosómica.
2. Polimorfismos cromosómicos más frecuentes en los ortópteros.
3. Ventajas del modelo elegido, o porqué los leptysminos.

IV. MATERIALES Y METODOS:

1. Procedencia del material biológico.
2. Observación citológica.
3. Estudio morfométrico.
4. Estudio de la distribución de quiasmas.

V. RESULTADOS Y DISCUSION:

1. Cariotipo de Leptysma argentina.
2. Polimorfismos cromosómicos.
 - 2.1. Segmentos supernumerarios.
 - 2.1.1. Morfología.
 - 2.1.2. Comportamiento meiótico.
 - 2.2. El cromosoma supernumerario.
 - 2.3. La fusión céntrica 3/6.
3. Frecuencias de los polimorfismos y su distribución geográfica.
 - 3.1. Correlación con la latitud y la longitud: evidencia de un patrón geográfico.
 - 3.2. Evidencia gráfica: agrupamiento en un sistema biaxial.
 - 3.3. Estabilidad temporal de los polimorfismos.
 - 3.3.1. La población de Puerto Talavera.
 - 3.3.2. La población de "El Palmar".
 - 3.3.3. Consideraciones generales.
 - 3.3.4. Efectos fenotípicos de los reordenamientos cromosómicos: controversia.
4. Efectos exofenotípicos de los polimorfismos cromosómicos de Leptysma argentina.
 - 4.1. Comparaciones entre cariotipos y dentro de poblaciones.

- 4.2. Comparaciones *entre poblaciones*: correlación de las variables morfométricas con la frecuencia de la fusión 3/6.
5. Efectos endofenotípicos de los polimorfismos cromosómicos de *Leptysa argentina*.
 - 5.1. Efectos de la heterocromatina supernumeraria sobre la frecuencia y posición de los quiasmas.
 - 5.1.1. Efectos del cromosoma supernumerario (B).
 - 5.1.2. Efectos de los segmentos supernumerarios.
 - 5.2. La fusión céntrica 3/6.
 - 5.2.1. Métodos empleados.
 - 5.2.2. Efectos intracromosómicos de la fusión 3/6.
 - 5.2.2.1. Efectos sobre la frecuencia de quiasmas.
 - 5.2.2.2. Efectos de la fusión 3/6 sobre la posición de los quiasmas.
 - 5.2.3. Efectos intercromosómicos.
 - 5.2.4. Relaciones entre frecuencia y posición de los quiasmas.
 - 5.3. Análisis de un mutante espontáneo para una fusión céntrica.
6. Control de la recombinación en un organismo con cromosomas supernumerarios: el caso de *Cylindrotettix obscurus*.
 - 6.1. Materiales y métodos utilizados.
 - 6.2. Los cromosomas supernumerarios de *Cylindrotettix obscurus*.
 - 6.3. Efectos de los Iso Bs sobre la frecuencia y posición de los quiasmas.
 - 6.4. Efectos de los Bas sobre frecuencia y posición de los quiasmas.
 - 6.5. Efectos de interacción.
 - 6.6. Relaciones entre frecuencia y posición de los quiasmas.
7. Estudio de la distribución de quiasmas en diplotene en los tres cariotipos de la fusión 3/6 en *Leptysa argentina*.
 - 7.1. Modelo de formación secuencial de quiasmas (Mather 1938).
 - 7.2. Resultados del estudio de distribución de quiasmas.

7.2.1. Distancia de interferencia.

7.2.1.2. Relación de la distancia de interferencia (i) con la longitud cromosómica.

7.2.2. Distancia diferencial.

7.3. Evidencia a partir de los histogramas de distribución de quiasmas.

7.4. Interferencia a través del centrómero.

7.5. Elaboración y cálculo de nuevos índices de recombinación a partir de los datos de distribución de quiasmas.

8. Un nuevo cariotipo en la subfamilia Leptysminae.

VI. DISCUSION GENERAL Y CONCLUSIONES:

1. Advertencia.

2. Quiasmas y recombinación.

3. Variaciones en las condiciones de los quiasmas.

4. Efectos de los cambios cromosómicos sobre la frecuencia y la posición de los quiasmas.

5. La heterocromatina supernumeraria.

6. Las fusiones céntricas.

7. Efectos de la fusión 3/6: su posible significado adaptativo.

8. Distribución de quiasmas.

9. Origen de la fusión 3/6: hipótesis.

VII. APENDICE

VIII. SUMMARY

IX. BIBLIOGRAFIA

X. TABLAS

XI. FIGURAS

AGRADECIMIENTOS:

Deseo hacer expreso aquí mi agradecimiento al Dr. Juan H. Hunziker, de quien he recibido un apoyo constante que no sólo se tradujo en lectura crítica y pormenorizada de mis manuscritos (sólo quienes lo hayan intentado tienen idea de lo que eso significa), en *ditirámicos* informes y en palabras de aliento, sino también en gestos más concretos como meter la mano en el *propio* bolsillo cuando fue necesario. Por cierto que también he recibido consejos: con el mismo fastidio soberbio con que se reciben los consejos paternos, y también con el mismo asombrado agradecimiento final. También, a esta altura, creo haber recibido lecciones prácticas que algo tienen que ver con la probidad científica, con la rectitud sin vueltas y con la personalidad sin dobleces.

También quiero agradecer a los Dres. Claudio J. Bidau y Juan C. Vilardi, quienes me han precedido en la investigación de mi tema específico y de quienes he recibido colaboración desinteresada, bibliografía y discusiones que han sido siempre enriquecedoras y que me han abierto los ojos en más de un tema fundamental.

Cómo agradecer, cómo expresar en pocas líneas la inmensa deuda de gratitud y cariño que me une con M^a. Isabel Remis y Viviana Confalonieri. Con ellas compartimos desconciertos, entusiasmos, escepticismos, indignaciones y esperanzas; quisiera ahora compartir este logro, modesto pero para mí importante, con ellas.

También quiero agradecer:

-Al Dr. Ricardo Ronderos, especialista en sistemática de acrididos del Museo de La Plata, quien en forma desinteresada determinó taxonómicamente todas las especies sobre las que se basó este estudio, y otras más.

-A la Dra. Maggese y al Dr. Reig, por haberme facilitado en varias oportunidades sus computadoras.

-A Alba Papeschi y Tomás Herr, por su hospitalidad.

-A los Dres. Lidia Poggio y Carlos A. Naranjo, por sus consejos, por su amistad y porque sí.

-Y a todos mis compañeros de laboratorio, por haberme honrado con su amistad.

RESUMEN:**ESTUDIOS CROMOSOMICOS POBLACIONALES EN LA SUBFAMILIA LEPTYSMINAE (ACRIDIDAE: ORTHOPTERA):**

En el presente trabajo se han analizado nueve poblaciones del ortóptero *Leptysma argentina* (Acrididae: Leptysminae), que presenta 4 variaciones cromosómicas en estado polimórfico: a) Un cromosoma B (supernumerario); b) Un segmento supernumerario intersticial (s_1) y otro proximal (s_2) con respecto al centrómero en el par más pequeño del complemento (par 10), y c) Una fusión céntrica entre los pares 3 y 6 del complemento básico.

Analizado el comportamiento meiótico de cada una de las 4 variaciones, se determinó que los segmentos supernumerarios -pese a presentarse en todas sus nueve combinaciones y a alterar en forma notoria la morfología del par 10- presentan un comportamiento meiótico regular; que el cromosoma B en nada se aparta del comportamiento irregular que es típico de estos elementos, y que la fusión céntrica 3/6 determina la formación de 3 cariotipos: homocigotas básicos, en los que se observan dos bivalentes telocéntricos, homocigotas de fusión, con un bivalente metacéntrico, y heterocigotas, en los que se forma un trivalente. El comportamiento del trivalente fue bastante regular (95 % de orientación alterna) de donde se infiere su naturaleza estable y su condición de polimorfismo antiguo en esta especie.

Seguidamente se analizó la distribución geográfica de los polimorfismos, las fluctuaciones de sus frecuencias a lo largo del tiempo y las correlaciones de éstas con variables geográficas, climáticas y entre sí. Estos estudios permitieron determinar que I) Existe un patrón geográfico para todos los polimorfismos, excepto para s_2 , II) Las frecuencias de la fusión céntrica 3/6 y del segmento s_1 se correlacionan negativamente con la temperatura y con los registros medios de precipitaciones por año, respectivamente; III) La frecuen-

cia del cromosoma supernumerario se correlaciona negativamente con la del cromosoma fusionado 3/6.

El estudio de las fluctuaciones en las frecuencias de los polimorfismos a lo largo del tiempo se dividió en dos aspectos: I) Modificaciones de las frecuencias cromosómicas a lo largo de varias generaciones (llevado a cabo en la población de "El Palmar" (Entre Ríos), y II) Modificaciones de las frecuencias cariotípicas a lo largo de una generación. I) Reveló que las frecuencias de la fusión 3/6 permanecen sin cambios direccionales aparentes (si bien el período considerado de 4 generaciones es corto), y que la frecuencia del segmento supernumerario s_1 tiende a aumentar en los últimos dos años. Estos dos años resultaron los más secos de que se tenga registro, lo que confirma la tendencia consignada anteriormente (i.e., correlación negativa del segmento s_1 con media de precipitaciones). El estudio de II) evidenció, conforme avanzaba la temporada, una tendencia al aumento de la frecuencia de los homocigotas de fusión 3/6 en desmedro de los otros dos cariotipos de la fusión, así como una disminución de la frecuencia de los heterocigotas para s_1 . Estos cambios, registrados en dos poblaciones en forma independiente, no han podido ser explicados aún.

Pese a que las correlaciones pueden ser informativas acerca de cuáles polimorfismos pueden estar involucrados en una relación de tipo selectivo (Endler 1986), no son taxativas sobre si realmente lo están, y mucho menos establecen las causas de esa presunta relación selectiva; por ello se analizaron los efectos de los polimorfismos sobre distintos aspectos del fenotipo. Como es tradicional en estos organismos, se le ha conferido gran importancia al estudio de los efectos sobre la frecuencia y posición de los quiasmas. Sin embargo, más allá del dogmatismo imperante en algunas escuelas citogenéticas, que sólo consideran a los polimorfismos cromosómicos como mecanismos cromosómicos que preservan de la recombinación a determinadas regiones del genoma, se procuró además establecer la existencia -o no- de efectos de los reordenamientos sobre el exofenotipo.

Los estudios sobre rasgos externos del fenotipo demostraron que la fusión 3/6 produce un aumento en el tamaño de los animales portadores, al menos en las variables fenotípicas mensuradas (i.e., largo total, largo de tegmina, largo de fémur y de tibia, largo de tórax y altura del tórax), luego de haber comparado animales de distinto cariotipo pero de la misma población; se ha determinado asimismo que este aumento de tamaño es aproximadamente acumulativo (esto es, que los homocigotas de fusión son algo más grandes que los heterocigotas). Esto determina que las poblaciones con distinta frecuencia para la fusión 3/6 varíen en su tamaño medio: en efecto, existe una marcada y significativa correlación entre la frecuencia de la fusión 3/6 y el tamaño medio por población.

Seguidamente se analizaron los efectos de los reordenamientos sobre la frecuencia y posición de los quiasmas; el estudio de los segmentos supernumerarios no arrojó resultados muy interesantes, salvo un desplazamiento de los quiasmas como consecuencia de la presencia de segmentos en el par portador (un hecho muy común en estos casos). Se determinó asimismo que la presencia del cromosoma B está asociada con un incremento en la frecuencia de univalentes por célula.

Mucho más variados son los efectos endofenotípicos de la fusión 3/6. Se hallado que esta fusión presenta los siguientes efectos sobre la recombinación:

- 1) Disminución del número de grupos de ligamiento.
- 2) Disminución de la frecuencia de quiasmas en el cromosoma fusionado 3/6, en especial de los quiasmas proximales e intersticiales (=efectos intracromosómicos).
- 3) Disminución de la frecuencia global de quiasmas, en especial de los proximales (=efectos intercromosómicos).

Los efectos mencionados (intra- e intercromosómicos) fueron atribuidos a diferentes causas. Se argumentó que los efectos intracromosómicos debían ser producidos por selección natural a fin de lograr una mejor orientación del trivalente (en efecto, una alta frecuencia de quiasmas proximales e intersticiales resultaría en una elevada frecuencia de

orientación lineal, que produce gametas desbalanceadas). De hecho, un estudio en un mutante espontáneo de *Leptysma argentina* para una fusión céntrica 5/7 (que además era heterocigota para la 3/6) reveló que en ésta la frecuencia de quiasmas proximales -y de orientación lineal- eran mucho más altas que en la fusión polimórfica. La alta frecuencia de quiasmas proximales fue también hallada en el cromosoma metacéntrico 1, que no es polimórfico y por lo tanto no forma trivalentes. Los efectos intercromosómicos fueron atribuidos a un efecto directo de la fusión sobre el mecanismo de control de los quiasmas, especialmente a nivel de la interferencia quiasmática. Efectivamente, se halló que los efectos intercromosómicos de la fusión 3/6 de *Leptysma argentina* son explicables en términos del modelo de Mather (1938) de formación secuencial de quiasmas, donde la intensidad de la interferencia quiasmática juega un papel importante en la determinación de la posición y la frecuencia de los quiasmas.

Seguidamente se analizaron los efectos que otro tipo de variación cromosómica (un sistema complejo de cromosomas B) ejerce sobre la recombinación en la especie relacionada *Cylindrotettix obscurus* (Leptysminae: Acrididae). En esta especie se analizaron los efectos sobre la frecuencia y posición de quiasmas ejercen dos tipos de cromosomas B: un "isocromosoma" submetacéntrico de tamaño mediano (Iso B), que forma univalentes en anillo en profase I de la meiosis y que es mitóticamente estable, y un cromosoma telocéntrico de tamaño comparable al de los miembros más pequeños del complemento (B_c) que es mitóticamente inestable. Se determinó que, menciono aparte de las peculiaridades de este sistema complejo de cromosomas B, los efectos que *por separado* cada tipo de B ejercía sobre la frecuencia y posición de los quiasmas era similar a los efectos intercromosómicos de la fusión 3/6 de *Leptysma argentina* (pero en sentido inverso, esto es, hacia un incremento de la frecuencia de quiasmas totales y proximales) y también interpretables en términos del modelo de formación secuencial de quiasmas (curiosamente, la interacción de ambos tipos de cromosomas B producía una sensible baja en la frecuencia de quiasmas e incluso

formación de univalentes -efecto inverso al notado para los B por separado y análogo al del B de *Leptysma argentina*).

Se buscó por lo tanto poner a prueba la hipótesis mencionada anteriormente (esto es, que los efectos inter-cromosómicos de la fusión 3/6 se deben a una intensificación de la interferencia quiasmática) efectuando un estudio de distribución de quiasmas en diplotene. Para ello se comparó la frecuencia y distribución de los quiasmas en 8 homocigotas básicos, 10 heterocigotas y 9 homocigotas de fusión (10 células por individuo), así como la distancia del primer quiasma al centrómero (llamada **distancia diferencial**, "d") y las distancias entre los quiasmas (llamada **distancia de interferencia**, "i"). Se determinó que ambas variables se modifican como consecuencia de la fusión céntrica 3/6; la distancia "d" disminuye en los portadores de la fusión, y la distancia "i" aumenta. Se descubrió asimismo que la disminución de la frecuencia de quiasmas propia de los portadores de la fusión se debe efectivamente a un aumento de la interferencia, pero no según el mecanismo esperado. En efecto, en los bivalentes telocéntricos el aumento de la interferencia no provocó una disminución de la frecuencia de quiasmas, sino su redistribución según un claro patrón proximal-distal. Fue en los bivalentes metacéntricos, mediante la **operación de la interferencia a través del centrómero**, donde se registró una fuerte disminución en la frecuencia de quiasmas, especialmente de los proximales. No es éste el primer caso en que se sugiere la operación de la interferencia a través del centrómero, pero su existencia cabal no había sido demostrada en ningún caso y la afirmación, no exenta de dogmatismo, de que **no existe interferencia a través del centrómero** -al menos en los ortópteros- había sido tácitamente aceptada por la mayoría de los autores.

Dado el desconocimiento que poseemos sobre los parámetros poblacionales de la especie, sólo es dable hacer conjeturas sobre la posible naturaleza adaptativa de los

posible actuación de la fusión 3/6 en la regulación de la recombinación (se ha observado, en efecto, que su distribución recuerda el "patrón central-marginal" descrito para los polimorfismos de inversión en algunas especies de *Drosophila*); también se ha hecho notar que los efectos sobre el tamaño pueden tener alguna importancia a nivel selectivo (recordar la correlación negativa de la frecuencia de la fusión 3/6 con la temperatura, y cómo mayores tamaños suelen estar vinculados con una adaptación a ambientes más fríos). En un caso la explicación hace especial hincapié en los efectos sobre la recombinación, en los otros se enfatiza el papel de los efectos exofenotípicos o la importancia de las correlaciones con variables ambientales; en todos (al menos en los considerados aquí) se reconoce la importancia de que varias características, que por lo general se hallan codificadas por muchos loci, dependan para su modificación, de un solo reordenamiento cromosómico, lo que hace a la selección mucho más eficiente.

Queda finalmente el problema del origen de la fusión 3/6. La doctrina requiere que un reordenamiento como éste, que puede presentar heterosis negativa, haya sido seleccionado a favor en sus orígenes por alguna hipotética ventaja selectiva de sus portadores. Sabemos los efectos que la fusión céntrica presenta actualmente sobre sus portadores, pero no sabemos si los poseía entonces. Si el incremento de la interferencia a través del centrómero es un efecto directo de la fusión, ésta pudo haber sido una preadaptación para el mantenimiento del polimorfismo; los genes que producen efecto sobre el tamaño (hipotéticamente adaptativos) se habrían acumulado después en el metacéntrico, como consecuencia de la casi nula recombinación con sus homólogos telocéntricos. Si el incremento de la interferencia no es un efecto directo de la fusión, debió haber sido seleccionado a favor en las primeras generaciones -y simétricamente, los genes responsables de este efecto se habrían acumulado en el metacéntrico 3/6. En este caso, el metacéntrico debió haber estado sometido a una fuerte selección negativa, pero esta desventaja pudo haber sido compensada por algún efecto adaptativo directo de la fusión (el efecto sobre el tamaño,

por ejemplo). El dilema aquí planteado no puede resolverse en esta etapa del estudio, y existe aún otra posibilidad: que el mantenimiento de la fusión haya sido sostenido por mera conducción meiótica, lo que nos libraría del dilema y de la explicación adaptativa. Esta posibilidad debe ser considerada de inmediato, dado que la sola conducción meiótica podría estar fijando la fusión 3/6 en las poblaciones bonaerenses y extendiéndola hacia el norte; si esta hipótesis fuera cierta, el área de polimorfismo sería tan sólo una zona híbrida considerablemente ancha. Existen motivos para sospechar que esto no es así, pero deberá aguardarse mayor información experimental para dilucidar esta cuestión con plenitud.

INTRODUCCION

La teoría evolutiva es la expresión que confiere sentido y unidad a la biología, y si bien es evidente que esta teoría en su formulación actual es aún insuficiente para explicar con plenitud la complejidad de los fenómenos evolutivos (Ruse 1979), existe dentro de ella una tendencia creciente hacia la formalización y axiomatización de los fenómenos microevolutivos mediante modelos matemáticos. Este empeño condujo en los primeros cuarenta años de este siglo al surgimiento y desarrollo de la Genética de Poblaciones, cuyos teoremas más importantes fueron deducidos en el periodo 1908-1932 por Hardy, Weinberg, Castle, Fisher, Chetvérikov y S. Wright, entre otros. Esta disciplina constituye una poderosa herramienta inferentiva debido al formidable poder explicativo, predictivo y heurístico que le confiere su estructura matemática, y proporcionó el armazón estructural que hizo posible el ensamble de disciplinas tan aparentemente disímiles como la Paleontología, la Genética y la Taxonomía en el moderno edificio neodarwiniano.

La Genética de Poblaciones consiste en el estudio de las consecuencias estadísticas de las leyes de Mendel en una población de organismos con ese tipo de herencia (Li 1954). Desde este punto de vista, la **Citogenética de Poblaciones**, que estudia el comportamiento poblacional de las variaciones cromosómicas (y no puntuales) constituiría sólo un capítulo o una extensión de la teoría antes mencionada; esta inclusión sería posible gracias al hecho aparentemente fortuito de que las variaciones cromosómicas observan también un comportamiento mendeliano.

Sin embargo, mirando el problema desde otra perspectiva, la Genética de Poblaciones en su formulación matemática utiliza a las leyes de Mendel como axiomas, en base a los cuales desarrolla sus teoremas en forma deductiva (Ruse, 1979); sin embargo, las leyes de Mendel no son axiomas sino enunciados empíricos que derivan de la observación y de la experimentación, y que encuentran su fundamento citológico en la reducción meiótica y en la orientación al azar de los bivalentes.

En segundo lugar, raramente es posible considerar el efecto de los genes haciendo abstracción de su trasfondo genético. Es importante entonces tener en cuenta las relaciones epistáticas, de dominancia y de ligamiento entre los genes, que se encuentran condicionadas -especialmente estas últimas- por el sistema genético de la especie (Darlington 1939). Uno de los factores del sistema genético más relevantes para el control de la recombinación consiste en la presencia de polimorfismos cromosómicos. Es por estos motivos que no consideramos el análisis citogenético de una población como un *complemento* de otros estudios genético poblacionales, sino más bien como una indagación sobre un aspecto central del sistema genético de la especie, que puede regular e incluso condicionar a los restantes.

Buena parte -tal vez la mayoría- de los estudios citogenético-poblacionales fueron llevados a cabo en insectos, especialmente dípteros y ortópteros. No es éste el lugar para hacer una revisión del aporte que el estudio de *Drosophila* ha efectuado a la Genética Evolutiva; baste decir que en este organismo excepcional fue posible un estudio pormenorizado y extenso de los polimorfismos cromosómicos - en este caso inversiones paracéntricas- y su significado adaptativo en virtud de las características especiales que presenta este material. Dichas condiciones favorables no sólo permitieron observar y describir la variación cromosómica en función del tiempo y de variables geográficas y climáticas, sino que también posibilitaron la experimentación y la cuantificación de componentes de la eficacia biológica, lo que ha conferido fuerza a las conclusiones extraídas a partir de dichos análisis.

Sin embargo, es también importante el aporte que significó el estudio de los ortópteros -y en particular de los acridoideos- para nuestro conocimiento actual de los fenómenos citogenéticos. Tuvo especial relevancia en este campo la labor pionera del Prof. Francisco A. Sáez, quien desde fines de la década del '20 describió el cariotipo de un buen número de especies de nuestro país y del Uruguay (su país de origen), analizó en detalle la evolución del cariotipo en estos grupos, con especial énfasis en la evolución de los sistemas cromosómicos de determinación del

sexo (Sáez 1963), y contribuyó además a la formación de profesionales de primer nivel internacional que continúan, en Uruguay y Brasil, dedicados a estudios citotaxonómicos y/o de estructura cromosómica. Estos primeros trabajos, si bien no lo reconocían explícitamente, adscribían a un concepto tipológico de la especie; los estudios eran sumarios (a veces realizados con 2 ó 3 individuos por especie) y por lo tanto ignoraban la eventual presencia de variación cromosómica dentro de las poblaciones. Desde entonces, en nuestro país -pese a la considerable fauna acridiana existente- hasta hace un quinquenio no se habían realizado investigaciones cromosómicas en este grupo, con la sola excepción de los trabajos de Vaio & al. (1979) y Goñi & al. (1984) en *Trimerotropis pallidipennis* (Oedipodinae: Acrididae). Recientemente, en nuestro grupo de investigación, se han realizado una serie de estudios poblacionales en la superfamilia Acridoidea (Bidau & Hasson 1984, Bidau 1984, 1985, 1986, 1987, 1988, Bidau & Mirol 1988, Bidau & Confalonieri 1988, Confalonieri & Bidau 1986, Confalonieri 1988, Confalonieri & Colombo 1988, Colombo 1987, 1989 a, b, c, d, Remis & Vilardi 1986, Remis 1988, 1989, Vilardi 1984, 1985, 1987, 1988). Estos estudios revelaron la existencia de considerable variación cromosómica intra- e interpoblacional en varias especies de este taxón que, en algunos casos (como se verá más adelante), puede llegar a desdibujar el concepto clásico de *cariotipo*. A continuación se examinarán las formas en que suele presentarse esta variación.

1. Modos en que se presenta la variación cromosómica:

De acuerdo con John (1983) las variaciones cromosómicas que pueden aparecer por mutación son:

1) Cambios estructurales que conducen a reordenamientos intra- (inversiones) o inter- (fusiones y translocaciones) cromosómicos.

2) Cambios numéricos (euploidía y aneuploidía).

3) Cambios en el contenido de heterocromatina mediante la adición de segmentos supernumerarios a los miembros normales del complemento, o bien por adición de cromosomas supernumerarios.

Una vez producido el cambio cromosómico, éste puede a su vez:

a) Perderse;

b) Fijarse en la población, de tal manera que diversas poblaciones de una misma especie presenten cariotipos diferentes originando **razas cromosómicas**; en este caso se habla de **politipismo cromosómico**.

c) Fijarse en toda la especie, en cuyo caso habrán diferencias cariotípicas con otras especies afines del género, y

d) Mantenerse en la población, alcanzando cierto tipo de equilibrio con la forma no mutada (**polimorfismo cromosómico**).

La presencia de un polimorfismo cromosómico en una población determina (a semejanza de las mutaciones puntuales) la existencia de homocigotas básicos (no mutados), de heterocigotas y de homocigotas para el reordenamiento. Sin embargo estos polimorfismos se diferencian de los genéticos por su magnitud; es por esta razón que los heterocigotas estructurales suelen presentar trastornos meióticos que comprometen severamente el desarrollo de la gametogénesis y que por consiguiente disminuyen la fertilidad (Lande 1979, John 1981). Este fenómeno, conocido como **heterosis negativa** sobre la fertilidad (White 1973), ha sido repetidamente invocado como coadyuvante (Stebbins 1966) o aun causante (White 1968) del proceso de especiación, debido a la eficacia menguada que la esterilidad segregacional causa en los híbridos; según esta hipótesis la eventual fijación de este reordenamiento en una población, seguida por un contacto secundario, provocará selección en contra de los híbridos y por ende la aparición de mecanismos de aislamiento precigótico (White 1978). Esta afirmación ha sido criticada, entre otros, por Lande (1985) quien afirma que es necesario un tamaño poblacional muy pequeño para permitir la fijación por deriva genética de un reordenamiento que en heterocigosis causa esterilidad parcial. En la misma dirección, Templeton (1981) señala que, en caso de contacto secundario, se producirá alguna de las siguientes alternativas: a) Las poblaciones en contacto ya habrán divergido ecológicamente y en consecuencia presentarán poca hibridación, por lo que el reordenamiento será poco relevante desde el punto de vista del aislamiento reproductivo; b) Habrá hibridación extensiva

con formación de heterocigotas infértiles o poco fértiles, por lo que se perderá uno u otro morfo cromosómico; c) Se favorecerá la aparición de mecanismos de compensación que permitirán la formación de un polimorfismo estable. Este planteo, si bien deja sin explicar la considerable casuística que favorece la hipótesis de la especiación cromosómica (que recientemente ha recibido nuevos enfoques, como en Bickham & Baker 1986), es sin embargo esclarecedor en un aspecto: de acuerdo con c) es de esperar que aquellos reordenamientos que alcancen fácilmente el estado polimórfico contribuyan poco a la especiación cromosómica, y vice versa; así, se demostró que las inversiones paracéntricas de *Drosophila* tuvieron poca o ninguna influencia sobre la especiación (Zouros 1979).

Asimismo, las fusiones céntricas, a las que tanta importancia se les ha asignado en la evolución del cariotipo de los ortópteros, raramente se presentan en estado polimórfico (Hewitt 1979, John 1983). En consecuencia se podría afirmar que una de las condiciones de posibilidad para el mantenimiento de un polimorfismo cromosómico es que éste no altere significativamente la producción de gametas viables, o bien que aparezcan mecanismos de compensación que supriman -o bien que reduzcan a niveles tolerables- las irregularidades meióticas de los heterocigotas. El que efectivamente lo hagan dependerá de otros factores, que se examinarán a continuación.

2. Polimorfismos cromosómicos más frecuentes en los ortópteros:

Entre los ortópteros, el tipo más común de polimorfismo está dado por la presencia de heterocromatina supernumeraria, ya sea bajo la forma de cromosomas B o bien como segmentos supernumerarios incorporados al genoma (Hewitt 1979). Sin embargo, esta forma de variación es atípica en más de un sentido, dado que la presencia de un segmento supernumerario no altera la meiosis de los heterocigotas (John 1981) y porque los cromosomas B no se encuentran sujetos a las leyes mendelianas y sí a mecanismos de acumulación y pérdida cuyo balance podría explicar su mantenimiento (Nur 1977, Jones & Rees 1982, John 1983). Por lo tanto se ha postulado que los

tanto que los segundos serían un caso especial y desmesurado de "ADN egoísta" (Rejón & al. 1987).

Los polimorfismos para inversiones paracéntricas se encuentran aparentemente restringidos a los Trimerotropinos de América del Norte (White & Morley 1953, White 1973, Weissman 1976, Schroeter 1968) y del Sur (Vaio & al. 1979, Goñi & al. 1984, Confalonieri 1988, Confalonieri & Colombo 1989), y también a algunos Morabinae australianos (White 1973); es probable, según Hewitt (1979) que la presencia de este tipo de polimorfismos en estos grupos se deba a una mayor tendencia a observar apareamiento no homólogo en las regiones mutuamente invertidas de los heterocigotas, con lo cual la formación de gametas desbalanceadas se suprime.

Finalmente, sólo se han descrito 3 especies de acridoideos con polimorfismos para fusiones céntricas (3 de ellas descritos en nuestro laboratorio), a saber: *Oedaleonotus enigma* (Hewitt & Schroeter 1968), *Cornops aquaticum* (Mesa 1956), *Leptysma argentina* (Bidau & Hasson 1984, este trabajo), *Dichroplus pratensis* (Sáez & Pérez Mosquera 1971, Bidau 1984, Bidau & Mirol 1988) y *Sinipta dalmani* (Remis 1989) (esta última fusión entre el cromosoma X y un autosoma, y quizá la única de este tipo hallada en estado polimórfico). La baja frecuencia de polimorfismos para fusiones céntricas se debe probablemente a los estrictos requerimientos que presenta el trivalente resultante en los heterocigotas para su correcta segregación en anafase I. Los polimorfismos para translocaciones -que implican formación de multivalentes en los heterocigotas- faltan por completo en los ortópteros.

Según esta rápida enumeración parece claro que las frecuencias con que se presentan los diferentes polimorfismos cromosómicos serían inversamente proporcionales a los trastornos que éstos causan en la meiosis de los heterocigotas. John (1981) presenta sin embargo otra condición, más restrictiva, para el surgimiento de un polimorfismo estable: éstos deberían tener algún valor adaptativo o de lo contrario serían polimorfismos transitorios, meros puntos intermedios entre la aparición de una mutación cromosómica y su ulterior fijación o pérdida. La determinación del valor adaptativo de un polimorfismo no se

reduce a demostrar que sobre éste está actuando la selección natural, sino también que esta selección es **equilibradora**, esto es, que favorece el mantenimiento de la condición polimórfica. En el caso de los polimorfismos para inversiones en *Drosophila* estos estudios pudieron afinarse tanto como se ha querido, dadas las excepcionales características del material, y en la actualidad existen pocas dudas de que los polimorfismos de inversión en este grupo están en su mayor parte mantenidos por selección natural (Brussard 1984, Sperlich & Pfriem 1986, Hasson 1988). El caso de los ortópteros es distinto; si bien ofrecen ventajas de otro tipo (generaciones discretas, figuras meióticas sumamente claras, facilidad de captura en el campo) son menos manejables desde el punto de vista experimental, por lo que la cuestión del valor adaptativo de los polimorfismos debe ser encarada por vías más indirectas, i.e. correlación entre frecuencias cromosómicas y variables geográficas y/o climáticas (Confalonieri & Colombo 1988). Sin embargo, la presencia de variación cromosómica tan extendida en este grupo requiere una explicación más satisfactoria y menos especulativa. La correlación -con ser uno de los métodos más antiguos y sencillos para inferir la existencia de factores selectivos- sólo puede servir como indicio de cuáles rasgos pueden estar involucrados en una relación selectiva (Endler 1987; Confalonieri & Colombo 1988). Un estudio más completo debería determinar no sólo cuáles son los efectos más notorios de esos rasgos sobre el fenotipo -y si esos efectos tienen importancia selectiva- sino también de qué manera están involucrados esos factores en el mantenimiento del polimorfismo.

3. Ventajas del modelo elegido, o porqué los leptysminos:

Tal como fue señalado anteriormente, el ejemplo de *Drosophila* resulta paradigmático para todo aquél que incurriere en la citogenética con un enfoque poblacional. La posibilidad de efectuar predicciones y de corroborar estas predicciones mediante la experimentación permite alcanzar un nivel teórico que es inaccesible en otros organismos. Esta misma situación de vanguardia, sin embargo, ofrece al que

desarrollar sus investigaciones. A lo largo de este trabajo se notará en algunos casos la traslación de modelos y teorías originalmente propuestos para *Drosophila* al campo mucho menos propicio de los ortópteros; esta analogía puede considerarse algo forzada debido a las diferencias esenciales y metodológicas que separan a ambos grupos. Sin embargo, consideramos que salvar las contradicciones e incongruencias que sin duda generará esta comparación algo inadecuada es un trabajo creativo y que puede resultar enriquecedor; por otra parte, los ortópteros presentan características que no son compartidas por los drosofilidos (como generaciones discretas y meiosis ejemplares) y que pueden considerarse favorables para ajustar el enfoque. Dentro de la variedad de posibilidades que ofrecen los ortópteros, se ha elegido a la subfamilia Leptysminae como tema de estudio por las características que se mencionarán a continuación.

La subfamilia Leptysminae (Acridoidea: Acrididae) se encuentra distribuida a lo largo de todo el continente americano (Roberts 1978). Incluye las tribus Tetrataeniini y Leptysmini; ambos grupos comprenden géneros adaptados a la vida semiacuática (Roberts 1978) y en general se los encuentra relacionados con gramíneas y ciperáceas (Amedegnato 1974, Roberts 1978). Esta subfamilia comprende 42 especies, de las cuales 21 fueron estudiadas citológicamente con profundidad diversa (Amoedo 1980, Mesa & al. 1982, Bidau & Hasson 1984, Confalonieri & Bidau 1986).

El cariotipo predominante de los Leptysminae es el mismo que presenta la mayoría de los Acridoidea: número cromosómico $2n = 23$ o 24 , sistema de determinación del sexo XO/XX y todos sus cromosomas acro- o telocéntricos (Mesa & al. 1982). Sin embargo, en algunas especies (*Leptysma argentina*, *Cornops aquaticum*, *Stenopola pallida*, *Tetrataenia surinama*) han ocurrido fusiones céntricas que provocaron una disminución del número cromosómico; en *C. aquaticum* las 3 fusiones descritas son polimórficas (Mesa 1956) mientras que en *Leptysma argentina* coexisten una fusión polimórfica y otra fijada (Amoedo 1979, Bidau & Hasson 1984, este trabajo). *S. pallida* y *T. surinama* difieren del cariotipo ancestral en 1 y 2 fusiones fijadas, respectivamente (Mesa & al. 1982). Estudios poblacionales más extensos han revelado la

existencia de cromosomas B en *Cylindrotettix obscurus* (Confalonieri & Bidau 1986) y segmentos y cromosomas supernumerarios en *L. argentina* (Amoedo 1979, Bidau & Hasson 1984).

A partir de lo expuesto anteriormente, queda claro que la subfamilia Leptysminae constituye un modelo interesante para la realización de estudios citogenéticos poblacionales tendientes no sólo a evaluar la importancia de los cambios cromosómicos en la evolución transespecífica, sino también a estudiar la distribución geográfica de los polimorfismos cromosómicos, sus frecuencias y sus eventuales efectos exo- y/o endofenotípicos como una aproximación citológica al problema del mantenimiento de la variabilidad cromosómica. En el presente trabajo de tesis se hizo especial hincapié en este último aspecto mediante el estudio citogenético de la especie *Leptysma argentina*, dada la presencia de abundante variación cromosómica en esta especie. Es conveniente aclarar aquí que estos propósitos que quedan planteados no han sido plenamente satisfechos; un estudio más completo y extenso -que quedaría fuera de los alcances de esta tesis, por ser potencialmente cada uno de sus aspectos una tesis con entidad propia- debería incluir, además del análisis citológico de *L. argentina*, un pormenorizado estudio de los cariotipos de cada una de las especies que integran esta subfamilia, así como la determinación de parámetros ecológicos y de variabilidad isoenzimática que permitan someter a contraste las hipótesis generadas por el análisis citológico. El trabajo que aquí se expone consiste en el inicio de un estudio que deberá ampliarse y profundizarse mediante el empleo de otras técnicas, y en varias oportunidades nos hemos conformado con dejar planteados los problemas que deberán ser resueltos más adelante; sin embargo, debe tenerse en cuenta que este estudio representa una visión arbitrariamente detenida en un punto de un trabajo que es -y debe ser- continuo. Esperamos que su organización en un cuerpo coherente a fin de someterlo a la consideración de un jurado sea una instancia enriquecedora de ese proceso.

MATERIALES Y METODOS:

1. Procedencia del material biológico:

Para la realización de este estudio se coleccionaron 389 individuos machos pertenecientes a la especie *Leptysma argentina* y 87 de la especie *Cylindrotettix obscurus*; ambas especies pertenecen a la tribu Leptysmini de la subfamilia Leptysminae (que además comprende a los Tetrataeniini); en una población (Puerto Talavera) se hallaron además dos individuos que son indistinguibles de la especie *Leptysma argentina* con arreglo a los criterios taxonómicos corrientes (Ronderos, comunicación personal) pero que presentaron un cariotipo radicalmente distinto, por lo que se los consideró pertenecientes a otra especie que será provisoriamente denominada *Leptysma sp.* En la tabla 1 se detallan las localidades donde fueron coleccionados estos ejemplares, conjuntamente con el tamaño de la muestra y la fecha aproximada de recolección.

Todos los individuos fueron disecados en el campo y sus testículos fijados en 3:1 metanol (o etanol): ácido acético y posteriormente guardados a 4,3 °C. Las preparaciones citológicas fueron hechas por aplastado en orceína lacto-propiónica o hematoxilina férrica.

2. Observación citológica:

Para el estudio de los efectos intra- e intercromosómicos en *Leptysma argentina* se utilizaron 189 individuos machos de las siguientes colecciones: 57 individuos (colección 1983) y 48 individuos (colección 1984) de la población de Río Luján; 15 individuos de la población de Zárate, 12 individuos de la población de Pilar y 47 individuos de las poblaciones situadas en el Parque Nacional El Palmar. Todos los individuos fueron disecados en el campo, sus testículos fueron fijados en 3:1 (metanol: ácido acético) y posteriormente almacenados a 4° C. Los folículos fueron aplastados en orceína lacto-propiónica, y los quiasmas fueron registrados en células en metafase I, siendo clasificados como proximales (P), intersticiales (I) y distales (D) de acuerdo a si se hallaban en el tercio proximal, medio o

distal del cromosoma con respecto al centrómero, respectivamente.

3. Estudio morfométrico:

Para el estudio morfométrico se midieron los individuos muertos y disecados con la ayuda de una lupa binocular graduada. Se consideraron las siguientes variables:

a) Largo de tegmina; en algunos casos fue imposible tomar con precisión este valor debido a que la tegmina podía estar raída en su extremo libre.

b) Largo total; se consideró desde el extremo frontal (=fastigio) hasta el extremo posterior del fémur; esta medida es más confiable que la que abarca desde el fastigio hasta el extremo posterior del abdomen dado que ésta varía de acuerdo con el estado de alimentación o hidratación del animal (Ronderos, comunicación personal).

c) Longitud de fémur;

d) Longitud de tibia;

e) Longitud de tórax;

f) Altura del tórax.

4. Estudio de la distribución de quiasmas:

Para el estudio de la frecuencia y posición de los quiasmas, se analizaron con preferencia metafases I dado que éstas permitían visualizar con mayor facilidad el centrómero y por lo tanto la posición del quiasma era más sencilla de determinar. Los quiasmas fueron clasificados como proximales (P), intersticiales (I) o distales (D) con respecto al centrómero de acuerdo a si se encontraban en el tercio centromérico, en el intermedio o en el telomérico, respectivamente.

Para el estudio de distribución de quiasmas en diplotene el diseño experimental utilizado es, básicamente, el mismo empleado por Fox (1973) en *Schistocerca gregaria*, teniendo en cuenta las particularidades de *L. argentina*: se mapeó la distribución de los quiasmas a lo largo de los bivalentes, se obtuvieron las distancias d , i_1 , i_2 y r (asumiendo que la formación de quiasmas procede desde el telómero hacia el

registró la frecuencia de quiasmas totales, proximales, intersticiales y distales para cada célula de acuerdo al criterio empleado con anterioridad. Dado que -a diferencia de *Schistocerca- L. argentina* presenta cromosomas metacéntricos, se consideraron los brazos de cada metacéntrico por separado. Para este estudio se utilizaron células en diplotene, que permiten una buena visualización de la posición de los quiasmas (fig. 2b); las células fueron rigurosamente seleccionadas de acuerdo a los siguientes criterios:

a) Que cada célula estuviera intacta y pudiera ser diferenciada de otras en su vecindad.

b) Que fuera posible detectar la posición de los centrómeros.

c) Que no existiera ambigüedad entre quiasma y enrollamiento relacional de los homólogos.

Se utilizaron con tal propósito 8 individuos homocigotas estándar, 10 heterocigotas y 9 homocigotas para la fusión, en cada uno de los cuales se midieron 10 células. Cada célula fue dibujada en cámara clara con una magnificación de 3.750 x. Las mediciones se efectuaron con un analizador de imágenes (Mini-Mop, Kontron Elektronik Gruppe); cada medición fue repetida 3 veces y promediada. Las medidas que se tomaron fueron las siguientes: 1) desde el telómero hasta el primer (o único) quiasma (=distancia **diferencial**, **d**); 2) desde el primero hasta el segundo quiasma (=distancia **de interferencia**, i_1); desde el segundo hasta el tercer quiasma, en caso de haberlo (i_2) y 4) desde el último quiasma hasta el centrómero (=distancia **residual**, **r**).

Para este estudio se utilizaron los individuos coleccionados en diciembre de 1986 en la población de **Arroyo el Palmar**, Provincia de Entre Ríos, a fin de eliminar posibles diferencias genéticas entre poblaciones; de esta manera, se supone que los genes que controlan la distribución de los quiasmas se encuentran distribuidos al azar en los distintos cariotipos. Asimismo se descartaron individuos que presentaban segmentos supernumerarios o cromosomas B, a fin de eliminar la variación debida a heterocromatina supernumeraria. Esta población fue elegida debido a que fue la única de las 9 poblaciones de *L. argentina* estudiadas

hasta el presente que mostró frecuencias intermedias para la fusión 3/6 (ver **Resultados 3.**); de esta manera fue posible obtener un número suficiente de los tres cariotipos sin un esfuerzo de captura excesivo. Los individuos fueron disecados en el campo, y sus testículos fueron fijados en 3:1 etanol: ácido acético y posteriormente mantenidos a 4° C. Los preparados citológicos fueron obtenidos por aplastado en orceína lactopropiónica.

Los datos numéricos obtenidos a partir de las mediciones fueron almacenados y procesados en ordenador. Estos datos fueron transformados a porcentajes de la longitud total autosómica por célula y los cromosomas automáticamente ordenados de acuerdo con su longitud mediante programas diseñados *ad hoc*.

RESULTADOS Y DISCUSION:

1. Cariotipo de *Leptysma argentina*:

El cariotipo de *L. argentina* fue previamente descrito por Bidau & Hasson (1984); en su forma básica consiste de 21 cromosomas en el macho y 22 en la hembra (20 A + X0/XX). El par n° 1 es un metacéntrico largo, el par n° 2 es un telocéntrico largo (L), los pares 3 a 8 y el X son telocéntricos medianos (M) y los pares 9 a 10 son telocéntricos cortos (S). El par n° 8 presenta grandes bloques de heterocromatina y su condensación es precoz; este tipo de bivalentes se conoce con el nombre de "megamérico" y son comunes en los ortópteros (fig. 1).

2. Polimorfismos cromosómicos:

En casi todas las poblaciones estudiadas se encontraron 2 variaciones cromosómicas en estado polimórfico: una de ellas es una fusión céntrica entre los pares 3 y 6 del complemento básico (fusión 3/6)(Fig. 2a,b,c,d) y la otra es un segmento supernumerario heterocromático situado en la región intersticial del par n° 10 (s_1) (fig. 2a,c). En algunas poblaciones (especialmente aquéllas en las que se pudo obtener una muestra de tamaño significativo) se registraron también polimorfismos para un segmento supernumerario heterocromático en la región centromérica del par n° 10 (s_2) (fig. 2b,c). Finalmente se detectó la presencia de un cromosoma B parcialmente eucromático, de tamaño comparable al del cromosoma X, en todas las poblaciones bien representadas (fig. 2 d).

2.1. Segmentos supernumerarios:

2.1.1. Morfología:

El par 10 es el más pequeño del complemento; en su forma estándar forma durante la meiosis un único quiasma de posición distal o intersticial, y posee poca o ninguna heterocromatina centromérica (fig. 3a), a juzgar por los resultados del bandeo C (Bidau & Hasson 1984). Es común, sin embargo, la ocurrencia de un segmento supernumerario

intersticial (s_1) que aumenta notablemente el tamaño de este cromosoma, de modo que éste se asemeja a un telocéntrico mediano (fig. 3d).

Además de este segmento intersticial, se detectó la presencia de otro segmento supernumerario heterocromático (s_2) en el mismo par; este segmento es de ubicación proximal y su tamaño es variable (fig. 3b). En la población de Río Luján (RL colección de 1983) se han encontrado ambos segmentos con frecuencias relativamente altas ($F(s_1) = 0.45$, $F(s_2) = 0.25$) y por lo tanto fue posible obtener los 9 cariotipos (fig. 3 y 4).

2.1.2. Comportamiento meiótico:

Cuando el s_1 se encuentra en heterocigosis, el par 10 puede formar un quiasma de posición proximal (más frecuentemente) (fig. 3d) o distal (más raramente) o bien dos quiasmas, uno proximal y el otro distal (fig. 3f). El quiasma será llamado distal cuando se encuentre entre el s_1 y el telómero, y proximal cuando se sitúe entre el centrómero y el s_1 .

Observado en paquitene, el bivalente 10 puede estar totalmente apareado en las regiones eucromáticas formando un asa en la región correspondiente al segmento s_1 (fig. 4f), puede estar apareado sólo en la región proximal (fig. 4h) o sólo en la distal (fig. 4g). En estado homocigótico, el par 10 portador del segmento s_1 forma por lo general un solo quiasma en la región proximal (fig. 4a,e); con mucha menor frecuencia puede formar un solo quiasma en la región distal (fig. 4b) o en ambas (fig. 4d).

2.2. El cromosoma supernumerario:

En las poblaciones estudiadas se halló un polimorfismo para un cromosoma supernumerario (B) (fig. 5), semejante al previamente comunicado por Amoedo (1979) y Bidau & Hasson (1984) para localidades del Uruguay y de la Capital Federal, respectivamente. Este cromosoma B fue hallado en todas las poblaciones bien representadas y su frecuencia es siempre baja (tabla 2). No se hallaron individuos portadores de dos cromosomas B: este hecho, que podría atribuirse a una

eficacia menguada de los portadores, es más probablemente producto de esa baja frecuencia.

El comportamiento meiótico del cromosoma B de *Leptysma argentina* responde a las características conocidas para estos elementos (Hewitt 1979) y es más bien regular. En leptotene el cromosoma B puede ser visto alternativamente asociado al X o bien libre (figs. 5b y 5a); la frecuencia de asociación al X aumenta en paquitene. Es en este estadio cuando se hace más evidente su naturaleza parcialmente eucromática; la región heteropicnótica positiva presenta una tinción semejante a la del cromosoma X, y es en esta región por donde se asocia con el elemento sexual (fig. 5d). La región eucromática permanece sin asociar y presenta un aspecto semejante al de los pares del complemento básico, haciéndose evidente en oportunidades un marcado patrón cromomérico (fig. 5d). En diplotene se encuentra por lo general libre (fig. 5e), o bien asociado al X o al bivalente megamérico en forma inespecífica (fig. 5f). En metafase I se orienta generalmente hacia un polo (fig. 5g) y migra precozmente hacia él (fig. 6c). Sin embargo, en un 8.7 % de los casos se detectó autoorientación, en cuyo caso la división del B es postreduccional (fig. 6a), es decir, ecuacional en anafase I (fig. 6b) y reduccional en anafase II (fig. 6d). Este tipo de comportamiento ya había sido comunicado en muchos otros organismos con cromosomas B, especialmente ortópteros (Jones & Rees 1982), por lo que en nada se aparta *Leptysma argentina* de la regla. En células con B prerreduccional éste llega precozmente a 1 de los polos (fig. 6c); en caso contrario, se demora (fig. 6b).

A pesar de la constancia de su comportamiento meiótico, los efectos del cromosoma B son variados y serán comunicados en la sección 5.1.1.

2.3. La fusión céntrica 3/6:

Como se indicó previamente, en casi todas las poblaciones investigadas se detectó la presencia de una fusión céntrica entre los pares 3 y 6 del complemento básico. La fusión originó un nuevo cromosoma metacéntrico (el cromosoma 3/6), que se encuentra en estado polimórfico. Esto determina la formación de heterocigotas y de homocigotas para la fusión, con la consiguiente formación de trivalentes en

los primeros (fig. 7b,c) y de bivalentes metacéntricos en los segundos (fig. 7d). El comportamiento meiótico del trivalente es notablemente regular; sobre un total de 120 metafases I analizadas en 11 individuos provenientes de la población de Río Luján se obtuvo un 94.2 % de orientación alterna (o convergente), que es la única que puede producir gametas viables (fig. 7b); el 5.8 % restante mostró orientación lineal (fig. 7d), y de no mediar reorientación ésta será la frecuencia de gametas inviables.

3. Frecuencias de los polimorfismos y su distribución geográfica:

En la tabla 2 se resumen las frecuencias de cada uno de los 4 polimorfismos mencionados anteriormente en todas las poblaciones de *L. argentina* estudiadas hasta ahora (cuando hubo más de una colección se indica siempre la primera). Las frecuencias de la fusión céntrica 3/6 y el segmento s_1 presentan una considerable variación entre poblaciones y fueron esquemáticamente representadas en la figura 8; en este mapa también se incluyen las dos poblaciones estudiadas por Bidau & Hasson (1984). Este esquema sugiere la existencia de un patrón geográfico, pues las frecuencias de ambos polimorfismos se incrementan hacia el sur. La población de Isla Talavera (IT) sería la única excepción a este patrón general, dado que muestra una frecuencia inesperadamente baja para el segmento s_1 con respecto a las poblaciones vecinas de Zárate (Z) y Puerto Talavera (PT) (fig. 8). Este detalle, aparentemente anómalo, no deja de tener su interés dado que esta "población" (en rigor una zanja de 50 m de largo y 1 de ancho a la vera de la ruta 12, poblada por ciperáceas y despoblada por un periódico desmalezamiento), es a lo sumo tan antigua como el Complejo Zárate-Brazo Largo (12 años), viéndose pertinazmente alterada por la actividad humana y por la desecación. Es probable entonces que la baja frecuencia de s_1 obedezca a un reciente efecto de fundador y/o a la operación de la deriva genética. Una pequeña colección de 6 individuos efectuada al año siguiente (1986) arrojó una frecuencia de 0.1666 para el segmento, lo que no es en sí tan interesante como el hecho de que el único portador de s_1 era un *homocigota* (la probabilidad de encontrar un homocigota,

según la fórmula de Hardy-Weinberg, es de 0.0277, y su frecuencia esperada para una muestra de tamaño $N=6$ es de 0.1667). Este hecho sugiere (si bien el exiguo tamaño muestral nos previene de extraer conclusiones definitivas) que el homocigota en cuestión podría ser un migrante de alguna población vecina.

3.1. Correlación con la latitud y la longitud: evidencia de un patrón geográfico:

Con el fin de evaluar el grado de asociación entre las frecuencias cromosómicas y la procedencia geográfica de cada muestra se llevó a cabo un análisis de correlación doble entre: latitud y longitud (X_1 y X_2 , respectivamente) y las frecuencias de cada polimorfismo (Y) por separado. Los análisis fueron llevados a cabo excluyendo e incluyendo a la población IT, en vista de sus peculiaridades. La correlación doble (r) fue muy alta para la fusión céntrica 3/6 en ambos casos ($r=0.95$ y $r=0.93$, con y sin IT, respectivamente); se encontró una asociación más débil, pero asimismo significativa para el cromosoma B ($r=0.63$ y $r=0.68$) y no se encontró asociación para el segmento s_2 ($r=0.37$ y $r=0.41$). El segmento s_1 mostró una correlación débil pero significativa cuando se incluyó a IT ($r=0.61$), y se elevó a $r=0.93$ cuando ésta fue excluida.

3.2. Evidencia gráfica: agrupamiento en un sistema biaxial

Con el fin de expresar en forma gráfica el patrón geográfico mencionado previamente, las tres combinaciones de pares ordenados entre las variables: frecuencia de F, frecuencia de s_1 y frecuencia de B fueron representados gráficamente en sendos sistemas biaxiales ortogonales (figs. 9a,b y c). En F versus s_1 (Fig. 9a) y s_1 versus B (Fig. 9c) es evidente que las poblaciones geográficamente más próximas tienden a agruparse (nótese el aislamiento de la población de Isla Talavera). Este patrón se repite en F vs. B (Fig. 9b) pero además es notoria una asociación negativa entre las frecuencias. Es sabido que los cromosomas B son elementos parasitarios del genoma y que dependen de la "tolerancia" del sistema genético de la especie para mantener su presencia en las poblaciones naturales (Nur 1969, Nur 1977, Jones & Rees

1982, Ruiz Rejón & al. 1987). ¿Indica este hecho que las poblaciones con mayor frecuencia de fusión toleran peor la presencia del cromosoma B? No necesariamente, dado que la correlación -que es alta y significativa y es menor que cero- sólo indica concomitancia y de ninguna manera causalidad. Aún cuando la correlación fuera muy alta, este hecho podría deberse a factores climáticos o genéticos o meramente al azar.

Para unificar los factores climáticos y hacer aleatorio el factor genético debemos manejarnos dentro de una misma población. Si el cromosoma B es efectivamente menos tolerado por los portadores de la fusión que por los no portadores, aquéllos presentarán una frecuencia menor que la esperada. Este punto se examinará cuando se analice la población de "El Palmar" (3.3.2).

3.3. Estabilidad temporal de los polimorfismos:

Las poblaciones de *L. argentina* son de difícil localización (viven en manchones de ciperáceas, pero no en todos ellos), abarcan áreas reducidas y son en general poco densas. Se intentó el seguimiento temporal de 3 poblaciones, que parecían -por su densidad relativamente elevada- ideales para un muestreo intensivo que permitiera tener una idea de las fluctuaciones de las frecuencias cromosómicas en generaciones consecutivas. Estas poblaciones fueron: Río Luján (RL), Puerto Talavera (PT) y El Palmar (EP). La primera localidad, situada en la margen izquierda del río homónimo en jurisdicción del Partido de Campana, fue muestreada intensivamente en la estaciones meióticas (Setiembre-Diciembre) de 1983 y 1984; lamentablemente en 1985 se construyeron en ese lugar un campo de equitación y un camping. La población de Puerto Talavera fue muestreada a lo largo de la primavera de 1986, pero la desecación del charco (incluido el incendio de su vegetación) impidió posteriores colecciones en 1987 y 1988. Finalmente, la población de El Palmar, por hallarse más protegida de las catástrofes (excepción hecha de los citogenetistas) permitió su muestreo secuencial en los años de 1985, 1986, 1987 y 1988.

En la población de Puerto Talavera se realizaron 3 muestras el 23/X, el 12/XI y el 29/XI de 1986, que

permitieron tener una idea de las fluctuaciones de las frecuencias **cariotípicas** en una misma generación y que son las que se analizan seguidamente.

3.3.1. La población de Puerto Talavera:

La primera colección, efectuada el 26/X/1986 en una población inusualmente densa de *Leptysma argentina*, reveló un patrón de frecuencias **cromosómicas** característico para la región (véase el mapa de la fig. 8, y también la tabla 2). Sin embargo, al analizar las frecuencias **cariotípicas**, se halló un notorio exceso de heterocigotas con respecto a la expresión de Hardy-Weinberg para el segmento s_1 (tabla 3a.1) que es significativo al 10%. Se efectuaron otras 2 colecciones el 12/X y el 29/XI, respectivamente, donde los tamaños muestrales fueron sensiblemente menores pese al mayor esfuerzo de captura. En la segunda colección (24 individuos) el exceso de heterocigotas disminuyó fuertemente, mientras que en la tercera se notó un leve defecto de heterocigotas (tabla 3a.1). Este hecho, no percibido anteriormente dado que la mayor parte de las colecciones (por razones de tiempo y de movilidad) se hacen de una vez, sugiere una serie de hipótesis:

a) Los heterocigotas para s_1 tendrían ventaja sobre cualquier homocigota en la etapa ninfal; esto haría que, a mediados de octubre (cuando recién se ha producido la última muda y aun muchos individuos machos y la totalidad de las hembras no la han alcanzado) los heterocigotas se vieran en exceso con respecto a la frecuencia esperada según la fórmula de Hardy-Weinberg. Ya en el estadio adulto no habría tal superioridad (o aún habría desventaja) lo que haría que las frecuencias se nivelen.

b) El creciente esfuerzo de captura necesario para capturar números cada vez menores de *L. argentina* puede ser interpretado en términos de la mortalidad normal para la especie o bien como una consecuencia del daño demográfico que el muestreo produciría sobre la población. En este caso, se puede pensar en dos posibilidades:

b.1) Los heterocigotas para s_1 serían más fácilmente capturables. Esta sería la causa de que en la primera colección, con un bajo esfuerzo de captura, se colecte un

número mayor de ellos. Las posteriores colecciones terminarían por dar cuenta del resto de la población, o bien

b.2) los heterocigotas para s_1 llegan antes al estadio adulto. Dado que en la primera colección aún había ninfas, que se descartaron por inmadurez testicular, la primera muestra tendría un sesgo en favor de los heterocigotas; este sesgo alteraría la composición de la población, lo que se vería reflejado en las colecciones posteriores.

Existen buenas razones para suponer que el tamaño poblacional es sumamente limitado, y que el tamaño muestral (67 machos) está muy cerca del tamaño censal de la población masculina de *L. argentina*. De cualquier modo la hipótesis b.2 no explica el exceso de heterocigotas en la segunda colección, cuando ya no había ninfas, y en la b.1 interviene demasiado el azar. Una estimación del tamaño poblacional ahorraría mucha argumentación; si a partir de ella resultara evidente que el tamaño censal es mucho más grande que el muestral, las hipótesis b.1 y b.2 quedarían descartadas (pero nótese en caso contrario no se podría descartar a).

El experimento anterior fue consciente y sugerido por el inusual exceso de heterocigotas hallado en una muestra desacomodadamente temprana. Sin embargo, el posterior análisis de viejas colecciones fue revelador: la población de Río Luján, que en 1984 fue muestreada en 3 etapas, presentaba un patrón análogo. Las tres muestras fueron efectuadas el 28/X/1984 (21 individuos), el 25/XI/1984 (14 individuos) y el 22/XII/1984 (11 individuos). En la tabla 3b se indican las frecuencias cariotípicas halladas que, pese a los exiguos tamaños muestrales, parecen sugerir un exceso inicial de heterocigotas que luego no se repite y aun se revierte. En este caso resultó evidente que los tamaños muestrales eran poco significativos en relación al tamaño poblacional.

Estos datos apuntan en forma inconcluyente pero sugestiva en dirección a la hipótesis a). Es difícil resistir a la tentación de asignar a esta supuesta ventaja del heterocigota $s_1/+$ el mantenimiento del polimorfismo para este enorme segmento supernumerario; en todo caso, sería un ejercicio poco provechoso dado que se ignora si la cópula se produce inmediatamente después de la muda, hacia el final de

la estación o todo el tiempo (para que el exceso de heterocigotas inmediatamente después de la muda produzca un aumento de la frecuencia de s_1 , la cópula debería efectuarse en ese momento). Lamentablemente, la escasez o ausencia de datos confiables sobre los parámetros poblacionales de esta especie relativiza toda conclusión.

La tabla 3 también resume los datos de fluctuación de las frecuencias cromosómicas y cariotípicas de la fusión 3/6 en Puerto Talavera (PT) y Río Luján (RL) (3a.2 y 3b.2). En PT es evidente un aumento de la frecuencia del cromosoma fusionado 3/6, aunque las diferencias no son significativas. En RL (1984) se obtuvo un patrón similar. Esto es destacable, dado que las altas frecuencias para el cromosoma 3/6 que presentan las colecciones de fines de noviembre y de diciembre en PT y RL (0.86 en ambos casos) es coincidente con las de la colección RL (1983), realizada íntegramente en el mes de diciembre (0.88 para el cromosoma 3/6, sobre una muestra de 50 individuos); no es de descartar que las frecuencias que se obtengan para la fusión en una población cualquiera dependan en cierta medida del momento de la estación en que ésta se efectúe.

3.3.2. La población de "El Palmar":

En el Parque Nacional El Palmar (Entre Ríos) se muestrearon 3 poblaciones de *Leptysma argentina* en las siguientes localidades: Arroyo de los Loros (LL), Arroyo El Palmar (EP) y un sitio pantanoso llamado arbitrariamente "Yarará Guazú" (YG). La población EP fue seguida a lo largo de 4 años con el objeto de verificar el grado de estabilidad de las frecuencias cromosómicas para cada polimorfismo a lo largo del tiempo. Las frecuencias de todos los polimorfismos en cada año se indican en las tablas 4 (El Palmar) y 5 (Yarará Guazú). Dejando de lado las frecuencias cariotípicas -ninguna de las cuales se aparta significativamente de lo esperado según la fórmula de Hardy-Weinberg- las frecuencias cromosómicas para la fusión 3/6 revelaron ser relativamente estables en la población EP, más allá de leves fluctuaciones (tabla 4a). No puede decirse lo mismo del segmento s_1 (tabla 4b) que muestra una notoria tendencia a incrementar su frecuencia. Un patrón semejante se obtuvo en la población YG,

si bien en este caso sólo se disponen de registros para los años 1986 y 1988 (tabla 5a y 5b). El segmento s_2 se mantiene en baja frecuencia en todos los casos (tabla 4c y 5c). Notablemente, el cromosoma B, que en 1985 y 1986 había mostrado frecuencias altas (en comparación con las poblaciones de la Pcia. de Bs. As.) baja su frecuencia en 1987 y desaparece (al menos de las muestras) en 1988 (tabla 4d). Esto es válido también para YG (tabla 5d).

En los cuatro años de muestreo en el Parque Nacional El Palmar se coleccionaron 167 individuos de *Leptysma argentina*, de los cuales 11 (6.59 %) son portadores del cromosoma B descrito previamente. Las frecuencias de los portadores de los cromosomas B en los distintos cariotipos de la fusión polimórfica 3/6 se distribuyen de la manera que se indica en la tabla 7, donde se nota una menor incidencia proporcional del cromosoma B en los homocigotas de fusión. Si bien el hecho puede ser casual, debido a los bajos números de portadores de B (que precisamente imposibilitaron un análisis estadístico que delimitara la significación de esta desviación), no sería descartable una menor tolerancia de los portadores de la fusión hacia el elemento supernumerario. En la sección 3.1 (Distribución geográfica de los polimorfismos) se hace referencia a la correlación negativa existente entre la frecuencia de la fusión 3/6 y del cromosoma B en distintas poblaciones, lo que constituye otra indicación en el mismo sentido.

3.4. Correlación entre las frecuencias cromosómicas y variables ambientales:

En el apartado anterior se hace referencia al aumento de la frecuencia del segmento s_1 y la desaparición del cromosoma B en 1987 y 1988. Con el fin de comprobar si estas perturbaciones obedecen a cambios del medio, se analizó la relación de la frecuencia de estos polimorfismos con algunas variables climáticas. Se consultaron por lo tanto registros pluviométricos y de temperatura para los años 1985, 1986, 1987 y 1988 de la estación meteorológica de Concordia, que es la más cercana al Parque Nacional "El Palmar" (Tabla 6b); es digno de mención que los años en que se registra un brusco aumento en la frecuencia de s_1 (1987 y 1988) coinciden con

una intensa sequía, que es evidente en los registros pero mucho más en la vegetación. Se consultaron asimismo registros climáticos de otras localidades donde se efectuó colección o, en su defecto, de la estación meteorológica más cercana, según una estadística 1951/1980 del Servicio Meteorológica Nacional (Tabla 6a). A partir de esta indagación pareció evidente una asociación negativa entre los niveles de precipitación en una región dada y la frecuencia de s_1 en esa localidad o sus inmediaciones. Se realizó entonces una correlación entre los valores pluviométricos medios anuales y la frecuencia de s_1 . Para tal fin, a los promedios de las frecuencias cromosómicas de las poblaciones del Parque Nacional "El Palmar" se les asignó los valores de la estación Concordia (distante 45 kms); a los promedios de las poblaciones "zarateñas" (Z, IT y PT) se les asignó los de la estación INTA San Pedro (60 kms) y a RL la de Aeroparque Buenos Aires (50 kms). Es evidente el carácter aproximativo de este estudio, que más pretende hallar indicios que arrojar conclusiones definitivas. Sin embargo, se halló una fuerte correlación negativa entre la frecuencia de s_1 y los valores pluviométricos ($r = -0.8095$), en forma consistente con la asociación hallada anteriormente. También se halló una correlación negativa entre la frecuencia de la fusión 3/6 y la temperatura media anual ($r = -0.8282$) (Tabla 6b).

3.6. Consideraciones generales:

Hasta aquí se ha procurado vislumbrar las causas que pueden conducir al mantenimiento de cada polimorfismo mediante el análisis de sus frecuencias en función de variables geográficas y/o climáticas, o bien a través de las fluctuaciones de las frecuencias cromosómicas y cariotípicas en función del tiempo. De esta manera, se ha hallado un patrón geográfico para las frecuencias de 3 de los 4 polimorfismos: este patrón está dado por un aumento de la frecuencia de la fusión 3/6 hacia el sur y del segmento s_1 hacia el sudoeste, mientras que la frecuencia del cromosoma B se correlaciona negativamente con la de la fusión céntrica (ver mapa); los estudios de las frecuencias cromosómicas en distintas generaciones reveló que la frecuencia de la fusión 3/6 es relativamente estable, que la del s_1 tiende a aumentar

y la del B a disminuir en los 4 años consecutivos en que se analizó la población de El Palmar y en los 2 años (no consecutivos) en que se estudió la población Yarará Guazú.

Los estudios de frecuencias **cariotípicas** mostraron que la frecuencia de los heterocigotas para s_1 , que es alta cuando los individuos realizan la última muda, tiende a disminuir conforme avanza la temporada, mientras que la frecuencia de los homocigotas para la fusión tiende a aumentar en detrimento de las del resto de los cariotipos. Finalmente, la correlación negativa entre índices pluviométricos y la frecuencia del s_1 (en el tiempo y en el espacio) sugieren algún tipo de ventaja selectiva para el segmento s_1 en ambientes más secos. La correlación de la fusión con la temperatura será interpretada luego, a la luz de los efectos de la fusión sobre el **exofenotipo**.

Estos resultados, si bien sugieren que la selección natural podría estar operando en el mantenimiento de los polimorfismos considerados o aun en la determinación de las frecuencias de estos polimorfismos, de ninguna manera son suficientes para demostrarlo. Señala Endler (1987): "(la correlación con factores ambientales) *es probablemente el método más común y más antiguo para la detección de la selección natural en el campo*". Pero también señala: "*Toda área tiene gradientes ambientales en varias direcciones. Si se arrojara un lápiz sobre un mapa, es casi cierto que algunos gradientes ambientales tendrán componentes paralelos al lápiz; sólo los gradientes perpendiculares no tendrán ninguno*". Por lo tanto es claro que la evidencia proveniente de la correlación con variables geográficas y climáticas debería ir acompañada de datos relativos a los posibles **mecanismos de acción de los reordenamientos cromosómicos sobre componentes relevantes de la eficacia biológica (fitness) que puedan contribuir a una explicación causal de estos fenómenos.**

El análisis de los efectos fenotípicos que causan los reordenamientos sería una manera de hacer más preciso el enfoque. Durante mucho tiempo se consideró que los reordenamientos cromosómicos, fuera de los efectos conocidos sobre la mecánica de la meiosis, carecían por completo de manifestaciones fenotípicas. Sin embargo pronto se hicieron

notar los efectos que algunos reordenamientos presentaban sobre la recombinación: ya en 1953 Schultz & Redfield, trabajando con cepas de *Drosophila melanogaster* polimórficas para una inversión en el cromosoma X, habían descubierto que en los heterocigotas se producía un aumento de las distancias de mapa en las regiones que flanqueaban a la inversión. Estos hallazgos concernientes a efectos de reordenamientos cromosómicos sobre la recombinación (revisados por Lucchesi & Suzuki, 1968, y más tarde por Lucchesi 1976) se habían realizado mediante pruebas genéticas (es decir, mediante el análisis de la *descendencia* de los portadores) y la información había quedado de alguna manera circunscripta dentro del ámbito de los genetistas de *Drosophila*. Sin embargo, en el año 1965 los citogenetistas británicos Bernard John y Godfrey Hewitt, trabajando en un ortóptero que presentaba 3 tipos diferentes de cromosoma B (el "truxalino" *Myrmeleotettix maculatus*) hallaron que la presencia de cromosomas supernumerarios aumentaba en forma significativa la frecuencia de quiasmas en los portadores. Esta primera detección de un efecto fenotípico de una mutación cromosómica (John más tarde -1981- acuñaría el término *endofenotipo* para diferenciarlo del *exofenotipo*, o fenotipo visible) fue seguida de una verdadera explosión de hallazgos del mismo tipo que abarrotaron las revistas especializadas (ver revisiones en Hewitt 1979, Jones & Rees 1982, John 1981, 1983, Vilardi 1983). Todos, o al menos la mayoría de los trabajos a los que se hace referencia apuntaban a la misma conclusión: el efecto detectado (el aumento o la disminución o la diferente distribución de los quiasmas) era la causa misma del mantenimiento del polimorfismo detectado, ya fuera éste una inversión, una fusión o diversas formas de heterocromatina supernumeraria. John & Lewis (1966) señalaron que es en esta *función* -vale decir, en el control de la recombinación- donde debía buscarse la *raison d'être* de la variación cromosómica, y acuñaron la expresión "selección retrospectiva" para referirse al caso en que una característica -en este caso, un reordenamiento cromosómico- sea seleccionada por sus efectos sobre la *descendencia*.

Conviene efectuar aquí una pequeña discusión. En el párrafo anterior se ha utilizado -de intento- una

identificación a nuestro entender espuria, esto es, la de un **efecto** con una **función**. Describir un efecto es sostener que determinada alteración (aumento en la frecuencia de quiasmas, aparición de manchas en la piel) está *causada* por un agente (gen, reordenamiento cromosómico); pero afirmar que dicha alteración constituye la **función** de ese agente equivale a invertir los términos: en la terminología evolutiva, equivale a afirmar que la **función** es la **causa final** que determina la presencia del agente (en este caso, es el control de la recombinación lo que "explica" el mantenimiento del polimorfismo). Es posible que entre las causas del mantenimiento de algunos polimorfismos (especialmente las fusiones céntricas y las inversiones) se cuente su propiedad de ser eficaces supresores de la recombinación donde ésta es indeseable, pero la reiterada (e injustificada) pretensión de que **todos** los polimorfismos se explican por sus efectos sobre los quiasmas se parece a una fórmula elegante para desentenderse de un problema incómodo.

3.7. Efectos fenotípicos de los reordenamientos cromosómicos: controversia:

Si bien -como queda dicho- se le ha prestado mucha atención a los efectos de los reordenamientos cromosómicos sobre la recombinación, existe también una tendencia a considerar que los reordenamientos cromosómicos *no presentan* efectos exofenotípicos. John (1983), quien tradicionalmente sostuvo que la razón de ser de la variación cromosómica está en su control sobre la recombinación de los portadores (o, como gusta aclarar, de su *descendencia*), señala con no poco dogmatismo:

"...no se ha hallado evidencia de cambios fenotípicos notables en relación con reordenamientos cromosómicos. Por lo tanto, en ninguna de las poblaciones polimórficas o politípicas de ortopteroides referidas con anterioridad hay indicación alguna de que las diferencias en constitución cromosómica que las caracterizan estén asociadas con algún cambio fenotípico."

Lande (1979), interesado en la neutralidad selectiva de los reordenamientos cromosómicos -gracias a la cual desarrolla un método para estimar tamaños efectivos de demes

durante la evolución tomando como dato la tasa de cambio cromosómico- por su parte sostiene:

"Los reordenamientos autosómicos preservativos del contenido de los cromosomas usualmente no provocan cambios fenotípicos notables, como no sea reduciendo la fertilidad del heterocigota"

Si bien reconoce que:

"Podrían haber excepciones a esta regla en las fusiones robertsonianas que involucren alguna delección de material."

A pesar de lo afirmado anteriormente, es posible que la eventual presencia de cambios fenotípicos producidos por reordenamientos cromosómicos en situación politípica -o aun en distintas especies- quede enmascarada por causas no cromosómicas: es claro que ninguna inferencia puede extraerse a partir de diferencias fenotípicas entre poblaciones o especies que no sólo divergen en algunos reordenamientos cromosómicos sino a veces también en buena parte de su acervo génico. Por el contrario, la situación inversa es muy frecuente, porque es común el caso de especies crípticas que sólo se diferencian entre si por unos cuantos reordenamientos cromosómicos (White 1973, Patterson & Stone 1952). Un cambio fenotípico producido por un reordenamiento cromosómico sólo podría demostrarse más allá de toda duda comparando el fenotipo de distintos cariotipos para un rearrreglo que se encuentre en estado **polimórfico**, dado que sólo en este caso puede suponerse que el trasfondo genético es aleatorio con respecto al rearrreglo. Es cierto, lamentablemente, que estas diferencias no sólo son difíciles de hallar sino que no se buscan, tal vez por la convicción de que los reordenamientos cromosómicos sólo presentan efectos endofenotípicos.

En nuestra búsqueda de efectos fenotípicos de los polimorfismos de *Leptysma argentina* se ha emprendido el estudio tanto del exo- como del endofenotipo, y los resultados de ese estudio se indican a continuación.

4. Efectos exofenotípicos de los polimorfismos cromosómicos de *Leptysma argentina*:

Con el objeto de determinar si la fusión céntrica, el segmento intersticial o el cromosoma B ejercen alguna

influencia sobre rasgos exomorfológicos, se emprendió un estudio morfométrico en ejemplares disecados provenientes de varias poblaciones; este estudio abarcó rasgos fácilmente medibles con un microscopio estereoscópico graduado, tales como longitud total, de tegmina, de fémur, de tibia y de tórax, y la altura del tórax. Como ya se ha señalado anteriormente, podría también interpretarse que las diferencias morfométricas fueran de origen genético o meramente ambiental (distinta temperatura o humedad, distinta alimentación o un acervo génico distinto podrían cómodamente invalidar una conclusión). Por lo tanto se ha buscado en primer lugar efectuar comparaciones *entre cariotipos* pero siempre *dentro de una misma población*; de esta manera los efectos ambientales se suponen uniformes y las diferencias genéticas entre individuos pueden asumirse como aleatorias con respecto al cariotipo (lo que no es válido si se comparan individuos pertenecientes a poblaciones distintas). De esta manera se tiene la seguridad de estar registrando sólo los efectos debidos al cariotipo. Con esa certeza, se procedió luego a efectuar comparaciones *entre poblaciones* con diferentes frecuencias para los polimorfismos (en realidad uno solo: la fusión 3/6).

4.1. Comparaciones *entre cariotipos* y *dentro de poblaciones*:

De las tres poblaciones muestreadas en Parque El Palmar sólo dos reunieron un tamaño muestral suficiente para la realización de pruebas estadísticas: **Arroyo El Palmar (EP)** y **Yarará Guazú (YG)**. Los resultados se indican en la tabla 8. En la primera población se midieron 68 individuos, de los cuales 12 eran homocigotas básicos, 34 heterocigotas y 22 homocigotas de fusión; se halló que los homocigotas de fusión eran en promedio más grandes (largo total=25.78 mm) que los heterocigotas (lt=24.98 mm) y que los homocigotas básicos (lt=25.11 mm) (tabla 8a). En YG se analizaron 42 individuos, y también los homocigotas para la fusión (5 ind., lt=25.28 mm) fueron en promedio más grandes que el resto, sólo que aquí los heterocigotas (23 individuos, lt=25.18 mm) presentaron mayor tamaño que los homocigotas estándar (14 ind., lt=24.54 mm) (tabla 8b); este patrón (es decir, el aproximadamente acumulativo) pareció ser el más común en el

resto de las poblaciones, donde el tamaño muestral no permitió efectuar análisis estadísticos (es decir, LL y RL, porque SF y P son monomórficas) (tabla 9).

En la población PT, sin embargo, si bien no fue posible obtener los tres cariotipos de la fusión (se hallaron sólo dos homocigotas estándar, un número insuficiente para una comparación estadística) se efectuó un análisis de la varianza comparando homocigotas de fusión con heterocigotas; si bien sólo en dos rasgos se obtuvieron diferencias significativas (i.e. largo total y largo de tórax) en todos los casos los homocigotas de fusión presentaron mayor tamaño que los heterocigotas (tabla 8c).

Es por lo tanto evidente que: i) los portadores de la fusión céntrica 3/6 son significativamente más grandes que los no portadores; ii) el efecto parece ser aproximadamente acumulativo (es decir, que se acentúa con un aumento de dosis de la fusión 3/6), si bien esta característica no es constante; iii) Las diferencias de tamaño se registraron entre cariotipos dentro de una misma población, por lo que puede en principio descartarse la incidencia de factores ambientales y/o genéticos; de tal manera, estas diferencias de tamaño pueden ser atribuidas enteramente a la presencia de la fusión 3/6.

4.2. Comparaciones entre poblaciones: correlación de las variables morfométricas con la frecuencia de la fusión 3/6:

Se examinó la correlación entre la frecuencia de la fusión 3/6 y las variables morfológicas medias en las nueve poblaciones. Los resultados de este análisis se resumen en la tabla 9. La correlación con la frecuencia de la fusión 3/6 resultó altamente significativa para todos los caracteres medidos. En la fig. 10 se grafica la longitud media por población vs. la frecuencia de la fusión 3/6 en las poblaciones analizadas. Este resultado es esperado, dado que si la fusión 3/6 produce un aumento de tamaño en los portadores (tal lo demostrado en el punto anterior), a mayor frecuencia de la fusión se derivará un mayor tamaño medio por población.

Sin embargo, es importante destacar un hecho curioso: no toda la regresión de las medidas corporales sobre la frecuencia del cromosoma 3/6 se debe a la diferencia de tamaño *entre cariotipos*; según se puede apreciar en la tabla 9 y es plenamente visible en la fig. 10b, el *tamaño medio por cariotipo por población también se correlaciona positivamente con la frecuencia del cromosoma fusionado 3/6, para los tres cariotipos (en especial los homocigotas de fusión, véase fig. 10b) y para todas las variables*; es evidente que esta correlación (dentro de cariotipos) no es explicable en términos cromosómicos, y pueden ser en cambio atribuidas a factores genéticos o al ambiente. Es posible que la causa de esta correlación *dentro de cariotipos* sea ambiental (la correlación con la temperatura media por año es altamente significativa). Pero si la causa es genética, puede ocurrir que esta diferencia genética sea fortuita (debido a factores estocásticos) o que obedezca a presiones de selección que imponga el medio. En este último caso (presiones de selección en favor de un tamaño incrementado) los individuos de mayor tamaño (por ejemplo los portadores de la fusión 3/6) tendrían una ventaja selectiva. De esta manera, en aquellas poblaciones donde fuera adaptativo un tamaño incrementado se registrarían mayores frecuencias del cromosoma fusionado 3/6, que es lo que se observa. Es tentador atribuir a este efecto la distribución de las frecuencias de la fusión 3/6; falta sin embargo analizar los efectos *endofenotípicos* de los polimorfismos de *L. argentina*, que se examinarán a continuación.

5. Efectos endofenotípicos de los polimorfismos cromosómicos de *Leptysma argentina*

5.1. Efectos de la heterocromatina supernumeraria sobre la frecuencia y posición de los quiasmas:

5.1.1. Efectos del cromosoma supernumerario (B):

Se ha señalado, que en contraste con la constancia de su comportamiento meiótico, los efectos del cromosoma B podían ser variados en su expresión. Bidau & Hasson (1984) observaron formación de univalentes en individuos de *Leptysma argentina* portadores de B. También se notó este efecto en la población de Río Luján; sin embargo, su intensidad varió notablemente entre individuos: mientras que en algunos se observaron unas pocas células con dos univalentes, en otros la mayoría de las células mostraba este fenómeno.

De un total de 73 células analizadas en este último individuo, el II 8 (megamérico) mostró un 13.7% de asinapsis (o desinapsis); el II 9 un 2.8 % y el II 10 una sola célula (1.4 %). Cuando se observaron univalentes por lo general los pares afectados fueron aquéllos con mayor contenido de heterocromatina; el par 8 (megamérico) posee grandes bloques de heterocromatina distal, el 9 posee bloques de heterocromatina intersticial y el II 10 en ese individuo era heteromórfico para el segmento s_1 .

Finalmente, se llevó a cabo un análisis de varianza para comprobar si la presencia del cromosoma B trae aparejada alguna modificación en la frecuencia o la posición de los quiasmas. Si bien la media de los individuos portadores de B fue mayor que la de los individuos no portadores (media no portadores= 12.986; media portadores= 13.582) las diferencias fueron no significativas ($p= 0.14$), aunque este resultado probablemente se deba al escaso número de portadores de B que fueron analizados (5 individuos). Es posible entonces afirmar que, al presente nivel de análisis, el cromosoma B de *Leptysma argentina* carece de efectos significativos sobre la frecuencia de quiasmas.

5.1.2. Segmentos supernumerarios:

En los heterocigotas para S_1 este segmento intersticial puede dividirse ecuacional o reduccionalmente en anafase I, dependiendo de la formación o no de quiasmas proximales en este bivalente. Para comprobar si existe influencia del S_2 (proximal) sobre la posición de los quiasmas en el bivalente 10 de los heterocigotas para S_1 se efectuó un análisis de regresión de las variables: *porcentaje de quiasmas distales vs. dosis del S_2* . Se utilizaron los heterocigotas para S_1 porque el segmento intersticial constituye un marcador de la posición de los quiasmas; se llamaron proximales a aquellos quiasmas que se ubicaron entre el centrómero y el segmento, y distales a los que lo hacían distalmente. De otra manera, hubiera sido dificultoso determinar la posición de los quiasmas con precisión debido a la escasa longitud del cromosoma 10. No se consideraron los homocigotas para S_1 por ser su número insuficiente.

Los heterocigotas para S_1 que no presentaban S_2 mostraron un alto porcentaje de división ecuacional en anafase I, debido a la elevada frecuencia de quiasmas proximales (28.83 \pm 20.49 de distales). Los heterocigotas para ambos segmentos evidenciaron un mayor porcentaje (50.25 \pm 18.79) de quiasmas distales, y este fue mayor aún en los homocigotas para S_2 (72.80 \pm 14.85). Las diferencias resultaron significativas ($p= 0.035$), demostrando que la presencia del segmento proximal altera la posición de los quiasmas en el bivalente heteromórfico 10.

En cuanto a los efectos *intercromosómicos* de los segmentos supernumerarios, se realizaron sendos análisis de varianza con portadores de S_1 y de S_2 . Los quiasmas fueron registrados en metafase I, se analizaron 9 ó 10 células por individuo, y como resultado del análisis no se registraron diferencias significativas entre cariotipos para quiasmas totales, intersticiales, distales ni proximales, excepción hecha de los portadores del S_1 , donde se registró una mayor frecuencia de quiasmas totales y proximales. Se supuso que este aumento podía deberse al mismo bivalente 10, que si bien siempre forma un solo quiasma cuando no lleva segmento, en estado heteromórfico puede formar dos quiasmas. En efecto, al

excluir el II 10 de los análisis las diferencias se convirtieron en no significativas.

5.2. La fusión céntrica 3/6:

Los polimorfismos para fusiones céntricas son escasos en los ortópteros, sobre todo teniendo en cuenta la presencia común de polimorfismos para cromosomas B y segmentos supernumerarios en este grupo (Hewitt 1979, Henriques Gil & al. 1982, Santos & Giráldez 1978, Vilardi 1984, 1985 a, b, Remis & Vilardi 1986) y -en algunas familias- de inversiones pericéntricas (White & Morley 1955, White 1973, Vaio & al. 1979, Goñi & al. 1984, Confalonieri 1988, Confalonieri & Colombo 1989). Estos polimorfismos son también comunes en los roedores (Capanna & al. 1985, Patton & Sherwood 1983, Bianchi & Merani 1981, Reig & al. 1980, Searle 1984, 1986a, b, 1988). Sin embargo, los reordenamientos de tipo robertsoniano han jugado un papel muy importante en la evolución del cariotipo de los ortópteros: se han registrado hasta el presente 22 casos de reducción del número cromosómico sin reducción del número fundamental (Mesa & al. 1982), sin contar al numeroso grupo de la familia Gomphocerinae (ex Truxalinae) que presenta el llamado "cariotipo Chorthippoide" (3 pares metacéntricos y 5 telocéntricos); esta subfamilia comprende 13 géneros posiblemente originados a partir de la misma especie ancestral (John & Freeman 1975; Hewitt 1979; John 1983).

En la superfamilia Acridoidea se han registrado hasta la fecha 4 casos bien documentados de polimorfismo para fusiones céntricas: *Oedaleonotus enigma* (Hewitt & Scroeter 1968), *Leptysmia argentina* (Amoedo 1979, Bidau & Hasson 1984, este trabajo), *Dichroplus pratensis* (Sáez y Pérez Mosquera 1971, Bidau 1984) y *Cornops aquaticum* (Mesa 1956, 1982); en estos dos últimos casos las fusiones céntricas ocurren en varias partes del complemento, determinando la formación de polimorfismos y politipismos en *D. pratensis*.

La dificultad en el establecimiento de un polimorfismo para una fusión céntrica parece provenir de las dificultades que pueden surgir en la orientación y segregación del trivalente en los heterocigotas (Sybenga 1975). En efecto, un trivalente puede mostrar dos configuraciones en metafase I:

alterna o lineal; de ambas, sólo la primera permite la formación de gametas euploides. Si la frecuencia de orientación lineal es alta, se producirá una elevada proporción de gametas aneuploides, lo que disminuirá severamente la fertilidad del heterocigota (White 1973, Hewitt 1979, Sybenga 1975). En tal situación -vale decir, desventaja del heterocigota- el mantenimiento de un polimorfismo es improbable. Si en cambio la frecuencia de orientación alterna es elevada la fertilidad no se altera y por lo tanto es posible el establecimiento de un polimorfismo estable.

Según John y Lewis (1965), los condicionamientos mecánicos que presentan los multivalentes para orientarse en forma alterna son los siguientes: i) los cromosomas involucrados deben presentar tamaños similares; ii) la frecuencia de quiasmas debe ser baja en esos cromosomas, y iii) esos quiasmas deben localizarse en posición distal con respecto al centrómero. Si tales condiciones ya se encontraban presentes en los individuos normales, se dice que los cromosomas involucrados muestran un buen grado de *preadaptación* (entendida como una predisposición favorable para el mantenimiento de un polimorfismo de ese tipo). *Oedaleonotus enigma*, un saltamontes que presenta un polimorfismo para una fusión entre los pares 4 y 5, parece ser precisamente un caso de preadaptación, dado que los quiasmas son predominantemente distales en todos los cromosomas, tanto en los homocigotas básicos como en los heterocigotas o en los homocigotas estructurales (Hewitt & Schroeter 1968).

En el caso de las fusiones céntricas polimórficas que tienen lugar en cromosomas con elevada frecuencia de quiasmas proximales, debería ocurrir una reducción o directamente una supresión de los quiasmas proximales en el trivalente de fusión con respecto a los homocigotas. En *Dichroplus pratensis*, por ejemplo, tanto los homocigotas estructurales como los heterocigotas para las 5 fusiones céntricas polimórficas muestran una fuerte reducción del entrecruzamiento proximal con respecto a los homocigotas básicos, donde la formación de quiasmas es irrestricta (Bidau 1984). Es difícil dilucidar si tal reducción en el entrecruzamiento es debida a un efecto secundario de la

fusión *per se* o a una adaptación a la condición polimórfica, posterior a la aparición del reordenamiento.

Como se ha venido insistiendo con anterioridad, las fusiones céntricas, juntamente con las inversiones para- (en Dípteros) y pericéntricas (en Ortópteros), son consideradas como mecanismos cromosómicos que mantienen libres de recombinación a ciertas regiones del genoma. Con el objeto de comprender mejor el papel que pueden jugar estos reordenamientos en el control de la recombinación, se ha efectuado un estudio comparando los tres cariotipos de la fusión 3/6 de *Leptysma argentina* (homocigotas básicos, heterocigotas y homocigotas de fusión) en función de la frecuencia y la posición de los quiasmas en metafase, tal como se describe a continuación.

5.2.1. Efectos intracromosómicos de la fusión 3/6:

5.2.1.1. Efectos sobre la frecuencia de quiasmas:

Se analizaron 220 células de 17 homocigotas básicos, 609 células de 44 heterocigotas y 942 células de 56 homocigotas de fusión (al menos 9 por individuo) en las cuales se registró la frecuencia de quiasmas en los cromosomas involucrados en el reordenamiento (esto es: los pares 3 + 6 de los homocigotas básicos, el trivalente 3-3/6-6 de los heterocigotas y el par 3/6-3/6 de los homocigotas de fusión), y también la frecuencia total de quiasmas por célula, con el propósito de detectar efectos intracromosómicos de la fusión 3/6. Se demostró que ambas variables eran homogéneas entre las diferentes poblaciones aquí consideradas (tablas 11 y 14) y en consecuencia los datos de las diferentes poblaciones fueron tratados en forma conjunta. Los valores medios de los cromosomas involucrados en la fusión fueron los siguientes: homocigotas básicos: 2.8813 ± 0.1064 ; heterocigotas: 2.0559 ± 0.0152 ; y homocigotas de fusión: 2.0995 ± 0.0203 . En el caso en que la fusión 3/6 produzca una restricción intracromosómica sobre la frecuencia de quiasmas (un requisito *sine qua non* para el mantenimiento del polimorfismo en la población), se espera que el coeficiente de regresión (vale decir, la pendiente) de las **frecuencias de quiasmas en los miembros involucrados en la fusión (Y)** sobre la

frecuencia total de quiasmas de la célula correspondiente (X) sea menor en los portadores de la fusión que en los homocigotas básicos (esto demostraría que el control de la frecuencia de quiasmas en el cromosoma fusionado es *diferente* que en los mismos cromosomas no fusionados, que se consideran como representativos del resto del complemento. Se llevó a cabo un análisis de covarianza (según Snedecor 1956) para comparar los parámetros de regresión entre los tres cariotipos (tabla 12). Las diferencias entre pendientes fueron altamente significativas cuando se comparó a los tres cariotipos (tabla 12, fig. 11); las diferencias entre heterocigotas y homocigotas de fusión fueron también significativas, lo cual sugiere -como parece razonable- que las restricciones son más fuertes en los heterocigotas que en los homocigotas de fusión.

En *Leptysma argentina*, además del bivalente 3/6-3/6 de los homocigotas de fusión, existe otro bivalente metacéntrico: es el par 1, que es el mayor del complemento y que seguramente es resultado de una fusión fijada que cambió el número básico de esta especie de $2n = 23$ o , 24 o (número ancestral para la familia Acrididae) al actual $2n = 21$ o , 22 o. Dado que esta fusión se encuentra fijada y por ende no forma heterocigotas que puedan sufrir no disyunción en anafase I, se encuentra libre de las restricciones señaladas anteriormente. En consecuencia se juzgó útil para los fines de la comparación realizar en este par el mismo estudio que el realizado con la fusión **polimórfica** 3/6.

Se comparó al bivalente 1 con los bivalentes no fusionados 3 y 6 y con el metacéntrico 3/6. Para ese fin se analizaron 1771 células de los mismos 117 individuos del análisis anterior (17 homocigotas básicos, 44 heterocigotas y 56 homocigotas de fusión) y se registraron las frecuencias de quiasmas del bivalente 1, de los bivalentes 3+6 (o trivalente 3-3/6-6 o bivalente 3/6-3/6) y asimismo la frecuencia de quiasmas total; la frecuencia de quiasmas promedio para el II 1 fue de 2.6547 ± 0.1037 .

El análisis de covarianza entre el bivalente 1 y los bivalentes no fusionados 3 y 6 revelaron que: 1) la pendientes no diferían significativamente ($p = 0.8069$) y 2) que la medias ajustadas eran significativamente más altas para el bivalente 1 que para los no fusionados 3+6

($p < 0.001$)(tabla 12). El punto 2) es una consecuencia lógica del mayor tamaño del cromosoma 1 cuando se lo compara con la suma de longitudes de los cromosomas 3 y 6 (Mather 1937). El punto 1) demuestra que el bivalente 1 y los bivalentes no fusionados 3+6 presentan un control semejante de la recombinación, no evidenciando las restricciones que presentaron los elementos involucrados en la fusión 3/6. Esto resulta especialmente claro luego de compararlo con el bivalente fusionado 3/6-3/6 (tabla 12), figura 11). Sin embargo, estas conclusiones que derivan de una comparación entre distintos pares cromosómicos deben ser tomadas con cautela, dado que pares diferentes podrían comportarse de distinta manera.

5.2.1.2. Efectos de la fusión 3/6 sobre la posición de los quiasmas:

Se clasificó a los quiasmas como P, I y D en los cromosomas 3 y 6 (fusionados o no) y en el metacéntrico 1 (ver **Materiales y Métodos, 2.**) Los resultados se muestran en la tabla 13 y en la figura 12. Los valores de ji-cuadrado indican que la frecuencia de quiasmas proximales e intersticiales disminuye en forma significativa en el metacéntrico 3/6, cuando se lo compara con los bivalentes 3+6 de los homocigotas básicos (tabla 13a, fig. 12c); los heterocigotas tienen este patrón aún más marcado (tabla 13a, fig. 12c) y este efecto es también significativo. Se comparó la posición de los quiasmas en ambos metacéntricos de fusión (el 1 y el 3/6); el análisis reveló que la localización de quiasmas en el cromosoma 1 es mucho más libre que en el metacéntrico 3/6, ya que tiene más quiasmas proximales e intersticiales (tabla 13b, fig.12b) que serían del todo intolerables en un metacéntrico en situación polimórfica. Sin embargo, como se notó con anterioridad (Southern 1967a, John & Freeman 1975) el patrón de localización de quiasmas está mucho más restringido en el metacéntrico 1 que en los telocéntricos, tal como resulta evidente a partir de la comparación entre el bivalente 1 y los bivalentes 3 + 6 no fusionados, que presentan más quiasmas proximales e intersticiales (tabla 13c, fig. 12a).

A partir de estos resultados se puede afirmar que: 1) La fusión 3/6 rige un desplazamiento de quiasmas hacia las posiciones distales, estando -como es lógico- más marcado este efecto en los heterocigotas que en los homocigotas de fusión; 2) Los efectos de ambas fusiones (i.e. la fijada y la polimórfica) parecen haber sido diferentes, dado que la distribución de quiasmas es menos restringida en el metacéntrico 1 que en el 3/6. Cabe aquí nuevamente la salvedad de que se están comparando diferentes pares cromosómicos, por lo que las conclusiones deben tomarse con cautela.

5.2.2. Efectos intercromosómicos:

Para este estudio se analizaron 117 células de 18 homocigotas básicas, 498 células de 50 heterocigotas y 589 de 59 homocigotas básicas (10, raramente 9 células por individuo) para obtener su frecuencia total de quiasmas (T), y su frecuencia de quiasmas proximales (P), intersticiales (I) y distales (D). Los datos de diferentes poblaciones revelaron ser homogéneos (tabla 14) y en consecuencia se los trató en forma conjunta. En la figura 13 se representan histogramas de distribución del número de quiasmas para cada variable considerada (T,P,I y D). El análisis de varianza (diseño jerarquizado) demostró diferencias altamente significativas entre cariotipos, evidenciando que la fusión 3/6 produce un notable **decremento** en las frecuencias T, P e I, y un leve **incremento** en la frecuencia D (tabla 15). Este último efecto se debe probablemente a los efectos intracromosómicos descritos en 5.2.1; en efecto, cuando estos cromosomas fueron excluidos en un nuevo análisis (tabla 16) la frecuencia D no mostró diferencias significativas entre cariotipos. Todos estos efectos intercromosómicos de la fusión 3/6 son más marcados en los homocigotas de fusión que en los heterocigotas y, contrariamente a los intracromosómicos, son aproximadamente acumulativos.

5.2.3. Relaciones entre frecuencia y posición de quiasmas:

La fusión céntrica 3/6 tiene influencia sobre la frecuencia de quiasmas y sobre su posición, pero no queda claro si estos efectos son independientes uno de otro o si están causalmente relacionados (vale decir: si la disminución de la frecuencia de quiasmas totales se ve *explicada* por la disminución de la frecuencia de quiasmas proximales no sólo en distintos cariotipos sino *dentro* de un mismo cariotipo). Es sabido que la frecuencia y la posición de los quiasmas se encuentra en gran medida bajo control genético; la pregunta es: ¿los genes responsables del control de la recombinación actuarán de la misma manera que la fusión 3/6 para disminuir la frecuencia de quiasmas totales (verbigracia: disminuyendo la frecuencia de quiasmas proximales e intersticiales) o de alguna otra manera ?

Con el objeto de analizar esta cuestión se obtuvieron los coeficientes de correlación entre distintas combinaciones de las variables T, P, I y D **medias por individuo dentro** de cada cariotipo. Los resultados se indican en la tabla 17. En los 3 cariotipos los valores más altos de correlación (y los únicos altamente significativos, $p < 0.001$) fueron obtenidos entre las variables P y T (correlación positiva) y I y D (negativa). La correlación positiva entre P y T sugiere, por lo tanto, que el control de la frecuencia de quiasmas se ejerce mediante la modificación del número de quiasmas **proximales**; la frecuencia de quiasmas distales es más o menos fija, irrespectivamente de la frecuencia media total de quiasmas que exhiba el individuo. Este hecho es sugestivo, porque la disminución de la frecuencia total de quiasmas que ocurre como efecto inter cromosómico de la fusión 3/6 se produce de la misma manera, esto es, mediante una disminución de la frecuencia de quiasmas proximales (y en menor medida de los intersticiales). Este hecho sugiere que a) La fusión 3/6 actuaría *sobre los genes* que efectúan el control de la frecuencia y posición de los quiasmas, o bien b) La fusión 3/6 operaría *al mismo nivel* que esos genes, es decir, actuando sobre algún factor determinante para el control de la distribución de quiasmas.

Por otro lado, la correlación **negativa** entre I y D puede implicar que un quiasma puede ser distal o bien intersticial,

pero que dos quiasmas raramente coexisten en ambas posiciones; esta interpretación nos remite al concepto de interferencia, que será desarrollado más adelante.

5.2.4. Efectos intra- e intercromosómicos: consideraciones generales:

Los efectos intracromosómicos de la fusión 3/6 de *Leptysma argentina* (vale decir: la fuerte localización distal que se observa en el cromosoma metacéntrico, ya sea que éste se encuentre en homo- o en heterocigosis) eran los esperados para una especie con formación irrestricta de quiasmas con una fusión polimórfica, si ese polimorfismo es estable (ver 5.2.): en efecto, la elevada frecuencia de quiasmas proximales e intersticiales que forman los cromosomas 3 y 6 sin fusionar hubieran sido intolerables en un trivalente que con alta frecuencia debe observar una orientación convergente (en *L. argentina* es del 95%). Sin embargo, con respecto al origen de esta redistribución de quiasmas, pueden mencionarse al menos dos posibilidades: 1) La estricta localización distal en los portadores de la fusión se debería a un efecto directo del reordenamiento sobre la formación de quiasmas (problemas de apareamiento o bien interferencia a través del centrómero) y este hecho afortunado determinaría la viabilidad del polimorfismo, o bien: 2) Esta redistribución sería resultado de una adaptación del cromosoma metacéntrico a la situación polimórfica, conseguida mediante selección contra los heterocigotas con alta frecuencia de quiasmas en el trivalente (éstos serían menos fértiles debido a una alta frecuencia de mala segregación).

Ambas posibilidades tienen sus inconvenientes; en la explicación "seleccionista", es difícil imaginar un mecanismo genético mediante el cual éste pudiera concretarse; por otro lado, no existe en la literatura ningún caso registrado de una fusión céntrica espontánea que produzca automáticamente una redistribución tan acentuada de los quiasmas. Southern (1967b) no observó ningún efecto intracromosómico sobre el patrón de quiasmas en la fusión espontánea M_4/M_6 de *Myrmeleotettix maculatus*; Polani (1972) tampoco halló restricciones quiasmáticas en un heterocigota para una fusión de reciente aparición entre los cromosomas 6 y 15 en *Mus*

musculus; tampoco Vilardi (1984) en un heterocigota para una fusión espontánea 2/3 en *Staurorhectus longicornis* (Orthoptera). Peters (1982) refiere la recurrencia de fusiones céntricas espontáneas en híbridos sintéticos interpopulacionales del pirgomórfido *Atractomorpha similis*, y si bien el autor no se ocupa de los eventuales efectos de estas fusiones sobre las condiciones de los quiasmas, se infiere a partir de las fotografías y del texto que la elevada frecuencia de quiasmas proximales e intersticiales permaneció sin cambio. Teoh & Yong (1983) describen una fusión céntrica espontánea -y comunican efectos intercromosómicos- en el ortóptero chino *Valanga nigrocornis*, pero oblicuamente omiten toda información sobre posibles efectos intracromosómicos. López Fernández & al. (1984) hallan una leve reducción de la frecuencia de quiasmas proximales en el brazo corto del metacéntrico originado por una fusión espontánea entre los pares 5 y 8 de *Chorthippus jucundus*. Finalmente, Remis (1989), estudiando la distribución de quiasmas del trivalente producto de una fusión espontánea entre los acrocéntricos 6 y 7 del ortóptero *Sinipta dalmani*, no halló diferencias significativas al compararlo con sus homólogos no fusionados. Definitivamente, no parece haber aún evidencia de que una redistribución de quiasmas tan marcada como la observada en la fusión polimórfica 3/6 de *L. argentina* pueda darse en un mutante espontáneo. Por otra parte, la hipótesis "seleccionista" también tiene sus inconvenientes: como bien ha señalado el Dr. Bidau (1989) es difícil imaginar un mecanismo genético por el cual pudiera efectuarse esta selección, salvo que los genes responsables de la localización distal estuvieran fuertemente ligados al cromosoma fusionado (lo que, de todas maneras, es posible).

De todos modos, la única manera de saber más allá de toda duda cuál puede haber sido la causa de tal redistribución de quiasmas hubiera sido contemplar *in situ* el surgimiento de la fusión 3/6 y seguir su comportamiento en las primeras generaciones; dado que eso es imposible, la mejor manera de inferirlo sería a través de otra fusión céntrica espontánea en la misma especie. Podría también exigirse que el individuo en que aparezca esta fusión fuera un heterocigota para la fusión 3/6, a fin de comparar mejor

el comportamiento de ambos trivalentes, y también que fuera un mosaico para la fusión espontánea, a fin de poder comparar los distintos folículos de un mismo individuo.

Afortunadamente se halló un individuo con la mayoría de esas características (no era mosaico) entre los 48 ejemplares coleccionados en 1984 junto al Río Luján. La descripción y el análisis de este caso ocupará la sección siguiente.

5.3. Análisis de un mutante espontáneo para una fusión céntrica:

El mutante espontáneo, perteneciente, como ya se dijo, a la colección 1984 de la población Río Luján, era un heterocigota para una fusión entre los pares 5 y 7 del complemento básico (fig. 14) y también era heterocigota para la fusión polimórfica 3/6. Se detectó la presencia de un fragmento en más del 50% de las células (fig. 14c), probablemente resultado del reordenamiento, lo que sugiere que esta fusión se originó realmente en el individuo portador. El fragmento era céntrico y mitóticamente estable; generalmente se lo encontraba libre (fig. 14c) pero podía también ocasionalmente asociarse con la región centromérica del cromosoma 5 sin fusionar (fig. 14d). En profase y metafase I se observaban con claridad dos trivalentes: el formado por la fusión espontánea 5/7 (III 5-5/7-7) y aquél correspondiente a la fusión 3/6 (III 3-3/6-6). La fusión fue hallada en todos los folículos analizados sugiriendo que la mutación abarcó toda la línea germinal.

La orientación del trivalente 5-5/7-7 fue irregular (36% de orientación lineal)(fig. 14e) y mostró una alta frecuencia de quiasmas proximales. La orientación del III 3-3/6-6 en el doble heterocigota fue mucho más regular (3% de orientación lineal), no difiriendo significativamente en este aspecto de los heterocigotas 3/6 no mutantes ($X^2_{(1)}=1.29$; $p=0.25$). Un test de contingencia comparando orientación lineal y alterna en los trivalentes 5-5/7-7 y 3-3/6-6 demostró diferencias altamente significativas ($X^2_{(1)}=12.39$; $p < 0.001$).

Con el propósito de determinar si la fusión 5/7 tuvo algún efecto intracromosómico significativo sobre la frecuencia de quiasmas, se compararon 115 células pertenecientes a 8 individuos no mutantes de la misma

población de Río Luján (RL) y 25 células del doble heterocigota (tabla 18). La correlación entre la frecuencia media de quiasmas en los cromosomas 5+7 sin fusionar y la frecuencia total de quiasmas fue altamente significativa ($r=0.85$; $p=0.002$). Los datos obtenidos a partir del doble heterocigota no se apartan significativamente de la línea de regresión (fig. 15), lo cual sugiere que la fusión 5/7 no tuvo efecto sobre la frecuencia de quiasmas en los elementos fusionados.

Asimismo se analizó el patrón de distribución de los quiasmas; con tal fin se analizaron 113 placas en metafase I correspondientes a 9 individuos no mutantes (que incluían por igual a heterocigotas y homocigotas para la fusión 3/6) y 32 células del doble heterocigota, y sus quiasmas fueron clasificados como P, I y D (tabla 19). Las diferencias entre el mutante y los individuos normales no fueron significativas.

La frecuencia de quiasmas se encuentra por lo general positivamente correlacionada con la longitud cromosómica (Mather 1937, Southern 1967a, Fox 1973). Por lo tanto debería esperarse que la frecuencia de quiasmas en los bivalentes 3+6 sumados sea mayor que en los 5+7. Esto es cierto en el homocigota básico (sin fusión 3/6) ($X^2_{(1)}=24.06$; $p < 0.01$, tabla 20a.i) pero la situación se revierte en el doble heterocigota ($X^2_{(1)}=15.96$; $p < 0.001$), siendo esta vez mayor la frecuencia de quiasmas en el trivalente 5-5/7-7 a pesar de su menor longitud (tabla 20a.ii).

La distribución de quiasmas fue muy similar entre los pares 3+6 y 5+7 en el homocigota básico ($X^2_{(1)}=1.8455$; $p=0.1743$, tabla 20b.i) pero significativamente diferente en el doble heterocigota ($X^2_{(1)}=4.2691$; $p=0.0388$, tabla 20b.ii), teniendo el trivalente 3-3/6-6 una localización más distal. Para evitar números bajos de quiasmas en el test de ji-cuadrado, las clases P e I fueron reunidas (tabla 20 b)(fig. 15).

Los resultados indicados más arriba demuestran -tanto como puede demostrarse- que a una fusión céntrica espontánea no sigue **obligadamente** una fuerte redistribución de quiasmas (complementando los casos citados anteriormente) y, más importante, que esto ocurre en un organismo que presenta una fusión céntrica polimórfica que **sí** produce una fuerte

redistribución de los quiasmas en el trivalente; el hecho de haber podido comparar ambos trivalentes en el mismo individuo elimina posibles interacciones de orden genético. Desde ya, distintas fusiones en cromosomas diferentes podrían ejercer muy diversos efectos en circunstancias distintas; pero no es posible pedir una comparación más ajustada que ésta.

Por otra parte, la fusión que originó el metacéntrico 1 no parece haber tenido efectos intracromosómicos sobre la frecuencia de quiasmas, al menos a este nivel de precisión (pero véase **Resultados 7.3**); en efecto, sólo se notó una ligera diferencia en la posición de los quiasmas cuando se comparó al metacéntrico 1 con elementos no fusionados del complemento. Por supuesto, la validez de esta comparación depende críticamente de la suposición de que todos los cromosomas telocéntricos se comportan de la misma manera, y que los antiguos telocéntricos que dieron origen al metacéntrico 1 también observaban un comportamiento comparable. Si esto es cierto, una posible explicación es que una fusión céntrica fijada no hubiera necesitado pasar por una situación polimórfica muy prolongada. El rearrreglo podría haberse fijado por deriva al azar, pese a una eventual presión selectiva contra el heterocigota; la presencia de conducción meiótica pudo haber favorecido este proceso (la existencia de selección contra el heterocigota determina la formación de un equilibrio inestable que, si las eficacias darwinianas de los homocigotas son iguales entre sí, se encuentra próximo a la frecuencia media 0.5). Sin embargo, Hedrick (1971) demostró que bajos coeficientes de conducción meiótica bastarían para llevar el equilibrio inestable hasta frecuencias muy bajas, que serían las que puede presentar un reordenamiento en su origen. Dado que no conocemos el tamaño de aquellas poblaciones de *L. argentina*, ni la eficacia del heterocigota ni de los homocigotas ni mucho menos el coeficiente de conducción meiótica (si hay tal), resulta claro que esto no es mucho más que un mero ejercicio especulativo, pero nos permite vislumbrar una posible explicación para una diferencia tan pronunciada entre dos cromosomas metacéntricos (uno fijado y el otro polimórfico) en cuanto a la distribución de sus quiasmas.

Aun existe otra posibilidad: que ambos en su origen hubieran sido polimórficos, pero que luego de la fijación del

metacéntrico 1 las presiones selectivas que impedían la formación de quiasmas intersticiales en ese cromosoma hubieran desaparecido. Tal parece ser el caso de *D. pratensis*: Bidau (1989) comparó dos poblaciones en que los metacéntricos 1/2, 3/4 y 5/6 se encontraban fijados y en estado polimórfico, respectivamente. En ésta última, los homocigotas de fusión presentaron una gran restricción en su frecuencia de quiasmas proximales en los bivalentes metacéntricos, mientras que en la población en que las fusiones están fijadas la frecuencia de quiasmas proximales aumentó en forma altamente significativa (Bidau 1988).

5.4. Efectos endofenotípicos de los polimorfismos cromosómicos en *L. argentina*: rasgos generales:

Resulta evidente, a partir de los resultados mencionados anteriormente, que la fusión 3/6 presenta efectos profundos y variados sobre la frecuencia y la posición de los quiasmas en *Leptysma argentina*; estos efectos pueden resumirse como sigue:

- 1) Formación de un nuevo grupo de ligamiento a partir de dos pares cromosómicos que segregaban independientemente (obvio efecto de toda fusión céntrica).
- 2) Supresión de la formación de quiasmas proximales e intersticiales en los cromosomas involucrados en la fusión, lo que produce una disminución abrupta en la frecuencia de quiasmas y su estricta localización distal en estos elementos (efectos intracromosómicos).
- 3) Disminución de la frecuencia de quiasmas totales (T), proximales (P) e intersticiales (I), y ligero aumento de la frecuencia de quiasmas distales (D) en los cromosomas no involucrados en la fusión (efectos intercromosómicos). Estos son más pronunciados en los homocigotas para la fusión que en los heterocigotas, tal como lo revelaron los análisis de varianza entre cariotipos para cada una de estas variables.

En una primera aproximación resulta llamativo que una disminución en la frecuencia de quiasmas totales se explique en su mayor parte por una disminución en la frecuencia de quiasmas proximales e intersticiales, y es válido preguntarse si la variación en la frecuencia de quiasmas *entre individuos* dentro de un mismo cariotipo (variación no atribuible por lo

tanto al efecto de ningún reordenamiento y si a causas genéticas y/o ambientales) se produce de la misma manera. Se observó que la correlación entre P y T es altamente significativa, que entre I y T es significativa y que entre ambas explican la casi totalidad de la variación interindividual en cada cariotipo. La correlación entre D y T no es significativamente distinta de cero, y por el contrario es muy alta y negativa entre I y D. Estos resultados *entre individuos* concuerdan plenamente con los resultados *entre cariotipos*, lo que sugiere que la presencia de la fusión estaría acentuando un mecanismo de control normalmente presente en las poblaciones.

Dado que la fusión 3/6 presenta pronunciados efectos sobre la frecuencia y posición de quiasmas, es de esperar que poblaciones con diferentes frecuencias del cromosoma fusionado también presentarán diferencias en sus frecuencias T, P, I y D medias por población. Un total de 154 individuos pertenecientes a distintas poblaciones fueron analizados para frecuencia y posición de quiasmas; en cada uno se analizaron 10 células en metafase I y se obtuvo para cada variable el valor medio por célula por individuo; en la tabla 21 se representan los valores promediados por población, junto con la frecuencia del cromosoma 3/6 (q). La correlación de T, P e I con la frecuencia de quiasmas fue negativa y altamente significativa; por otro lado, la correlación de D con la frecuencia de la fusión fue positiva y significativa (tabla 21). Los valores de la tabla 21 fueron representados gráficamente en la fig. 17; es digno de notar que, mientras las líneas T y P son casi paralelas entre sí, las líneas I y D son prácticamente imágenes especulares entre sí. Entonces se llevó a cabo un análisis de correlación entre I y D y entre P y T; el grado de asociación fue muy alto en ambos casos: la correlación fue negativa para I y D ($r=-0.988$, $p < 0.001$) y positiva para P y T ($r=0.966$, $p < 0.001$). También es destacable que estas correlaciones (en gran medida explicadas por las diferentes frecuencias de la fusión en cada población) repiten los resultados citados más arriba, correspondientes a *individuos dentro de cariotipos*, donde se asume que las diferencias entre individuos que explican la correlación deben ser en gran medida genéticas.

Cabe preguntarse si este comportamiento descrito para *Leptysma argentina* es una peculiaridad de esta especie, en vista de su inusual grado de variación cromosómica, o bien si existen en estos rasgos ciertas regularidades que son extrapolables a otras especies más o menos emparentadas y que poseen poca o ninguna variación cromosómica. A continuación examinaremos el caso del ortóptero *Cylindrotettix obscurus*, perteneciente también a la subfamilia Leptysminae y portador de un sistema algo complejo de cromosomas B (Confalonieri & Bidau 1986) que revelará, dentro de la diversidad, regularidades fundamentales en el control de la recombinación en esta subfamilia.

6. Control de la recombinación en un organismo con sistema complejo de cromosomas supernumerarios: el caso de *Cylindrotettix obscurus*:

Los cromosomas B son de ocurrencia común entre los ortópteros; este orden comprende más del 50 % de los casos en que se ha comunicado la existencia de elementos supernumerarios en animales, y sólo son superados en este aspecto por las gramíneas (Hewitt 1979, John 1983, Jones & Rees 1982). Sin embargo, esta aparente supremacía puede ser engañosa debido a la atención preferencial que los citogenetistas han dedicado a estos grupos; en efecto, los cromosomas supernumerarios han sido detectados en casi todos los linajes eucarióticos (Jones & Rees 1982).

Se ha demostrado la existencia de varios sistemas supernumerarios que modifican la frecuencia y/o la distribución de los quiasmas en sus portadores (John & Hewitt 1965 a, b, Jones & Rees 1967, Vilardi 1985, Remis & Vilardi 1986). La lista de citas es arbitrariamente corta, dado que la literatura a este respecto es abrumadora (ver revisiones en Jones & Rees 1982, John 1983 para los ortópteros).

Estudios previos en *Cylindrotettix obscurus* (Thunberg) revelaron la presencia de dos tipos de cromosomas B: uno de ellos es un isocromosoma mitóticamente estable y parcialmente heterocromático (Iso B) que forma regularmente univalentes en profase y metafase I, y el otro es un cromosoma telocéntrico (B_{\pm}), mitóticamente inestable cuyo tamaño es comparable al de los miembros más pequeños del complemento (Confalonieri &

Bidau 1986). Estos autores demostraron además que en los portadores de ambos tipos de B la producción de esperma anormal se incrementa con respecto a los no portadores (Confalonieri & Bidau 1986). Nuestro objetivo en el presente estudio es verificar la presencia de efectos sobre la frecuencia y la posición de los quiasmas en *C. obscurus* por parte de ambos tipos de B. Asimismo se buscará establecer paralelismos con los efectos intercromosómicos provocados por la fusión céntrica 3/6 observados en *Leptysma argentina*, a fin de determinar afinidades y diferencias en el control de la recombinación (se trata de dos especies evolutivamente próximas entre sí) y el modo en que los polimorfismos cromosómicos operan cambios sobre esos patrones.

6.1. Los cromosomas supernumerarios de *Cylindrotettix obscurus*:

Veintiocho (32.18 %) de una muestra de 87 machos eran portadores de algún cromosoma B adicional al complemento básico ($2n=22+X0/XX$)(fig. 18). Entre los portadores, siete (8.04 %) llevaban un solo cromosoma Iso B (figs. 18,19,20), uno (1.26 %) llevaba dos Iso Bs y cinco (5.75 %) llevaban ambos tipos de B. Sólo un individuo (1.26 %) tenía dos Iso Bs y un número variable de Bes. Esta información está resumida en la tabla 22.

La morfología y el comportamiento meiótico del complemento normal y de los cromosomas B ya fueron descritos previamente (Confalonieri & Bidau 1986). El Iso B es submetacéntrico (fig. 18) y forma siempre un univalente en anillo cuando está presente en simple dosis. Con respecto al Iso B, es conveniente intercalar una breve digresión; según Darlington (1937) un isocromosoma es un cromosoma con brazos homólogos, genéticamente idénticos y que son imágenes especulares uno de otro (Rieger & al. 1968). Es claro entonces que el Iso B de *C. obscurus* no es un isocromosoma en sentido estricto, si bien puede haberse originado a partir de uno por alguna inversión pericéntrica, delección o duplicación que habría modificado su morfología originalmente metacéntrica hasta dar el submetacéntrico que vemos ahora. Sin embargo, dado que su comportamiento es el de un

isocromosoma (se aparean consigo mismo y forman univalentes en anillo) en el presente trabajo se lo mencionará como **Iso B**.

En el presente estudio se observaron además dos machos portadores de dos **Iso Bs**; en un individuo, ambos **Iso Bs** se apareaban normalmente en paquitene (fig. 19b) y formaban un bivalente con dos quiasmas (fig. 19c). El otro individuo con 2 **Iso Bs** era portador además de 1 hasta 3 **B_{es}** (fig. 20d,e). Cincuenta y seis entre 108 placas metafásicas de este individuo (51.8 %) presentaron dos univalentes en anillo (fig. 19d), 11 (10.2 %) mostraron un univalente abierto, y las restantes 43 (39.8 %) llevaban un bivalente abierto. La frecuencia de formación de univalentes B en este individuo no difería significativamente en folículos con 1, 2 o 3 **B_{es}** (57.1, 48.7 y 63.6 % de formación de univalentes en anillo, respectivamente). Diecisiete entre 28 placas metafásicas II (60.7 %) analizadas tenían un **Iso B**, 5 (17.8 %) dos y 6 (21.4 %) ninguno.

6.2. Efectos de los Iso Bs sobre la frecuencia de quiasmas y sobre la posición:

Se analizaron 12 portadores de **Iso B** y 58 no portadores de ningún **B** y se computaron sus frecuencias de quiasmas T, P, I y D con el fin de detectar posibles efectos del **Iso B** sobre alguna de estas variables. Con este fin se llevó a cabo para cada variable un análisis de varianza de diseño jerarquizado. Los **Iso Bs** mostraron una frecuencia de quiasmas totales (T) significativamente mayor ($p < 0.001$); esta diferencia está enteramente explicada por un incremento en la frecuencia media de quiasmas proximales (P), que es también altamente significativo. Ningún cambio significativo fue detectado en la frecuencia de quiasmas intersticiales (i) y distales (D) (tabla 23). La logvarianza se incrementó en los portadores de **Iso B** pero no en forma significativa ($p=0.12$). Aunque los efectos sobre la frecuencia de quiasmas parecieran ser aproximadamente aditivos (tabla 23) el bajo número de individuos portadores de 2 **Iso Bs** impidió su tratamiento estadístico por separado y en consecuencia todos los portadores de **Iso Bs** fueron tratados en forma conjunta.

6.3. Efectos de los B_{es} sobre frecuencia y posición de los quiasmas:

No es ésta la primera vez que se comunican efectos de dosis (es decir, acumulativos) de cromosomas B sobre la recombinación; ya Jones & Rees (1967) los habían detectado en plantas, y Remis & Vilardi (1987) en *Dichroplus elongatus*, un ortóptero. Para su detección en *Cylindrotettix obscurus* se siguió fielmente el método empleado en este último trabajo: se registraron las frecuencias de quiasmas (en este caso T, P, I y D) en todos los individuos donde se detectó variación en el número de B_{cs} (ver tabla 22) (exceptuando los individuos que además eran portadores de Iso Bs), y para descartar la variación individual los datos fueron transformados en desviaciones estandarizadas con respecto a la media y por fin reunidos (Remis & Vilardi 1987). Los datos medios transformados se representan en la tabla 24. Sólo se obtuvieron diferencias significativas entre datos transformados para las variables T ($p=0.002$) y P ($p=0.02$). En este último caso, los valores disminuían de 0 a 1 B_{cs} y luego aumentaban en forma acumulativa paralelamente al aumento en el número de dosis de B_{cs} (fig. 21a). Aproximadamente el mismo patrón -si bien no tan evidente- se notó para los valores de quiasmas totales (fig. 21b). Se aplicó entonces un análisis de regresión, siempre siguiendo el método desarrollado por Remis & Vilardi (1987), para el intervalo 1-6 B_{cs} en ambas variables. La regresión fue positiva y altamente significativa en ambos casos (T: $p < 0.001$ y P: $p=0.002$) (tabla 25).

6.5. Efectos de interacción:

En cinco individuos (ver tabla 22) se encontraron ambos tipos de B. Todos contenían un número variable de B_{cs} . A pesar de los efectos mencionados previamente, la frecuencia total de quiasmas tendía a *descender* marcadamente paralelamente al incremento de B_{cs} en esos individuos (tabla 22). Con el propósito de evaluar la significación de esas diferencias, los datos fueron transformados como en c) y luego reunidos; los datos transformados se muestran en la tabla 27. Se detectó una clara tendencia hacia frecuencias de quiasmas T y P decrecientes, si bien las diferencias no fueron significativas (tabla 26). Se llevó a cabo entonces un

análisis de regresión según lo indicado anteriormente para el intervalo 0-4 B_{4s} ; la regresión fue significativa y negativa para los quiasmas proximales ($p=0.028$) mientras que los quiasmas totales mostraron una significación fronteriza ($p=0.07$) (tabla 26). El efecto de los B_{4s} sobre la frecuencia de quiasmas fue otra vez similar para los quiasmas totales y proximales (fig. 22).

Junto con el decremento de la frecuencia de quiasmas, se notó un aumento de la frecuencia de univalentes (tabla 28). En los individuos normales la ocurrencia de univalentes es rara o nula; por el contrario, en los portadores de Iso B + B_{4s} conjuntamente, se notó un notorio incremento en la frecuencia de univalentes, excepto en el portador de 2 Iso Bs (en el cual, como se recordará, la frecuencia de quiasmas era muy alta) (tabla 22).

6.6. Relaciones entre frecuencia y posición de quiasmas:

Repitiendo lo ya actuado para el caso de *Leptysma argentina*, se realizaron análisis de correlación entre diferentes combinaciones de las variables T, P, I y D medias por individuo en 58 machos sin B (tabla 29). Otra vez como en caso de *L. argentina*, las únicas correlaciones altamente significativas ($p < 0.001$) fueron para P vs. T ($r=0.71$), I vs. P ($r=-0.45$) y I vs. D ($r=-0.79$).

=====

Tal como se señaló previamente, el efecto de los cromosomas B sobre la frecuencia, posición y/o varianza del número de quiasmas ha venido a ser uno de los efectos más frecuentemente informados como manifestación fenotípica de esos elementos (John & Hewitt 1965 a, Jones & Rees 1982). Sin embargo ha quedado claro que no hay regla respecto del tipo de efecto que ellos pueden ejercer sobre el fenotipo; es más, si puede hablarse de una "regla", es que no hay regla en absoluto. Efectos de dosis fueron descritos previamente en maíz (Chang & Kikudome 1974, Jones & Rees 1982) y *Listera* (Vosa & Barlow) entre los vegetales, y -como ya se ha repetido- en *Dichroplus elongatus* (Remis & Vilardi 1987) en los ortópteros. En los machos de *Myrmeleotettix maculatus* se observaron dos tipos de B que incrementan la frecuencia de

quiasmas de manera significativa si bien no fue evidente ningún efecto de dosis (John & Hewitt 1965 a, b). Sin embargo, en las hembras de la misma especie se detectó un incremento progresivo de 0 B a 1 B a 2 B (Hewitt 1976).

En *Cylindrotettix obscurus* ambos tipos de B aumentan la frecuencia de quiasmas en forma aproximadamente acumulativa, si bien este patrón no es tan claro en el caso de los B_{es}. Como en el caso de la fusión 3/6 de *L. argentina* (pero en sentido inverso, porque los B de *Cylindrotettix* **aumentan** la frecuencia de quiasmas mientras que la fusión de *Leptysma* la **disminuye**) toda la variación en número de quiasmas totales se ve explicada por una variación en número de quiasmas proximales. Otra vez, como en el caso de *L. argentina*, el efecto de un polimorfismo cromosómico sobre los quiasmas imita el efecto, más gradual, de la variación interindividual dentro de la misma categoría cariotípica (la frecuencia de quiasmas totales está correlacionada con la de proximales en ambos casos). En ambos casos, por ende, debe inferirse que cada polimorfismo cromosómico estaría reforzando un proceso que es el que normalmente controla la frecuencia de quiasmas.

Dejaremos de lado las peculiaridades de *C. obscurus* y de su complejo sistema de cromosomas supernumerarios; bástenos recalcar que éste parece ser el único caso de dos cromosomas B cuya interacción produce exactamente el efecto contrario que por separado (recordaremos asimismo que la formación de univalentes ya había sido descrita como un efecto del cromosoma B de *L. argentina*, cuyo aspecto presenta una llamativa semejanza con cada uno de los brazos del Iso B de *Cylindrotettix*; recordaremos también que ambas especies están filogenéticamente muy próximas y que ambos cromosomas B parecen ser muy antiguos a juzgar por su distribución). Lo que nos ocupa en este trabajo es el notorio paralelismo en el comportamiento quiasmático de las dos especies, lo que nos lleva a pensar en modos semejantes de controlar la recombinación y en definitiva en un mecanismo común de formación de los quiasmas. Se buscó la explicación de este comportamiento en base a un modelo conocido de formación y distribución de quiasmas, que es el **modelo de formación secuencial de quiasmas** (Mather 1937), modificado por Henderson (1963) y Fox (1973) y que es el que se explica someramente a continuación.

7. Estudio de la distribución de quiasmas en *L. argentina*:

7.1. Modelo de formación secuencial de quiasmas (Mather, 1938):

Los estudios de distribución de quiasmas fueron iniciados por Mather (1936, 1937), quien en base a una serie de trabajos en los que analizó la relación largo cromosómico/frecuencia de quiasmas en varias especies y a la distribución de los eventos de entrecruzamiento en *Drosophila*, sugirió que la formación de los quiasmas sería secuencial a lo largo de los bivalentes, comenzando a partir de un punto fijo que podría ser el centrómero. La distancia entre el punto de iniciación y el primer quiasma fue denominada **distancia diferencial** ("d"); la distancia entre el primer quiasma y el siguiente -y entre los quiasmas subsiguientes- fue llamada **distancia de interferencia** ("i"), y a la longitud de cromosoma remanente se la llamó **distancia residual** ("r"). Es destacable que Mather, además de proponer que la formación de quiasmas sería secuencial, no avanzó ningún *mecanismo* de formación de quiasmas; en consecuencia, las distancias "d", "i" y r de Mather pueden ser consideradas como conceptos descriptivos, y no implican ningún mecanismo determinístico en particular (Jones 1987). En un estudio diseñado para poner a prueba la hipótesis de Mather, Henderson (1963) mapeó la distribución de quiasmas en diplotene en la langosta *Schistocerca gregaria*, una especie con todos sus cromosomas telocéntricos. El patrón de distribución condujo a Henderson a plantear que en esa especie la formación de quiasmas procedería desde el **telómero** hacia el centrómero, si bien en algunos casos podría hacerlo a partir de ambos extremos simultáneamente. Fox (1973) reexaminó el caso de *Schistocerca* y propuso que la formación de quiasmas sería secuencial desde el telómero hacia el centrómero, porque en los pares medianos, que en general son monoquiasmáticos, el único quiasma se localiza distalmente; también propuso que las posiciones de los quiasmas subsiguientes se encontrarían limitadas solamente por la interferencia. Otros estudios, realizados en ortópteros (Shaw & Knowles 1976, Laurie y Jones 1981, Coates & Shaw 1982), en

oocitos de ratón (Maudlin & Evans 1980) y en espermatoцитos humanos (Hultén 1974) han interpretado sus resultados en términos del modelo secuencial de Mather, y todos (exceptuando solamente a Coates & Shaw 1982) proponen a los telómeros, más que a los centrómeros, como puntos de origen de la secuencia. Todos, sin excepción, asignan a la interferencia un papel preponderante en la regulación de la posición de los quiasmas.

En las secciones precedentes se ha tratado de obtener la mayor información posible acerca de los efectos que provocan las variaciones cromosómicas sobre la recombinación en las especies *Leptysma argentina* y *Cylindrotettix obscurus*, ambas pertenecientes a la subfamilia Leptysminae. En ese estudio se determinó que existe cierta regularidad en el patrón de distribución de quiasmas, en la variación entre individuos e incluso en los efectos que provocan los cambios cromosómicos sobre este patrón. El modelo de formación secuencial de quiasmas brinda una herramienta útil para interpretar en forma coherente y sencilla estos resultados y para realizar predicciones que puedan ser corroboradas o rechazadas. Los resultados anteriores fueron entonces interpretados en términos del modelo de Mather, de la siguiente manera:

- 1) La formación de quiasmas en *L. argentina* y *C. obscurus* comenzaría a partir del extremo telomérico; esto explicaría: I) la preponderancia de quiasmas distales en los bivalentes con un solo quiasma, y II) la falta de correlación entre las frecuencias D y T, dado que si todos los bivalentes tienen al menos un quiasma, y si ese único quiasma es generalmente distal, se sigue que la frecuencia de quiasmas distales debe ser aproximadamente constante.
- 2) Si la distancia diferencial ("d") varía ligeramente entre células y/o entre individuos, en algunos casos la posición del primer quiasma podría ser intersticial en vez de distal; esto explicaría la correlación negativa entre I y D.
- 3) La posición del segundo quiasma estaría condicionada por la interferencia quiasmática. Este quiasma podría incluso no formarse si la distancia de interferencia ("i") fuera más larga que el resto de la longitud del bivalente; por lo tanto, la frecuencia de quiasmas de un

bivalente dependerá tanto de su largo total como de la distancia de interferencia ("i"). Dado que ese segundo quiasma se encuentra por lo general en posición proximal, si la distancia "i" varía entre células y/o entre individuos, la frecuencia total de quiasmas se correlacionará positivamente con la frecuencia de quiasmas proximales, que es lo que se observa en *L. argentina* y *C. obscurus*. Se postula en consecuencia que:

- I) La frecuencia de quiasmas en estas especies se hallaría regulada genéticamente por la variación en la intensidad de la interferencia: esta intensidad se pondría de manifiesto en "distancias de interferencia" ("i") incrementadas;
- II) La distancia diferencial ("d") varía entre individuos y aun entre células de un mismo individuo, pero no sería determinante para el control de la frecuencia de quiasmas.
- III) En el caso de *L. argentina* la fusión céntrica 3/6 provocaría un incremento de la distancia de interferencia ("i"), y el cromosoma Iso B de *C. obscurus* un decremento. Esto explicaría el paralelismo entre el control no cromosómico de la frecuencia y la distribución de quiasmas y los efectos de ambas variaciones cromosómicas.
- IV) Nuevamente en el caso de *L. argentina* los efectos intracromosómicos de la fusión 3/6 serían en gran medida independientes de los efectos intercromosómicos. Dado que la estricta localización distal en el trivalente favorece la orientación alterna del mismo - que es la única que puede producir gametas viables - se ha postulado que los efectos intracromosómicos serían el resultado de selección a favor del mantenimiento del polimorfismo, en la suposición de que éste podría resultar adaptativo.

Teniendo en cuenta que los estudios sobre frecuencia y posición de quiasmas descritos hasta el momento fueron llevados a cabo en metafase I y sin diferenciar un bivalente de otro (a excepción de los cromosomas involucrados en la fusión 3/6 de *L. argentina*) esta interpretación es totalmente conjetural. Por lo tanto se utilizó el diseño experimental

cuyos detalles se señalan en **Materiales y Métodos** a fin de poner a prueba esta hipótesis en una de estas especies. Se eligió *Leptysma argentina* debido al particular interés que presenta el polimorfismo para la fusión céntrica; los resultados de este estudio se brindan a continuación.

7.2. Distribución de quiasmas en *Leptysma argentina*:

7.2.1. Distancia de interferencia:

Dado que las frecuencias T, P, I y D presentan una variación altamente significativa entre individuos (ver arriba), en el análisis de la distancia de interferencia entre cariotipos se procuró controlar la variación debida a diferencias individuales mediante el uso de un diseño estadístico adecuado (ANOVA jerarquizado). Las diferencias entre individuos fueron en todos los casos no significativas y en consecuencia, dentro de cada cariotipo, se reunieron los datos pertenecientes a distintos individuos. De los 9 cromosomas -o brazos cromosómicos- que pueden formar dos quiasmas (el 9 y el 10 forman normalmente uno solo), 6 mostraron el patrón esperado, esto es, una distancia "i" incrementada en los heterocigotas y más aún en los homocigotas de fusión. Estos cromosomas son: los telocéntricos 2, 5, 4 y 7 (significativos al 0.1, 1, 5 y 10%, respectivamente) y los brazos 1L y -/6 (significativos al 5%) (tabla 30). En los brazos 1C y 3/- la distancia "i" aumenta en los heterocigotas pero vuelve a bajar en los homocigotas de fusión, mientras que el cromosoma 8 se comporta a la inversa; en todos estos casos las diferencias no son significativas (tabla 30).

7.2.1.2. Relación de la " distancia de interferencia" ("i")
con la longitud cromosómica:

En otras especies de ortópteros donde se estudió la distribución de quiasmas se observó una correlación entre la distancia "i" y el largo cromosómico (Southern 1967a, Fox 1973). Esta correlación también se comprobó en *L. argentina*, en los tres cariotipos para la fusión; se observa asimismo que los portadores de la fusión tienden a presentar mayores distancias "i" (fig. 23). El análisis de la covarianza (utilizando al largo cromosómico como variable concomitante) reveló diferencias significativas entre las rectas de regresión (tabla 31), pudiendo por lo tanto afirmarse que la fusión 3/6 produce un incremento generalizado de la distancia "i", tal como se postuló anteriormente.

La correlación entre la distancia "i" y el largo cromosómico ha sido interpretada en forma diversa por distintos autores, lo que implica una concepción divergente de la forma en que operaría la interferencia quiasmática. Henderson (1963) y Southern (1967a) sostenían que la distancia "i" determina dónde ha de formarse el segundo quiasma, estando "i" distribuida normalmente y caracterizada en consecuencia por una media y una varianza. Desde este punto de vista, entonces, la correlación distancia "i" vs. longitud cromosómica se debería a que la interferencia operaría con diferente intensidad según la longitud de los cromosomas.

Por el contrario, Fox (1973) sostuvo que la interferencia operaría determinando dónde no se ha de formar el segundo quiasma, y ésta sería la distancia que se distribuya normalmente; la longitud de la región donde está impedida la formación de un nuevo quiasma (esto es, donde la interferencia es completa) puede ser inferida a partir de las distancias "i" mínimas. Por su parte, las distancias "i" máximas estarán condicionadas por una serie de factores, entre ellos la posición del primer quiasma y la longitud remanente del cromosoma (Fox 1973). En *Schistocerca gregaria* la distancia "i" mínima es constante para todos los cromosomas, irrespectivamente del largo cromosómico (Fox 1973); según la explicación de Fox, esta correlación se debería a que la longitud remanente es mayor en los cromosomas más largos. De este razonamiento surge que "distancia

de interferencia" es un mal nombre para la distancia entre dos quiasmas, dado que dependería no sólo de la interferencia quiasmática sino también de otros factores. De todos modos se seguirá hablando de "distancia *i*" por razones históricas.

En la figura 24 se representó en forma de histograma la distancia "*i*" versus el largo cromosómico para cada bivalente (o brazo) en *Leptysma argentina*; la distribución de la distancia "*i*" observada en los histogramas varía mucho entre los distintos cromosomas, y en todos los casos la dispersión difiere bastante de una distribución normal. Por otra parte, las distancias "*i*" mínimas dentro de cada cariotipo son aproximadamente constantes, son mayores en los heterocigotas que en los homocigotas básicos y se incrementan aún más en los homocigotas de fusión, como puede apreciarse en la figura 24; este hecho parece confirmar la hipótesis de que el aumento de la distancia "*i*" media señalado en 7.2.1. se corresponde con un real incremento de la interferencia quiasmática.

7.2.2. Distancia diferencial:

Si bien la hipótesis enunciada en 7.1. no le otorgaba a la distancia diferencial "*d*" ningún papel en la determinación de la frecuencia de quiasmas, es de interés comprobar si una distancia "*i*" incrementada se corresponde con distancias diferenciales ("*d*") menores -lo que indicaría que los quiasmas tienden a distribuirse a distancias iguales con respecto a ambos extremos- o bien si "*d*" es independiente de "*i*". Los resultados favorecen la primera posibilidad (tabla 32). Dentro de cada cariotipo, las distancias "*d*" son menores en los metacéntricos que en los acrocéntricos y, dentro de cada par, mucho menores en los bivalentes con dos quiasmas que en los que tienen un solo quiasma. Cuando se compararon los 3 cariotipos, se observó una tendencia generalizada hacia una disminución de "*d*" en los heterocigotas, acentuada en los homocigotas de fusión. Las únicas excepciones a este patrón fueron el brazo 1L y nuevamente el cromosoma 8. En el resto las diferencias fueron significativas al 0.1% (3, 6 y 2), al 5% (1C, 1L, 5 y 7) o directamente no significativas (9 y 10). Es notable también la disminución de la distancia diferencial que se observa en los cromosomas 3 y 6 como consecuencia de la fusión (tabla 32), debido a la fuerte localización distal.

La correlación de la distancia "d" con la longitud cromosómica fue no significativa para homocigotas básicos y heterocigotas ($r = 0.13$ y $r = -0.22$) y fue en cambio significativa y negativa para los homocigotas de fusión ($r = -0.75$). Este hecho parece tener que ver con una creciente localización distal (=menores distancias "d") en los cromosomas metacéntricos, que son además los más largos.

En resumen, puede afirmarse que la hipótesis que se avanzó resiste con éxito la evidencia suministrada por las distancias "i" y "d". En efecto, se nota una mayor distancia "i" en los portadores de la fusión -mayor aún en los homocigotas de fusión que en los heterocigotas- acompañada por una disminución en la distancia diferencial; el incremento en la distancia "i" explicaría por lo tanto la menor frecuencia de quiasmas totales, intersticiales y proximales en los portadores de la fusión, dado que en algunos casos habría segundos quiasmas que no llegarían nunca a formarse. De ser cierto esto, en los portadores de la fusión tendría que haber una disminución de la frecuencia de quiasmas en todos los bivalentes, y esta disminución tendría que ser mayor cuanto menor sea la longitud del cromosoma. Esta evidencia se analizará a continuación.

7.3. Evidencia a partir de los histogramas de distribución de quiasmas:

En las figs. 25, 26, 27, 28, 29, 30 y 31 se representan los histogramas de distribución de quiasmas en cada uno de los cromosomas de *L. argentina* para cada cariotipo (homocigotas estándar, heterocigotas y homocigotas de fusión), en los bivalentes con 1 y 2 quiasmas hasta el cromosoma 6, inclusive. Los resultados de 5.1 y 5.2 se reflejan aquí en forma clara, resultando evidente una mayor localización proximal-distal de los quiasmas en los portadores de la fusión 3/6. Esto resulta particularmente evidente en el cromosoma 2, donde el aumento de la distancia "i" se evidencia en un corrimiento de los quiasmas proximales hacia las regiones centroméricas. El mismo patrón se repite en los pares medianos (con excepción de los cromosomas 3 y 6). En éstos la caída en la frecuencia de quiasmas es tan abrupta que no puede explicarse por el aumento en la

distancia "i", dado que cromosomas más cortos (4, 5 y 7) presentan mayores frecuencias de quiasmas. Esto también resulta coherente con lo expresado en 7.1. (iv): los efectos intracromosómicos de la fusión 3/6 no serían producto del aumento de la distancia "i", sino que tendrían un origen independiente.

Tal como se mencionó anteriormente, la hipótesis de trabajo -es decir, que la disminución de la frecuencia de quiasmas en los portadores de la fusión 3/6 se debe a un aumento en la distancia "i"- predice que los mismos cromosomas mostrarán menores frecuencias de quiasmas en los heterocigotas y en los homocigotas de fusión que en los homocigotas básicos. Sin embargo, en la tabla 33, donde se muestran las frecuencias medias de quiasmas en cada cromosoma para cada cariotipo, se observa que no existen prácticamente diferencias en las frecuencias de quiasmas entre cariomorfos para ningún cromosoma telocéntrico -que es, precisamente, donde se observaron aumentos significativos de la distancia "i"-, sino que las diferencias se acumulan en el cromosoma 1, donde las diferencias entre cariotipos para la distancia media "i" fueron débilmente significativas, o no significativas (véase tabla 30). Por supuesto, la mayor parte de la diferencia en la frecuencia de quiasmas está dada por los fusionados 3 y 6 (tabla 33). Evidentemente la hipótesis original, tal como está presentada, resulta insuficiente.

¿De qué manera puede explicarse entonces que una distancia "i" incrementada en promedio no dé como resultado una menor frecuencia de quiasmas, como cabría esperar a partir del modelo secuencial? Como se recordará, paralelamente con un aumento de la distancia "i" se producía un decremento en la distancia diferencial, lo que da como resultado el mismo número de quiasmas pero ahora distribuidos según un claro patrón proximal-distal, como puede observarse en los histogramas. De acuerdo con la hipótesis original, si se grafica la frecuencia de quiasmas en función del largo cromosómico deberían observarse tres líneas aproximadamente paralelas (fig. 32a) representando, de arriba hacia abajo, a los homocigotas básicos, a los heterocigotas y a los homocigotas de fusión. El mismo gráfico con los datos reales, sin embargo, da un patrón totalmente distinto: en la fig. 32b (donde se representaron por separado las rectas de los

metacéntricos y la de los telocéntricos) se advierte que, en estos últimos, las líneas no sólo son paralelas sino que se superponen, como si la fusión 3/6 no hubiera tenido el menor efecto. Es en los metacéntricos, sin embargo, donde se advierten notables diferencias; no sólo el metacéntrico 1 de los homocigotas básicos forma una recta por debajo de la de los telocéntricos (un efecto análogo fue detectado por Southern 1967a, en ortópteros con algunos cromosomas metacéntricos) sino que la presencia de la fusión 3/6 provoca una abrupta caída en la frecuencia de quiasmas de ambos metacéntricos (figura 32b). Un comportamiento semejante -como ya se dijo, análogo también a lo observado por Southern (1967a) en los cromosomas metacéntricos de varias especies de "truxalinae" (ahora Gomphocerinae)- se esperaría sólo en presencia de interferencia a través del centrómero, que no se consideró en un primer momento y que se analizará a continuación.

7.4. Interferencia a través del centrómero:

Tal como se indicó en la sección previa, trabajos anteriores descartaron la existencia de interferencia a través del centrómero en los ortópteros; Southern (1967a) pretendió demostrar su inexistencia mediante procedimientos estadísticos que discutiremos luego, en tanto que autores posteriores (Arana & al. 1980, Colombo 1987, 1989a, por citar algunos) lo dieron como un supuesto universalmente cierto para los ortópteros y no discutieron su validez. Sin embargo, la operación de interferencia a través del centrómero ha sido sugerida en varios organismos, como *Culex pipiens* (Callan & Montalenti 1947), *Dicranomyia trinotata*, *Forficularia auricularia* y *Asellus aquaticus* (John & Lewis 1965) y posteriormente en el ortóptero *Chorthippus brunneus* (Laurie y Jones 1981), donde ha resultado aparente que la posición de un quiasma en un brazo influenciaría la posición de otro quiasma en el otro brazo. Southern (1967a), con el objeto de saldar esta controversia -al menos para el caso de los ortópteros- realizó estudios de correlación en el inmejorable material que proporcionan los ortópteros "truxalinos" (*Chorthippus* y especies relacionadas) que presentan el así llamado cariotipo "Chorthippoide", esto es,

tres pares metacéntricos y 5 telocéntricos, más el cromosoma X. Con tal objeto, Southern (1967a) realizó estudios de correlación entre la frecuencia de quiasmas de un brazo y la frecuencia de quiasmas en el otro brazo; una correlación negativa, al decir de Southern, sería indicativa de interferencia a través del centrómero. Los resultados fueron erráticos, dando en algunos cromosomas de algunas especies (estudió cuatro) un coeficiente de correlación (r) positivo, en otros negativo, pero en ningún caso fue el r significativo. Southern (1967a) concluyó por lo tanto que no existe interferencia a través del centrómero, al menos en estos organismos.

De acuerdo con nuestro criterio, sin embargo, el análisis de Southern (1967a) resulta insuficiente; en efecto, si fuera cierto que en las especies que estudió este autor la distancia "i" está negativamente correlacionada con la frecuencia de quiasmas, y esta frecuencia depende *solamente* de la interferencia, entonces sólo cabe esperar correlaciones *positivas* entre el número de quiasmas de un brazo y el otro; en el peor de los casos, esto es, una pobre asociación entre el número de quiasmas y la distancia "i", se esperarán correlaciones que serán también pobres. La mejor manera de comprobar si existe interferencia a través del centrómero es, a nuestro entender, verificando la existencia o no de correlaciones entre la **distancia residual de un brazo** y la **distancia residual del otro** (como se recordará, la distancia residual ("r") era la que mediaba entre el centrómero y el quiasma más próximo). Esta consideración se basa en el siguiente razonamiento: si la interferencia operara a través del centrómero, entonces habría una **distancia de interferencia a través del centrómero** que sería la suma de las dos distancias residuales (a las que llamaremos R1 y R2). Por supuesto, para este caso vale la salvedad mencionada más arriba (ver 5.5.1.2); la "distancia de interferencia" (en este caso $R1 + R2$) reflejará realmente la interferencia quiasmática si las distancias entre los quiasmas son cortas; si son largas es posible que éstos no interactúen en absoluto; pero habrá una **distancia mínima** donde la interferencia sea completa y esta distancia (como en el caso de i_{min}) será aproximadamente constante o, al menos variará dentro de ciertos márgenes. En este caso cuanto menor sea la

distancia R de un lado del centrómero, mayor será del otro, conduciendo por ende a correlaciones negativas entre R_1 y R_2 . Por ello, si se considerasen todas las distancias se obtendrían correlaciones pobres (si las distancias son largas es posible que dos quiasmas no interactúen en absoluto), pudiendo esperarse que éstas mejoren si se consideran distancias $R_1 + R_2$ cada vez menores (es decir, cuando los quiasmas empiecen a interactuar). Como última predicción podría esperarse que, si se trata de genuina interferencia quiasmática, también $R_1 + R_2$ aumentará en los portadores de la fusión 3/6, tal como ocurre con la distancia "i".

Los resultados de este análisis se muestran en la tabla 34. Las correlaciones entre R_1 y R_2 (donde R_1 es la distancia residual del brazo 1L y R_2 es la del brazo 1C) son no significativas cuando se consideran todos los cromosomas 1 para todos los cariomorfos; sin embargo, cuando se consideran sólo las distancias R_1+R_2 menores que 25 (en porcentaje de la longitud total autosómica) comienzan a aparecer correlaciones negativas, que en el caso de los homocigotas de fusión es significativa. Se observa que, para cada uno de los cariomorfos, el módulo de r es cada vez mayor conforme la distancia R_1+R_2 disminuye. En la fig. 33 se representa el módulo del coeficiente de correlación (que es siempre negativo) graficado versus la distancia R_1+R_2 ; se observa no sólo que la repulsión es mayor a menores distancias R_1+R_2 sino que este rechazo se da con más fuerza en los portadores de la fusión que en los homocigotas básicos, y más en los homocigotas de fusión que en los heterocigotas. Esto conduce a dos interrogantes:

a) ¿Quiere decir esto que la repulsión de quiasmas que se da a través del centrómero puede ser genuinamente llamada *interferencia*? Es difícil dar una respuesta, especialmente cuando el concepto de interferencia resulta tan difícil de precisar. Sybenga (1975), que efectuó una revisión de los casos en que se insinuó interferencia a través del centrómero, sostuvo que ésta podría ser consecuencia de variaciones en el apareamiento. En tanto no se conozca la verdadera causa de este proceso, resultará muy difícil diferenciar un efecto de otro. Pero en todo caso resulta claro que este proceso según el cual quiasmas próximos a través del centrómero se repelen (o no se forman) parece ser la causa más probable de

la disminución de quiasmas que se observa en *Leptysma argentina* en forma concomitante con la presencia de la fusión 3/6 (esto es, de los **efectos intercromosómicos** mencionados anteriormente).

b) ¿Es suficiente la operación de la interferencia a través del centrómero para explicar los llamados **efectos intracromosómicos**? Es difícil responder a este interrogante; en primer lugar, porque no fue posible realizar con el bivalente 3/6-3/6 un estudio comparable al realizado con el bivalente 1 (es decir, la correlación entre las distancias residuales de cada brazo) porque en el 3/6-3/6 la localización distal es prácticamente completa, y hay muy pocos bivalentes con quiasmas proximales o intersticiales. En nuestra opinión no existe, al menos por el momento, razón para pensar lo contrario. Por lo tanto, es posible que los hasta aquí llamados "efectos intracromosómicos" y los "efectos intercromosómicos" tengan el mismo origen: **una intensificación de la interferencia quiasmática en los portadores de la fusión 3/6**. Este aumento de la interferencia -junto con la mayor localización distal del primer quiasma- tendría entonces dos consecuencias: en los cromosomas telocéntricos produciría un desplazamiento del segundo quiasma hacia el centrómero; este efecto, paralelamente con una localización más distal del primer quiasma (es decir, "distancias d" menores) **provocaría un patrón de distribución proximal-distal sin modificación de la frecuencia de quiasmas**. La frecuencia de quiasmas sí se vería alterada en los cromosomas metacéntricos, debido a que la interferencia en esta especie **es operativa a través del centrómero**; este hecho provoca disminución de la frecuencia de quiasmas proximales en el bivalente 1 y su total supresión en el bivalente 3/6, debido a su menor longitud. Nótese que el brazo 1C (que tiene aproximadamente la misma longitud que el brazo 3/-) también evidencia una supresión de los quiasmas proximales e intersticiales en los portadores de la fusión (fig. 26). Un estudio que abarque un número mayor de bivalentes 3/6-3/6 que el aquí analizado (en total 90) tal vez aclare definitivamente la cuestión de los "efectos intracromosómicos".

7.5. Elaboración y cálculo de nuevos índices de recombinación a partir de los datos de distribución de quiasmas.

La frecuencia y la posición de los quiasmas resultan buenos estimadores del nivel de recombinación genética en una población, especialmente cuando los análisis genéticos son difíciles o imposibles (Jones 1987). Sin embargo la frecuencia de quiasmas puede ser insuficiente cuando se trata de comparar diferentes poblaciones de una misma especie que muestran variaciones sutiles en estos valores. En estudios de citogenética poblacional, donde el cálculo de la reducción en la recombinación ocupa un papel central en los argumentos adaptacionistas (como en el caso de *Drosophila*) es sumamente importante contar con un estimador que dé cuenta de la mayoría de las modificaciones que causan los reordenamientos. En el caso de *Drosophila robusta*, Carson (1955, 1958) señala por primera vez en esa especie el patrón central-marginal, que compara con el observado por Dobzhansky y colaboradores en las *D. willistoni* sudamericanas (Da Cunha & Dobzhansky 1954) y que luego sería observado en otras especies de *Drosophila* e incluso en ortópteros (Hewitt 1979). Es sabido que para los heterocigotas de inversión la recombinación se halla suprimida en las regiones mutuamente invertidas; Carson (1955) expresa el nivel de heterocigosis por medio del **índice de recombinación libre** (IFR, *index of free recombination*), que consiste simplemente en la longitud proporcional del genoma no molestada por inversiones. Este índice es el que luego utiliza para efectuar comparaciones y correlaciones con variables ecológicas a fin de fundamentar su hipótesis de la *heteroselección*; mención aparte del destino final de esta hipótesis, el índice se reveló como sumamente operativo, a punto tal que es aún utilizado por Brussard (1984) en un enfoque más moderno del mismo problema.

En el caso de los ortópteros se utiliza universalmente la frecuencia de quiasmas como estimador del nivel de recombinación (ver Hewitt 1979 para una revisión). Sin embargo, y además de los inconvenientes señalados antes, esta variable cuenta con una limitación que la invalida para polimorfismos de tipo robertsonianos: no considera la variación en el número de grupos de ligamiento. Darlington

(1939) había propuesto un índice de recombinación -que consiste en la suma del número haploide (n) con el número medio de quiasmas por población (x)- que representa el número medio de elementos que segregan en forma independiente; así, el número de gametas posibles es $2^{(n+x)}$. Sin embargo, este índice aún no considera la variación en la *posición* de los quiasmas, que causarían una recombinación máxima si el quiasma es perfectamente intersticial y una recombinación cero si es totalmente distal o -en el caso de los telocéntricos- totalmente proximal. Para *Dichroplus pratensis*, Tosto y Bidau (1987) utilizan un índice de Darlington modificado, que consiste en la suma del número haploide (o de grupos segregantes, en el caso de los heterocigotas de fusión) al número de quiasmas intersticiales. Este índice presenta dos inconvenientes: da la misma jerarquía a *todos* los quiasmas intersticiales, que son los que se encuentran en el tercio medial del cromosoma (la clasificación de la posición del quiasma, como antes en este trabajo, es subjetiva) y no considera a los quiasmas proximales que, en el caso de los cromosomas metacéntricos, también aportan a la recombinación. Por otro lado, el índice de Darlington (modificado o no) da el mismo peso estadístico a todos los cromosomas, lo que en un cariotipo bastante asimétrico (como es el caso de los ortópteros) es una gran simplificación. Se procura aquí por lo tanto lograr un enfoque más preciso mediante un índice que tenga en cuenta: a) El tamaño relativo de los cromosomas, y b) La posición exacta de los quiasmas.

a) Sea G la productoria de $2(n)(l_i)$, donde l_i es la longitud proporcional de cada cromosoma (la sumatoria de los l_i es 1); si todos los cromosomas tuvieran el mismo largo ($l_1=l_2=\dots=l_n$), entonces $l_i=1/n$, y $G=2^n$ es el número de gametas posibles.

b) Sea G productoria de $2(n+x)(l_i)$, donde l_i es en este caso la longitud de cada una de las $n+x$ regiones cromosómicas que segregan independientemente. Nótese que en el caso especial en que todas las $n+x$ regiones tuvieran la misma longitud ($l_1=l_2=\dots=l_n$), es decir, si todos los cromosomas tuvieran el mismo tamaño y los quiasmas se ubicaran en la mitad del cromosoma, entonces $l_i=1/(n+x)$, $G=2^{(n+x)}$ es el número posible de gametas, y el logaritmo en base 2 de G es $(n+x)$, que es el mismo índice de Darlington.

Se propone entonces a $I_r = 1g_26$ como un índice de recombinación más general que representa el número efectivo de elementos que segregan independientemente, ponderados por su longitud proporcional, en cada individuo. El nivel medio de recombinación puede obtenerse en principio -de no mediar objeciones teóricas insalvables- promediando los índices de cada individuo. Según este planteo, el índice de Darlington sería un caso especial de este otro índice, en las condiciones señaladas más arriba; más específicamente, el índice de Darlington sería siempre una sobreestima del nivel de recombinación presente en una población.

Este índice propuesto sería operativo tan sólo para aquellos casos en que la determinación precisa de la posición de los quiasmas fuera sencilla. Consideramos que la totalidad de los ortópteros cumple con este requisito, especialmente teniendo en cuenta que los modernos procesadores de imágenes simplifican y aceleran la medición y el procesamiento de estos datos. En el Apéndice se incluye un programa BASIC para el cálculo de este índice (en dialecto GW-BASIC, Microsoft).

Este programa fue utilizado para calcular los índices de recombinación en los individuos utilizados para efectuar el estudio de distribución de quiasmas en *Leptysma argentina*. En la tabla 34a se indican los valores promedio para cada cariotipo, y también las varianzas. Se incluye también el índice de Darlington (ID) y el número real de fragmentos que segregan independientemente (y que dada la preponderancia de los quiasmas terminales es mucho menor que el ID).

Se pueden señalar tres limitaciones de este índice. La primera, de orden teórico, es que considera a cada fragmento como si fuera efectivamente de segregación independiente. La segunda es de orden práctico: su varianza es muy elevada, lo que lo hace algo inadecuado para efectuar correlaciones. Otro inconveniente es que otorga excesivo peso estadístico a los fragmentos muy pequeños, lo que baja su valor en forma excesiva. Este último inconveniente fue salvado adoptando el siguiente criterio: los fragmentos menores que el 1 % de la longitud total del genoma no son considerados por el programa.

En cuanto al primero, se buscó su solución dividiendo el problema en dos pasos: en primer lugar, considerando la recombinación producida por los quiasmas en cada cromosoma;

en segundo lugar, ponderando estos valores por el largo relativo de cada cromosoma; esto condujo a una ligera modificación del índice, que se muestra a continuación

donde l_i es la longitud de cada fragmento cromosómico separado por los quiasmas, X_i es el número de esos fragmentos, L_i es el largo proporcional de cada cromosoma, y n es el número de elementos segregantes. En el **Apéndice** se brinda un programa BASIC para el cálculo de este índice. Su aplicación para el caso de *Leptysma argentina* arrojó los resultados que se indican en la tabla 34b.

En las tablas 35 y 36 se muestran las correlaciones de ambos índices con las frecuencias de quiasmas totales, proximales, intersticiales, distales y con el número real de fragmentos (sumatoria de los X_i) para los tres cariotipos de la fusión 3/6. Ambos índices se comportan de la misma manera, pero es notorio que el segundo es mucho más sensible a las variaciones en la posición de los quiasmas y que a la vez es más preciso, por cuanto su varianza es menor; este hecho se refleja en que los valores de r (el índice de correlación) para este índice son siempre más elevados. Otro hecho notable es que en los tres cariotipos para la fusión 3/6 la correlación con los quiasmas intersticiales es bastante buena, por lo que la modificación de Tosto y Bidau (1987) al índice de Darlington puede considerarse, en este caso, como una buena aproximación. Pero es evidente que la correlación con la frecuencia de quiasmas proximales (P) mejora en los homocigotas de fusión; este efecto puede ser mucho más notorio en organismos con mayor número de cromosomas metacéntricos, como *Dichroplus pratensis*.

Se propone entonces el índice I_r para organismos que permitan una medición razonablemente precisa de la distribución de quiasmas; para aquellos que tengan todos sus cromosomas telocéntricos, el índice de Darlington modificado (Tosto & Bidau 1987) es una buena aproximación. En el caso de *Leptysma argentina* se utilizará para obtener correlaciones con parámetros morfológicos y ecológicos.

8. Un nuevo cariotipo en la subfamilia Leptysminae:

La subfamilia Leptysminae presenta un cariotipo básico de $2n = 23$ o 24 , un sistema de determinación del sexo XO/XX presenta todos sus cromosomas telo- o acrocéntricos (Mesa & al. 1982). Sin embargo, en algunas especies (*Leptysma argentina*, *Cornops aquaticum*, *Stenopola pallida*, *Tetrataenia surinama*) han ocurrido fusiones céntricas que condujeron a una disminución del número cromosómico sin modificar el número de brazos, o número fundamental. En *C. aquaticum* las 3 fusiones son aparentemente polimórficas (Mesa 1956, Mesa & al. 1982), mientras que en *L. argentina* coexisten una fusión polimórfica y otra fijada. *S. pallida* y *T. surinama* difieren del cariotipo ancestral en 1 y 2 fusiones fijadas, respectivamente (Mesa & al. 1982). Las fusiones X-autosoma, con ser comunes entre los acrididos (originando sistemas de determinación del sexo neo X-neo Y, Sáez 1963, Cardoso & Dutra 1979) no han sido detectadas entre los leptysminos (Amoedo 1980, Mesa & al. 1982).

En la temporada de recolección de *Leptysma argentina* correspondiente a la primavera de 1986 se capturaron en la población de Puerto Talavera (Pcia. Bs. As.) 83 individuos que aparentemente pertenecían a dicha especie. Sin embargo, su ulterior análisis citológico reveló que 2 individuos presentaban un complemento cromosómico radicalmente diferente. Estos 2 individuos fueron considerados por el Dr. Ricardo Ronderos como pertenecientes a la especie *L. argentina*, basándose en criterios puramente morfológicos. Por ello se consideró de interés incluir en este trabajo una breve descripción de este cariotipo.

Leptysma (argentina?) presenta un cariotipo bastante reducido: $2n=16$, $14 A + \text{neo X-neo Y}$, que se puede remontar al cariotipo ancestral para la familia ($22A + XO$) postulando la ocurrencia de cuatro fusiones céntricas, una de ellas entre el cromosoma X y un autosoma (figs. 34 y 35). Uno de los dos individuos coleccionados en esta población era portador de un cromosoma B más pequeño que el X (figs. 34 y 35). Este cariotipo es extremo para la familia Leptysminae, en la que no se habían descrito hasta ahora sistemas neo X-neo Y.

El cromosoma neo Y es sensiblemente más corto que la porción autosómica del neo X (fig. 34a,b); además, su región proximal se encuentra heterocromatinizada y no se apareja. La

divergencia morfológica entre neo X y neo Y es común (Hewitt 1979), se encuentra bien documentada en el género *Dichroplus* (Cardoso & Dutra 1979) y es considerada parte de un proceso de masculinización del neo Y (Sáez 1963). Sin embargo, Hewitt (1979) señala que el acortamiento del neo Y con respecto a la porción autosómica del neo X es un fenómeno restringido a la superfamilia Eumastacoidea. *L. (argentina?)* es entonces el primer caso descrito de un acridoideo con sistema neo X-neo Y donde éste presenta un acortamiento (fig. 35b). Esta divergencia sería además un indicador de cierta antigüedad para este reordenamiento (Sáez 1963).

Las 3 fusiones céntricas autosómicas dieron origen a 3 pares metacéntricos; el mayor de ellos (figs. 34c,d, 35 b) el centrómero presenta una estructura doble, lo que sugiere que sería producto de una fusión céntrica entre dos cromosomas acrocéntricos (John & Freeman 1975). Las regiones centroméricas de este par se repelen tempranamente en paquitene (fig. 34c). La localización de los quiasmas en estas regiones es irrestricta (fig. 35d).

El cromosoma B, encontrado en uno de los dos individuos analizados, se encuentra por lo general asociado a la porción "X-antigua" ("paleo-X") del neo X en paquitene (fig. 34a,c) y suele conservar esta asociación en diplotene y diacinesis (figs. 35b,c). En metafase el B se autoorienta hacia uno de los polos (fig. 35d).

Estos individuos difieren de *L. argentina* en muchos rasgos de su cariotipo, y por ende deben ser considerados como pertenecientes a una especie aún no descrita y que se encuentra íntimamente relacionada desde el punto de vista morfológico con la anterior; de aquí en adelante, esta especie será llamada "*Leptysma sp.*", a secas. La presencia de tres fusiones autosómicas fijadas y la fusión X-autosoma pudieron haber sido causantes del proceso que condujo a su separación en una especie autónoma (John 1983, Lande 1985). En efecto, las fusiones céntricas son reordenamientos que provocan suficiente heterosis negativa en el híbrido como para facilitar una especiación cromosómica, si el trivalente resultante no cumple los requisitos indicados anteriormente para su buena segregación en anafase I (Gropp & al. 1982). El tamaño poblacional requerido para que una mutación cromosómica con heterosis negativa se fije es muy bajo (Lande

1985) y disminuye conforme aumenta el grado de heterosis negativa; sin embargo, Hedrick (1977) ha demostrado que bajos niveles de conducción meiótica aumentan notablemente la probabilidad de que una mutación se fije en estas condiciones.

DISCUSION GENERAL Y CONCLUSIONES:

1- Advertencia:

Es evidente a partir de las revisiones existentes (John & Lewis 1965, Hewitt 1979, John 1983, Brussard 1984, Sperlich & Pfriem 1986) que los organismos más estudiados desde el punto de vista de la variación cromosómica y su distribución geográfica -al menos dentro del reino animal- fueron los insectos. El origen, la naturaleza y el significado de esta variación (ya sea ésta polimórfica, politípica, entre especies o bien en mutantes espontáneos ocasionales) han sido muy controvertidos, y su importancia fue en algunas oportunidades subestimada y en otras sobrevalorada; según nuestra modesta opinión, sólo sería posible obtener una dimensión más clara de este fenómeno mediante un estudio tan riguroso como fuera posible y científico en el sentido más restrictivo del término, es decir, sin artículos de fe, hipótesis *ad-hoc* ni meras conjeturas.

En el caso de *Drosophila* (que es el modelo paradigmático de los estudios citogenéticos poblacionales) las muchas posibilidades que ofrece el material permitieron postular hipótesis que en un grado considerable han sido pasibles de refutación o bien de aceptación provisoria a través de la realización de experimentos cruciales. El caso de los ortópteros es bien distinto: estos insectos poseen la ventaja de ser conspicuos, con poblaciones numerosas en algunos casos (no en el de *Leptysma argentina*) y de exhibir excelentes figuras mitóticas y meióticas. Por otra parte, sus características demográficas, -i.e. generaciones discretas y más o menos sincrónicas- facilitan los estudios poblacionales. Sin embargo, su manipulación experimental ofrece serios inconvenientes de orden técnico debido a que sus hábitos reproductivos son complejos (por ejemplo, *Leptysma argentina* ovipone endofíticamente dentro de ciperáceas y sólo dentro de determinadas ciperáceas) y al hecho de que cada generación abarca por lo común un año. Estos inconvenientes dificultan la crianza en el laboratorio -cuánto más la realización de cruzamientos- y por ende restringen la posibilidad de discriminar entre distintas hipótesis con algún grado aceptable de certeza. La historia

de la citogenética de ortópteros, fértil en polémicas entre autoridades enfrentadas por interpretaciones opuestas de un mismo fenómeno -sin que ningún experimento crucial pudiera haber saldado la cuestión con menor efusión de tinta- es elocuente en ese sentido (cf. las polémicas entre White y John sobre casi todos los temas).

Existe otro impedimento para que un estudio en estos organismos arroje -al menos por el momento- resultados inequívocos y de fácil interpretación. Una buena proporción de las premisas de las que se parte y casi todas las conclusiones a las que se arriba, dependen para su validez del conocimiento de algunos parámetros demográficos de cada especie, en particular de su dinámica poblacional y su hábito reproductivo. Dado que nuestro desconocimiento de esas características es pleno, sólo es posible hacer conjeturas sobre el origen, importancia adaptativa y destino probable de los cambios cromosómicos que abundan en este grupo. Este trabajo debe considerarse por lo tanto como una primera aproximación al problema de la variación cromosómica en poblaciones naturales de ortópteros; una segunda aproximación requerirá sin duda un enfoque multidisciplinario que comprenda también estudios ecológico-poblacionales.

En vista de lo señalado se ha venido procurando en este trabajo no efectuar una contribución más a la abundancia de conjeturas ya existentes en este terreno sino más bien plantear hipótesis refutables que contribuyan a señalar caminos posibles para la ulterior indagación experimental. No obstante, cierto nivel de especulación en estos temas es inevitable, y en eso consistirá el resto de este trabajo.

2- Quiasmas y recombinación:

Los quiasmas fueron descritos y designados con ese nombre por Janssens (1909) a partir de sus estudios meióticos en anfibios urodelos, si bien ya Rückert (1892) había descrito esas estructuras en los oocitos de tiburones. Janssens efectuó la definición de *quiasma* en los siguientes términos: "...la palabra *quiasma* puede ser tomada en el sentido general de dos hebras que se cruzan una con otra formando una Cruz de San Andrés" (Janssens 1909). Darlington (1932) aclara que el mismo entrecruzamiento de homólogos que

parece una Cruz de San Andrés puede parecer una Cruz Griega desde otro punto de vista.

Más allá de la controversia teológica, se plantearon dos hipótesis alternativas para explicar la naturaleza de los quiasmas. La hipótesis "clásica" (impropiamente llamada "teoría clásica") de Weinrich (1916) y Robertson (1916) argüía que los quiasmas representaban la concurrencia de distintos modos de separación de las cromátidas y que por ende no se relacionaban con el *crossing-over*. La hipótesis llamada "teoría de la quiasmatipia", atribuible directamente a Janssens (1905, 1909, 1924), proponía en cambio que los quiasmas son el resultado de intercambios en los bivalentes entre cromátidas homólogas no hermanas. Janssens propuso además -con el consenso y el apoyo de la escuela de genetistas de *Drosophila* de Morgan- que esos intercambios eran los mismos que postulaban los genetistas para explicar la recombinación genética: en otras palabras, como lo señalara Darlington (1932) más adelante, que el quiasma era la expresión citológica del *crossing-over*. La definitiva demostración de la teoría de la quiasmatipia -después de convincentes argumentaciones por parte de Darlington (1930, 1932), basadas en gran medida sobre sus propias observaciones- estuvo a cargo de Whitehouse (1965), quien recopiló toda la evidencia existente hasta ese momento.

La teoría de la quiasmatipia otorga a los quiasmas ciertas ventajas como medio para la estimación de la recombinación en un organismo. Según G.Jones (1987), "*Los quiasmas ofrecen un medio muy rápido y directo para el estudio de la recombinación. En organismos apropiados, ellos pueden brindar información detallada y precisa sobre la cantidad total de recombinación y sobre su distribución a lo largo del genoma. También permiten analizar la recombinación en un amplio espectro de especies, sin estar limitados por la disponibilidad o la carencia de marcadores genéticos, y en híbridos estériles que no pueden ser analizados genéticamente*".

Es posible determinar la posición de los quiasmas en cualquier estadio de la profase I, pero la interpretación puede variar dependiendo de la existencia o no de terminalización. El concepto de terminalización fue introducido por Darlington (1929), quien recurrió a ella por

vía de hipótesis para reconciliar dos hechos aparentemente contradictorios: el apareamiento lado a lado de los homólogos en cigotene y paquitene (=parasinapsis) y la asociación extremo a extremo que se observa en muchos bivalentes llegada la metafase I. Pese a muchas modificaciones y relativizaciones de la hipótesis por parte del mismo Darlington (1932, 1937) la idea de quiasmas desplazándose por los bivalentes a la manera de los cierres relámpago resultó tan atractiva que aún se enseña en algunos cursos elementales de genética como un rasgo invariable de la meiosis. Muchos estudios estadísticos, en algunos casos aprovechando marcadores citológicos como la presencia de bandas C intersticiales, han fallado en favor (Santos & Giráldez 1978, Vilardi 1987) y en contra (Loidl 1979) de la terminalización; sin embargo, la evidencia directa (utilizando marcadores del ADN como la bromo-deoxiuridina, que tiñe diferencialmente las cromátidas hermanas) mostraron en forma convincente que, en un rango de organismos que va desde las langostas hasta los ratones y hamsters (Tease & Jones 1976, Jones & Tease 1980, Jones 1987) los quiasmas no terminalizan.

3. Variación de la frecuencia y posición de los quiasmas:

Existe amplia evidencia sobre determinantes genéticos (ver revisión en Rees 1961, Baker & al. 1976) y causas ambientales, tanto internas como externas al organismo, que producen variación quiasmática. Se han detectado diferencias significativas entre distintas especies (Hewitt 1964, Rees & Jones 1967, Hillel & al. 1973, Ennis 1972), entre individuos dentro de una misma especie, ya sea en poblaciones genéticamente variables (Laurie & Jones 1981, Whitehouse & al. 1981) o en líneas endocriadas (Rees 1955) y entre células de un mismo individuo. La variación entre células da una idea del grado de control que es ejercido sobre la frecuencia de quiasmas, y ésta puede variar (Rees & Thompson 1956). Las diferencias entre sexos (revisadas por Callan & Perry 1977) son a menudo pasadas por alto, pero los machos y las hembras pueden diferir en la distribución de los quiasmas, y estas diferencias pueden ser ligeras o sustanciales. En general, las máximas restricciones se encuentran en el sexo heterogamético (Callan & Perry 1977), hasta el extremo de que

en varias especies el macho es aquiasmático (John & Lewis 1965) (v.gr. el caso de *Drosophila*).

En cuanto a las causas no genéticas, existe también evidencia de que la frecuencia de quiasmas se altera luego de exposición a altas temperaturas (Elliot 1958, Henderson 1962; King & Hayman 1978) pero también por otras variables ambientales (Westerman 1967) y por la edad (Maudlin 1972, Speed 1977); se han detectado asimismo cambios estacionales en la lagartija australiana *Phyllodactylus marmoratus* (King & Hayman 1978).

La evidencia hasta aquí presentada demuestra que la frecuencia y la posición de los quiasmas se encuentra modificada por un amplio espectro de factores físicos, genéticos y fisiológicos. Sin embargo, nuestro interés está centrado en el efecto que suelen presentar los reordenamientos cromosómicos sobre el número y la distribución de los quiasmas, y éste es el tema que se examinará a continuación.

4. Efectos de los cambios cromosómicos sobre la frecuencia y la posición de los quiasmas:

La presencia de cambios cromosómicos, espontáneos o polimórficos, puede producir efectos a menudo dramáticos sobre la recombinación, ya se trate de heterocromatina supernumeraria (v. John 1981) o de reordenamientos cromosómicos propiamente dichos, tal como se encuentra abrumadoramente registrado en la literatura. Este hecho ha llevado a la suposición, no siempre fundada, de que el mantenimiento de los polimorfismos cromosómicos que afectan a la recombinación se debe precisamente a esos efectos. Si bien se ha demostrado que en algunos casos (v.gr. *Drosophila*) los polimorfismos cromosómicos son mantenidos por selección natural, y que en este proceso es crucial la heterosis producida por complejos génicos coadaptados -que a su vez se hallan protegidos de la recombinación por los reordenamientos- (Carson 1955, 1958, Dobzhansky & al. 1963, Brussard 1984, Sperlich & Pfriem 1986), en el caso de los ortópteros no es tan claro que los efectos producidos por los cambios cromosómicos constituyan verdaderamente una función. Por el contrario, es probable que muchos de los polimorfismos

descriptos para heterocromatina supernumeraria (ver John 1983 para una revisión) sean neutrales y que en consecuencia estén mantenidos por presión de mutación (John 1981).

Asimismo, mucho se ha insistido en el posible papel que los cromosomas B podrían jugar en el control de la recombinación (John & Hewitt 1965a, b, John 1976, Hewitt 1979, John 1981, Jones & Rees 1982, John 1983), basándose en las alteraciones que algunos de ellos producen sobre la frecuencia y posición de los quiasmas; sin embargo, parece cada vez más claro que los cromosomas supernumerarios se mantienen como resultado de una suma algebraica de mecanismos de acumulación (conducción meiótica positiva, no disyunción direccional hacia la línea germinal) y de pérdida (conducción meiótica negativa, selección purificadora, retraso del B en anafase y posterior eliminación en un núcleo de restitución) (Ostergren 1945, Nur 1969, 1977, Hewitt & al. 1987).

Incluso los polimorfismos para fusiones céntricas, que podrían jugar un papel importante en la conservación de relaciones epistáticas y de dominancia en virtud de las restricciones que imponen sobre la recombinación, podrían deber su mantenimiento original y aun su mantenimiento actual a causas tan poco selectivas como la conducción meiótica. En este sentido es particularmente ilustrativo el caso de las poblaciones inglesas de la musaraña común (*Sorex araneus*) cuyo cariotipo, al parecer originalmente acrocéntrico, se encuentra en la actualidad alterado por un número de fusiones céntricas fijadas y polimórficas (Searle 1986a). Estudios de la meiosis femenina (Searle 1986a, 1988) han revelado que estas fusiones presentan un grado considerable de conducción meiótica, lo cual causó su fijación en casi toda la isla. Sin embargo, en una estrecha zona híbrida entre dos razas cromosómicas se halló que tres fusiones céntricas con homología monobraquial dan lugar a la formación de multivalentes cuya orientación es problemática (Searle 1984) y que por lo tanto reducen la fertilidad de los portadores. Como consecuencia de esta selección negativa contra los portadores de los metacéntricos, la frecuencia de sus homólogos acrocéntricos es mucho más alta en el centro de la zona híbrida que en sus márgenes (Searle 1986a) y fuera de ella es cero. Dado que la formación de un cromosoma

metacéntrico a partir de dos telocéntricos reduce severamente la recombinación, y que los híbridos entre las dos razas cromosómicas son prácticamente estériles, es muy probable que en los metacéntricos hayan surgido complejos génicos coadaptados protegidos por las fusiones. Sin embargo la causa del mantenimiento del polimorfismo no sería ésta, sino más bien un balance entre la conducción meiótica y la selección contra los híbridos. Este es un ejemplo extremo, pero válido para ilustrar acerca del peligro de las generalizaciones excesivas en materia de polimorfismos cromosómicos.

Por otra parte, el hallazgo de los efectos que los reordenamientos ejercen sobre los quiasmas ha llevado a muchos autores a considerar que, descubierta por fin la *raison d'être* de estos polimorfismos, éstos **no pueden** tener efectos sobre el exofenotipo. Sin embargo en una serie de trabajos en el ortóptero *Moraba scurra* (hoy *Keyacris scurra*), Lewontin & White (1960) y White & Andrew (1960, 1962) demostraron que dos inversiones pericéntricas en estado polimórfico producían una disminución en el peso total de los individuos analizados en casi todas las poblaciones estudiadas. Estos estudios fueron repetidos con mayor número de poblaciones y de individuos por población (White, Lewontin & Andrew 1963), con los mismos resultados. Sin embargo, Lande (1979), interesado en presentar un modelo de evolución cromosómica con la menor complicación posible, asume que los reordenamientos cromosómicos **no poseen efectos morfológicos**, sin la menor referencia a los trabajos ya citados. Por su parte, John & Lewis (1966) y John (1983), en sendas revisiones, incluyen referencias a este trabajo, si bien lo hacen con grandes reservas y pesadas objeciones. Una de ellas es que la correlación entre tamaño y cariotipo no señala la dirección en que marcha la relación causal, si es que la hay en absoluto (nótese que esta objeción es también aplicable, y quizá con más razón, a los efectos endofenotípicos); otra objeción es que los efectos exofenotípicos no son consistentes entre distintas poblaciones, sino que en algunos casos los heterocigotas son tan pesados como los homocigotas estándar o tan livianos como los homocigotas de inversión. Es claro que John & Lewis (1966) y John (1983) están reclamando a los efectos exofenotípicos una constancia de la que los efectos sobre los quiasmas carecen por completo. Más allá de

casos bien delimitados (como en los polimorfismos para inversiones y fusiones céntricas, donde la supresión intracromosómica del entrecruzamiento es una condición de posibilidad para el mantenimiento del polimorfismo) no parece haber regla en absoluto con respecto a los efectos inter cromosómicos que pueden producir los cambios cromosómicos sobre la recombinación. Lucchesi (1976) señaló que las translocaciones de *Drosophila* pueden clasificarse en tres grupos: las que aumentan la recombinación, las que disminuyen la recombinación y las que no aumentan ni disminuyen la recombinación, en tanto que es imposible asignar regla alguna a los variados efectos que los cromosomas B y los segmentos supernumerarios ejercen sobre las condiciones de los quiasmas. Por otra parte, los efectos de un mismo reordenamiento pueden ser variables en distintas poblaciones (Confalonieri 1988) y en algunas pueden no hacerse presentes en absoluto. Un caso digno de nota, descrito y analizado en este mismo trabajo, es el de *Cylindrotettix obscurus*, donde dos tipos de cromosomas B por separado aumentan la frecuencia de quiasmas, mientras que al interactuar la disminuyen.

De lo señalado anteriormente surge que los efectos sobre la recombinación de ninguna manera pueden reclamar primacía sobre los efectos exofenotípicos, al menos en lo que respecta a la solidez de la prueba. Es cierto que existen muchos más ejemplos de efectos endo- que exofenotípicos, pero no puede saberse (porque en general los resultados negativos nunca se publican) si este hecho se debe a que no fueron detectados o a que no fueron buscados. Si la causa es esta última, el sesgo bien puede deberse a la actitud negativa que las autoridades tienen en relación con los efectos exofenotípicos. Como ejemplo característico de esta actitud, Hewitt (1979), si bien cita todos los trabajos de White, Lewontin y Andrew sobre *Moraba scurra* y sus polimorfismos de inversión y discute exhaustivamente el desequilibrio de ligamiento existente en esas poblaciones -y por lo tanto la posibilidad de selección- directamente pasa por alto los efectos exofenotípicos. En Sperlich & Pfriem (1986) se citan algunos casos de reordenamientos cromosómicos en distintas especies de *Drosophila*, y en *Drosophila buzzatii* (Fanara & Hasson, comunicación personal) se han hallado correlaciones

entre la presencia de determinadas inversiones y el tamaño del tórax.

5. La heterocromatina supernumeraria:

Hechas las salvedades del caso, se examinarán a continuación los casos concretos estudiados en el presente trabajo. En las tres especies estudiadas (a saber, *Leptysma argentina*, *Leptysma sp.* y *Cylindrotettix obscurus*) se ha detectado la presencia de heterocromatina supernumeraria, ya sea bajo la forma de segmentos supernumerarios en *L. argentina* o como cromosomas B en las tres especies.

Como ya se ha dicho lo suficiente con respecto a los efectos de los cromosomas B sobre la recombinación, haremos especial hincapié sobre el posible origen de estos elementos. El criterio para discriminar entre un cromosoma supernumerario (B) y una polisomía consiste en la divergencia morfológica y la pérdida de la homología (Jones & Rees 1982). Sin embargo, es evidente que estos cromosomas tienen su origen en elementos del complemento A. Hewitt (1976) clasificó a los cromosomas B de los ortópteros en tres categorías de acuerdo con su tamaño:

- 1) Aquéllos que son más pequeños que los pares más cortos del complemento probablemente corresponden a fragmentos céntricos resultado de algún reordenamiento cromosómico;
- 2) Los de tamaño aproximado a los más pequeños del complemento probablemente son producto de polisomía de alguno de estos cromosomas (proclives en virtud de su tamaño a sufrir no-disyunción) y posterior heterocromatinización, y
- 3) Los de mayor tamaño probablemente deriven, de alguna manera, del cromosoma X. Hewitt (1976), si bien admite que la última hipótesis es especulativa, aporta elementos de juicio en su favor, tales como la semejanza de algunos de estos cromosomas B grandes con el cromosoma X y la tendencia que observan estos elementos a asociarse al cromosoma sexual durante los estadios más tempranos de la profase I meiótica (en especial cigotene y paquitene). Estudios más recientes (Bidau 1986b,c) son consistentes con esta hipótesis, y también lo son los resultados obtenidos en este trabajo con las tres especies estudiadas. Sin embargo, no existe ninguna prueba fehaciente que acredite más allá de toda duda esta

relación genética entre los cromosomas X y los "B-parecidos-a-X" (*X-like B-chromosomes*, Hewitt, 1976) por lo que debe considerarse esta relación como meramente hipotética.

El examen visual de los cromosomas supernumerarios de las tres especies arroja semejanzas sorprendentes (figs. 5, 6, 36 y 37). En efecto, los cromosomas B de *L. argentina* y de *L. sp.* son sumamente parecidos tanto en morfología como en comportamiento, con una porción proximal heterocromática y una distal eucromática (figs. 5 y 36), ciclos de condensación-descondensación semejantes entre sí y análogos al del cromosoma X (la semejanza con el cromosoma X en *L. sp.* es mucho más marcada). Por su parte, cada brazo del Iso B de *Cylindrotettix obscurus* guarda una notable semejanza con los cromosomas B de *Leptysma argentina* y *Leptysma sp.*. El hecho de que los cromosomas B de *L. argentina* y de *C. obscurus* se extiendan a lo largo y a lo ancho de todo el rango de distribución de ambas especies (Amoedo 1979, Bidau & Hasson 1984, Confalonieri & Bidau 1986, este trabajo) puede conducir a la presunción de que ambos cromosomas B tuvieron un origen común en un ancestro de ambas especies, y en ese caso su origen sería bastante antiguo. Se podría incluso mencionar la proclividad de los cromosomas B a sufrir "misdivisión" (Jones & Rees 1982), lo que salvaría sin problemas el tránsito de un cromosoma B telocéntrico como el de *L. argentina* a un "isocromosoma" submetacéntrico como el B (Iso B) de *Cylindrotettix obscurus*. Sin embargo, cromosomas B "semejantes al X" pueden encontrarse en un gran número de especies de ortópteros (ver Hewitt 1979 y John 1983 para una revisión) incluso con las características mencionadas previamente, es decir una región proximal heterocromática y una distal eucromática, y pueden ser telocéntricos o isocromosomas. Por lo tanto, es también posible que los cromosomas B de las tres especies tengan un origen análogo (lo que podría explicar las semejanzas) pero independiente.

¿Es posible asignar al cromosoma X el origen de estos cromosomas B? No en principio, dado que las semejanzas mencionadas son superficiales en el caso de *L. argentina* y *Cylindrotettix obscurus* (pero no en *L. sp.*, véase más adelante) y la asociación con el X en cigotene-diplotene puede ser consecuencia de asociación heterocromática inespecífica (en efecto pueden también vérselos asociados con

el par megamérico o con segmentos supernumerarios, fig. 5). Sin embargo existe un hecho que a nuestro entender es digno de destacarse, y es la presencia de cromosomas B notablemente similares al X en especies que presentan sistemas derivados de determinación del sexo, como es el caso de *Leptysmia sp.* En esta especie la asociación en paquitene es sumamente estrecha (fig. 34) y la semejanza con el cromosoma X es mayor que en las otras dos especies, como es evidente en las figs. 34 y 35, donde también se nota que el tamaño del cromosoma X es mayor que el del B. Esto nos remite al origen de este sistema, donde no es improbable que hayan habido problemas de orientación cuando la fusión X-autosoma aún se hallaba en estado polimórfico. De esta manera, se habrían originado machos con un cromosoma X extra; la inactivación de este huésped inoportuno -tal vez mediante la delección de un extremo- habría sido sin duda adaptativa. De tal manera, un cromosoma X inactivado pudo haber sido el punto de partida para el establecimiento de un polimorfismo para un cromosoma supernumerario. Esta hipótesis es absolutamente especulativa y carente por ahora de fundamento, pero existe cierta evidencia lateral que la hace menos improbable. En efecto, han sido hallados sistemas neoX-neoY en estado politípico (Hewitt & John 1972) y hasta polimórfico (Remis 1989) donde es frecuente la aparición de machos con dos cromosomas X producto de mala orientación del trivalente en los híbridos (en el primer caso) o en los heterocigotas (en el segundo). Invariablemente estos "cromosomas X extra" aparecen fragmentados con respecto al X original, y se puede suponer que han sido inactivados (quizá por la fragmentación) porque en estos machos la espermatogénesis parece ser normal (John & Hewitt 1970, Hewitt & John 1972, Remis 1989). Hay un cuarto caso en el ortóptero *Oedaleonotus enigma* (Hewitt & Schroeter 1968), pero éste es ligeramente diferente: la fusión X-autosoma parecía ser bastante reciente (en virtud de la poca diferenciación entre el neoY y la porción autosómica del neoX, según el criterio de Sáez 1963 y de Cardoso & Dutra 1979) pero ya se hallaba fijada. Sin embargo, se encontró un cromosoma neoX extra en un individuo macho de esta especie y el cromosoma extra se encontraba, como es de esperar, fragmentado en la porción "paleo-X". Estos casos de sistemas derivados de determinación del sexo en proceso de fijación

nos ofrecen una posibilidad única de observar el posible inicio del proceso de divergencia que conducirá a la formación de un cromosoma B en el sentido completo de la palabra. Esto no indica necesariamente que especies como *Cylindrotettix obscurus* o *Leptysma argentina* hayan debido pasar por situaciones similares; las causas de una mala orientación del cromosoma X pueden ser múltiples, y no sólo vinculadas con el origen de un sistema neoX-neoY. La aparición de estos sistemas, empero, provoca sin duda una frecuencia mayor de malas orientaciones, lo que proporciona una probabilidad mayor de observar casos tomados en el momento mismo de iniciar la divergencia. Un corolario de esta afirmación (aún no comprobado) es que en las especies con sistemas de determinación del sexo neoX-neoY la proporción de estos "B-parecidos-a-X" debería ser mayor.

En cuanto a los cromosomas B_e de *Cylindrotettix*, entrarían cómodamente en la segunda categoría de Hewitt (1976). Una característica de este tipo de cromosomas es su tendencia a observar inestabilidad mitótica (Hewitt 1976, Jones & Rees 1982). Nur (1977) notó esta tendencia en *Neopodismopsis abdominalis* (Orthoptera) pero sólo en la línea germinal; por otra parte, la frecuencia media de cromosomas B en la línea germinal fue siempre superior al número de cromosomas B en los ciegos gástricos (tejido somático), por lo que Nur (1977) vinculó esta inestabilidad direccional hacia la línea germinal con el mecanismo de acumulación. No se han hallado en estas especies representantes del primer nivel jerárquico establecido por Hewitt (1976), haciendo excepción del fragmento céntrico hallado en el mutante espontáneo para una fusión 5/7 en *Leptysma argentina*. No se han encontrado otros fragmentos cromosómicos de este tipo (pese a que no puede decirse que el genoma de *L. argentina* sea estático) por lo que cabe suponer que estos fragmentos son rápidamente perdidos debido a su marcada inestabilidad mitótica. Estudios recientes con cromosomas sintéticos revelaron la importancia de un tamaño mínimo para que el cromosoma observe un comportamiento regular en la meiosis (Murray & al. 1986). Según este dato debería esperarse que en aquellas especies que sufren fragmentación cromosómica por agmatoploidía (en organismos con centrómero difuso, v.gr. los heterópteros) existiría un límite para esta fragmentación,

dado por el tamaño mínimo que deberían poseer los cromosomas a fin de observar un comportamiento regular en la meiosis. Un detallado estudio en el género *Belostoma* (Belostomatidae; Heteroptera) que comprendió especies con diferentes números cromosómicos, probablemente aumentados por agmatoploidía, demostró que aquellas especies con números cromosómicos mayores (es decir, con cromosomas más pequeños) poseían mayor cantidad de ADN que aquellos con cromosomas más grandes (Papeschi 1988). Estudios más recientes (Papeschi, comunicación personal) revelaron que el ADN "extra" se debe casi exclusivamente al crecimiento de heterocromatina terminal en las especies con cromosomas más pequeños. Es posible que esa heterocromatina, que aumenta el tamaño de los cromosomas, posibilite un comportamiento mitótico regular. Un hecho similar parece darse en heterópteros de la familia Coreidae (Colombo & Bidau 1985) y se encuentra actualmente bajo análisis.

Con respecto a los segmentos supernumerarios, no es mucho lo que puede decirse con un grado aceptable de certeza. John (1981) había deparado para este tipo de segmentos la incómoda categoría de "polimorfismos transitorios", esto es, polimorfismos neutrales que se incorporan por mutación y que elevan su frecuencia por deriva genética hasta que por el mismo proceso se pierden o se fijan; en este sentido, su destino sería análogo a los genes neutrales de la teoría neutralista de King y Kimura (ver Kimura 1983 para una revisión). Sin embargo, John (1981) hace la salvedad de que una distribución amplia de un mismo segmento (o de cualquier polimorfismo) argumentaría en contra de su neutralidad y haría más bien pensar en algún efecto fisiológico no detectado que podría explicar su mantenimiento. Este puede ser el caso del segmento α_1 de *Leptysmia argentina*; en efecto, este segmento fue hallado en todas las poblaciones de *L. argentina* estudiadas hasta el momento (incluyendo la población uruguaya estudiada por Amoedo, comunicación personal al Dr. C. Bidau) y esta circunstancia, sumada a las débiles pero consistentes fluctuaciones en la frecuencia de sus genotipos en dos poblaciones a lo largo de la "estación meiótica" hace que la neutralidad no parezca ser la hipótesis más adecuada para explicar su presencia en las poblaciones. Sin embargo, hasta el momento la razón del mantenimiento de

este segmento no está clara. Se observó una correlación entre la frecuencia del segmento por población y los índices de precipitaciones anuales, así como un aumento de su frecuencia en los años de 1987 y 1988, que fueron de intensa sequía. Estas correlaciones sugerirían un posible papel de este segmento en el balance hídrico, pero la evidencia es más que insuficiente y sería preferible la realización de algún experimento en este sentido para poder hacer una afirmación más taxativa.

La situación del segmento s_2 es diferente; es cierto que ha sido hallado en varias poblaciones (no en todas), pero también se debe hacer notar que en esos casos su frecuencia fue baja y en algunos casos fluctuante. Tampoco se hallaron correlaciones de su frecuencia con las de los otros polimorfismos de *L. argentina* ni fue posible asignarle patrón geográfico alguno; por lo tanto entra en la categoría de los polimorfismos que podrían mantenerse por presión mutacional. John & al. (1986) señalan que este tipo de mutaciones no es infrecuente, al menos en algunas especies de ortópteros. Cabe recordar que el segmento s_2 presenta tamaños variables (aun dentro de una misma población) y se ubica en una región cromosómica donde, al menos en teoría, la presencia de secuencias repetidas es común.

6. Fusiones céntricas:

Las fusiones céntricas son reordenamientos cromosómicos que alteran las condiciones de ligamiento de los genes y han sido tradicionalmente considerados -junto con los polimorfismos de inversión- como mecanismos cromosómicos que permiten mantener libres de recombinación a determinadas regiones del genoma. En efecto -como ya fue señalado por Bidau (1984)- el número de gametas distintas que puede originar un organismo con n pares de cromosomas es de 2^n ; si ese número de grupos de ligamiento se reduce en 1, las combinaciones posibles serán ahora de $2^{(n-1)}$, es decir, se habrán reducido a la mitad (ver **Resultados, 7.5.**).

Tal como surge de un examen veloz de sus cariotipos, la subfamilia Leptysminae parece tener propensión a la reducción del número cromosómico por medio de fusiones céntricas. En efecto, en 5 especies -ó si se incluye a *Leptysma sp.*- se han

hallado fusiones céntricas fijadas (*Leptysma argentina*, *Stenopola pallida*, *Tetrataenia surinama*) y polimórficas (de nuevo *L. argentina*) y *Cornops aquaticum*, que al parecer presenta polimorfismos para al menos 3 fusiones céntricas (Mesa 1956, Mesa & al. 1982); *Stenopola bohlsi*, además, presenta un número cromosómico de $2n=21$ en el macho, debido a una fusión céntrica autosómica que al parecer se encuentra fijada (Colombo, en preparación). El caso de *Leptysma sp.* resulta de particular interés por dos motivos: es el cariotipo más reducido hallado entre los leptysminos ($2n=16$) y el único que presenta un sistema de determinación del sexo neoX-noY. Este último hecho indica que la "tendencia" a observar fusiones céntricas alcanza a todo el genoma. Por otra parte, esta especie fue clasificada por el Dr. Ricardo Ronderos (especialista en sistemática de ortópteros) como perteneciente a *Leptysma argentina*, según criterios puramente morfológicos. Este hecho es sugestivo de la existencia de especies gemelas e incluso de que las fusiones céntricas hayan tenido algún papel en el origen de *L. sp.*

Resulta tentador asignar esta propensión a sufrir fusiones céntricas a alguna "tendencia interna" o a algún tipo de "ortoselección cariotípica" del tipo postulado por White (1978), es decir, de presiones selectivas similares que determinan la evolución de cariotipos también similares. En este punto es válido plantearse si se trata de ortoselección o de *ortogénesis*. El término *ortogénesis* había sido propiciado por Haacke en 1963 (Rieger & al. 1968) al calor del pensamiento vitalista que postulaba la existencia de tendencias internas, y en razón de lo cual el término había sido largamente proscrito del léxico biológico moderno. Sin embargo, es posible que la reiterada aparición de reordenamientos del mismo tipo en grupos filéticos relacionados (como las fusiones en los leptysminos, y tal vez las inversiones pericéntricas en los trimerotropinos) obedezcan a presiones de *mutación* más que de selección. Otros factores a considerar son los internos, y que pueden considerarse *preadaptaciones*, como la conducción meiótica o la buena orientación de los trivalentes porque contribuirían al establecimiento de determinados tipos de reordenamientos en detrimento de otros. Este párrafo es enteramente especulativo, pero se me perdonará la inclusión de un hecho

concreto: la mutación espontánea que originó la fusión 5/7. Esta fusión, tal como se enfatizó en **Resultados**, presentó un porcentaje de orientación alterna mucho menor y una frecuencia de quiasmas proximales mucho mayor que la del trivalente 3/6, correspondiente a la fusión polimórfica 3/6. Sin embargo, cuando se lo compara con otros trivalentes resultado de fusiones espontáneas, encontramos que la frecuencia de "buena" orientación es inusualmente alta para el trivalente 5/7 (Sybenga 1975, Remis 1989). ¿Constituiría este hecho una preadaptación para el establecimiento de fusiones -polimórficas o fijadas- en las especies de esta subfamilia? Imposible afirmarlo, al menos con estas pruebas. El proyectado estudio de la meiosis femenina de *Leptysmia argentina*, con el fin de determinar la existencia o no de conducción meiótica para la fusión 3/6, podría arrojar luz sobre el asunto. También el caso de los Trimerotropinos (con su tendencia a observar apareamiento no homólogo en los bivalentes mutuamente invertidos, de Vaio & al. 1979, Hewitt 1979, Confalonieri 1988, Confalonieri & Colombo 1989) podría considerarse un caso de preadaptación.

7. Efectos de la fusión 3/6: su significado adaptativo.

Tal como se señaló anteriormente, la fusión 3/6 produce: a) Reducción del número de grupos de ligamiento; b) Supresión de la formación de quiasmas intersticiales y proximales en los cromosomas involucrados en la fusión; y c) Reducción de la frecuencia de quiasmas proximales e intersticiales en el resto de los cromosomas. Todos estos efectos conducen a una disminución de la recombinación. Por otra parte, en aquellas poblaciones donde el número de individuos coleccionado permitió la realización de pruebas estadísticas se ha observado también que los portadores de la fusión 3/6 son significativamente más grandes. Por fin, el análisis de las frecuencias cariotípicas a lo largo de una generación permitió determinar que existe un incremento en la frecuencia de los homocigotas de fusión conforme avanza la estación.

Teniendo en cuenta los datos correspondientes a los efectos fenotípicos de la fusión, y también a su distribución geográfica y a las fluctuaciones de sus frecuencias, se pueden postular -a título de hipótesis de trabajo- las

siguientes explicaciones tentativas de su posible significado adaptativo, a saber:

1) La distribución geográfica de la fusión 3/6 sigue un patrón central-marginal análogo al descrito para algunas especies de *Drosophila* (Carson 1955, Dobzhansky & al. 1963, Brussard 1984). Es sabido que las poblaciones ecológicamente centrales de *Drosophila* a menudo exhiben un nivel mayor de polimorfismos de inversión que las marginales. Este patrón ha sido atribuido por algunos autores al hecho de que las poblaciones marginales necesitarían mayor variabilidad genotípica que las centrales para así poder enfrentar las presiones selectivas incrementadas que son inherentes a los habitats periféricos (Carson 1955, Brussard 1984). De hecho, se ha demostrado experimentalmente que poblaciones marginales de *Drosophila robusta*, con bajo nivel de polimorfismo, responden más rápidamente a la selección artificial para número incrementado de setas esternopleurales que las poblaciones centrales, con alto nivel de polimorfismo (Carson 1958).

En el caso de *Drosophila*, la restricción en la recombinación se produce sólo en los heterocigotas y se circunscribe a la región abarcada por las inversiones; en el caso de *Leptysma argentina*, esta restricción se extiende a todo el genoma (por la disminución de la frecuencia de quiasmas y su distribución proximal-distal) y se acentúa en los homocigotas de fusión. Cabe por lo tanto esperar, en caso de un patrón análogo al central-marginal de *Drosophila*, que en las áreas ecológicamente centrales la frecuencia de la fusión sea máxima, mientras que en las zonas marginales debería ser mínima (en el caso de las inversiones lo que debe ser máximo es la heterocigosis, por lo que las poblaciones centrales propenderán a las frecuencias intermedias).

Uno de los procedimientos utilizados para decidir si un hábitat es ecológicamente central o marginal para una especie dada consiste en determinar su frecuencia con respecto a otras especies que presenten un nicho ecológico similar y que por lo tanto sean potenciales competidoras de ella (Carson 1955, Brussard 1984). Según este criterio, las poblaciones de *L. argentina* ubicadas hacia el norte (Santa Fe y Entre Ríos) son visiblemente más marginales que las de la Pcia. de Buenos Aires, dado que en Santa Fe esta especie

comparte su hábitat con al menos otras tres especies de leptysminos (*Tucayaca gracilis*, *Leptysmina gracilis* y *Haroldgrantia lignosa*) que claramente exceden a *L. argentina* en densidad. En la población EP (Entre Ríos) *L. argentina* es encontrada junto con *Cylindrotettix obscurus* y *C. santarosae* (también leptysminos), especies que se encuentran en el margen sur de su distribución (Amedegnato 1974, Roberts 1978, Ronderos, comunicación personal) y que por consiguiente presentan una frecuencia menor que la de *L. argentina*. Finalmente, las poblaciones bonaerenses de *L. argentina* (en su hábitat específico) son más densas que las de cualquier otro ortóptero. Si bien estas determinaciones cualitativas, basadas en el esfuerzo relativo de captura, son sólo aproximativas, dan la idea de que la competencia interespecífica se incrementa de sur a norte, concomitantemente con niveles crecientes de recombinación. La existencia de una mayor variabilidad genotípica en las poblaciones del norte sobre la que podría actuar la selección, sin embargo, sólo podría quedar plenamente demostrada efectuando selección artificial (tal vez no sea *L. argentina* el modelo más adecuado para este tipo de estudios). Westerman (1983) intentó una aproximación al problema de la variabilidad genética mediante la cuantificación de la variabilidad morfológica, medida en desviaciones estándar con respecto a la media, a fin de comprobar si las poblaciones con diferentes frecuencias para un cromosoma B que producía aumento de la frecuencia de quiasmas tenían o no mayor variabilidad. Para ello efectuó correlaciones entre un coeficiente de variación (la varianza estandarizada por la media) y la frecuencia de quiasmas en varias poblaciones. Según el modelo de Westerman, la variabilidad morfológica debía correlacionarse *positivamente* con el índice de recombinación. Sin embargo, la correlación que obtuvo fue *negativa*; Westerman (1983) interpretó que efectivamente las poblaciones con mayor índice de recombinación *liberaron* mayor cantidad de variabilidad; tanto es así que quedaron más expuestas a la selección y por lo tanto su variabilidad se agotó (lo que explica la correlación negativa). Está claro que el modelo de Westerman goza de un evidente valor adaptativo, y si bien no dice nada sobre lo que pretende explicar, en cambio dice mucho sobre Westerman. Su aplicación

en el caso de *Dichroplus pratensis* (Bidau & Tosto 1986) sólo arrojó resultados contradictorios, y en el caso de *Leptysma argentina* es enteramente inaplicable, debido a los efectos de la fusión céntrica sobre el tamaño de los portadores. Tal vez la aplicación de alguno de los índices de recombinación propuestos en **Resultados 7.5.** a cualquiera de las dos especies produzca algún resultado digno de mención.

2) Otra hipótesis aplicable a la distribución de la fusión céntrica 3/6 tiene que ver precisamente con sus efectos sobre los rasgos morfológicos. Se ha hallado que no toda la correlación entre las medias por población y la frecuencia de la fusión se debe a la diferencia entre cariotipos, sino que individuos con el mismo cariotipo son más grandes en las poblaciones que presentan frecuencias más altas de la fusión 3/6. Esto lleva a pensar que las presiones selectivas que determinan tamaños mayores en los individuos de las poblaciones bonaerenses podrían actuar en dos niveles: uno génico, modificando las frecuencias de los genes específicos (y que afectaría a todos los cariotipos por igual), y otro cromosómico, alterando la frecuencia del cromosoma 3/6.

Una pregunta que podría plantearse es porqué podría "preferir" la selección una situación como la descrita, en vez de modificar directamente las frecuencias de quiasmas y/o el tamaño corporal de los individuos actuando sobre los genes que controlan esas características (1). Una respuesta sería que tanto la frecuencia de quiasmas como el tamaño de los individuos no está controlado por un solo gen, sino por muchos. En efecto, estudios genéticos en plantas (Gale & Rees 1970) y en *Drosophila* (Chinnici 1971, Kidwell 1972) demostraron que la recombinación es controlada por poligenes que actúan en forma aditiva. Estos poligenes pueden responder a selección artificial direccional intensa (Shaw 1972, 1974, Charlesworth & Charlesworth 1985). Sin embargo, cuando la selección actúa con bajos coeficientes -como es probablemente el caso- la respuesta sería más rápida si hubiera un gen mayor o un rearreglo cromosómico que produjese un efecto marcado sobre estos parámetros. Por lo tanto, la fusión 3/6 podría conferir la plasticidad necesaria para alcanzar una respuesta rápida ante cambios bruscos en el ambiente o ante

(1) Perdónese el tono teleológico.

nuevos hábitats, dejando las modificaciones en el genotipo para ajustes más finos y menos urgentes.

Queda por determinar el significado adaptativo (si lo hubiere) del efecto exofenotípico. El aumento de tamaño en las poblaciones del sur podría estar relacionado con una mayor resistencia a temperaturas más bajas (Amedegnato 1974). Esta hipótesis, que postula que la fusión 3/6 sería un mecanismo para conquistar áreas ecológicamente marginales (y, de hecho, la Pcia. de Bs. As. y el Uruguay se hallan en el extremo sur de la distribución de *L. argentina*) es parcialmente contradictoria con la hipótesis anterior (parcialmente porque los criterios para determinar "centralidad" o "marginalidad" son diferentes en cada caso; en el primero se tiene en cuenta la competencia interespecífica, mientras que en el segundo se tienen en cuenta los parámetros ambientales tolerables para la especie). Queda por verse, entonces, si los portadores de la fusión tienen o no efectivamente mayor tolerancia a las bajas temperaturas, lo que sólo puede ser decidido en forma experimental.

El problema puede también ser contemplado, desde una perspectiva ecológica, como un caso de desplazamiento de carácter (Schluter & al. 1985). En las poblaciones bonaerenses *Leptysma argentina* es el leptysmino de mayor tamaño (seguido por *Tucayaca parvula* y *Stenopola bohlsi*). Por el contrario, en las poblaciones de Santa Fe y Entre Ríos *Leptysma argentina* estaría desplazada en tamaño por *Leptysmina gracilis* y las dos especies del género *Cylindrotettix*, que presentan aproximadamente el mismo tamaño que los *L. argentina* de las poblaciones del sur. Según esta hipótesis, la fusión 3/6 sería adaptativa en el sur pero no en el norte, donde *L. argentina* compite con *Leptysmina gracilis*. La hipótesis de desplazamiento de carácter podría ser sometida a contraste si se analizaran poblaciones en que estas especies no conviviesen, y podría ser fácilmente distinguible de la selección paralela por idénticas presiones selectivas (Endler 1986).

Una última hipótesis es que la fusión 3/6, originada en el sur y cuya frecuencia aumenta debido a conducción meiótica, se esté extendiendo hacia el norte; de manera que la zona en que esta fusión es polimórfica sería nada más que

una extensa zona híbrida. Esta posibilidad podría ser corroborada mediante un estudio de la meiosis femenina.

8. Distribución de quiasmas:

El estudio de distribución de quiasmas realizado comparando los tres cariotipos de la fusión 3/6 en una población de *L. argentina* aportó algunas conclusiones interesantes; pero además de aportar elementos nuevos, permite enfocar de otra manera el problema de las relaciones entre la fusión 3/6 y la recombinación. En efecto, la hipótesis de trabajo que condujo esta investigación: I) Consideraba que la fusión 3/6 producía un incremento de la interferencia quiasmática; II) Sostenía que la interferencia incrementada producía un descenso de la frecuencia de quiasmas en todos los bivalentes que formaban más de un quiasma; III) Nada decía de la distancia diferencial; IV) Consideraba como un supuesto la ausencia de interferencia a través del centrómero, y V) Suponía que los "efectos intercromosómicos" eran de una naturaleza diferente, y que nada tenían que ver con la interferencia. Sin embargo, los resultados fueron casi totalmente opuestos con lo esperado: se incrementa la interferencia, pero esto no provoca una disminución de la frecuencia de quiasmas en los cromosomas telocéntricos como se esperaba, sino en los metacéntricos; la constancia de la frecuencia de quiasmas en los telocéntricos pese al aumento de la interferencia se debe a que éstos ahora se forman más próximos a los extremos; la disminución de la frecuencia de quiasmas en los metacéntricos llevó a revisar el supuesto de la ausencia de interferencia transcromosómica y se pudo así constatar que la interferencia (al menos en el cromosoma 1 de *Leptysma argentina*) opera a través del centrómero; finalmente este hecho llevó a la eliminación de la arbitraria categoría "efectos intracromosómicos", que así se vieron reunidos con los "efectos intercromosómicos" en cuanto a que tienen un mismo origen, es decir, un incremento de la interferencia quiasmática. Este es uno de los pocos casos en que se comunica la existencia de interferencia a través del centrómero; sin embargo, es posible que la no detección de este fenómeno en otros casos se deba a enfoques estadísticos inadecuados. (Ver Resultados 7.4.).

9. Origen de la fusión 3/6:

Queda finalmente el problema del origen de la fusión 3/6. La doctrina requiere que un reordenamiento como éste, que puede presentar heterosis negativa, haya sido seleccionado a favor en sus orígenes por alguna hipotética ventaja selectiva de sus portadores. Sabemos los efectos que la fusión céntrica presenta actualmente sobre sus portadores, pero no sabemos si los poseía entonces. Si el incremento de la interferencia a través del centrómero es un efecto directo de la fusión, ésta pudo haber sido una preadaptación para el mantenimiento del polimorfismo; los genes que producen efecto sobre el tamaño (hipotéticamente adaptativos) se habrían acumulado después en el metacéntrico, como consecuencia de la casi nula recombinación con sus homólogos telocéntricos. Si el incremento de la interferencia no es un efecto directo de la fusión, debió haber sido seleccionado a favor en las primeras generaciones, con la consiguiente heterosis negativa -y simétricamente, los genes responsables de este efecto se habrían acumulado en el metacéntrico. Para ello, los portadores de la fusión debían presentar alguna ventaja adaptativa que morigerase la heterosis negativa, y el efecto sobre el tamaño es un buen candidato para ello.

Por supuesto, el creciente aislamiento entre el metacéntrico 3/6 y los acrocéntricos 3 y 6 puede haber llevado a que los heterocigotas para la fusión sean además heterocigotas para la mayoría de los loci allí situados y que en consecuencia una situación heterótica explique -al menos en parte- el mantenimiento del polimorfismo (Brussard 1984). Este planteo se ve refrendado por la carencia de ejemplos de fusiones céntricas en mutantes espontáneos (es decir, sin historia de selección previa) en los que se alcance un grado de redistribución quiasmática semejante (Southern 1967 b), Polani 1972, Vilardi 1984, Peters 1982, Teoh y Yong 1983, López Fernández & al. 1984, Remis 1988 y Remis ,comunicación personal). El autor de este trabajo ha tenido la oportunidad de comparar dos tipos de trivalentes en un mutante espontáneo para una fusión entre los pares 5 y 7 (fusión 5/7) que además era heterocigota para la fusión 3/6; mientras que éste mostraba una frecuencia mínima de quiasmas, mayormente de posición distal, el trivalente 5/7 no mostraba diferencias a

ese respecto con los otros cromosomas del complemento ni con otros cromosomas 5 y 7 de otros individuos. Por supuesto, la frecuencia de orientación lineal (que produce gametas desbalanceadas) fue mucho mayor en este último (36 % contra 3 % del III 3/6)(ver **Resultados**). Por otra parte, si bien los metacéntricos fijados (como en el caso del cromosoma 1 de *L. argentina*) suelen mostrar una menor frecuencia de quiasmas proximales e intersticiales, éstos nunca llegan al extremo de los metacéntricos en estado polimórfico, como es el caso del cromosoma 3/6 de *L. argentina* y los varios metacéntricos de fusión en estado polimórfico de *D. pratensis* (Bidau 1984, Bidau & Mirol 1988, Bidau 1989).

Como una hipótesis alternativa, Bidau (1989) sostiene que la disminución -de hecho, la virtual supresión- de los quiasmas proximales e intersticiales de los metacéntricos en estado polimórfico podría explicarse por modificaciones en la sinapsis. Sin embargo, estas modificaciones no fueron observadas ni en *Leptysma argentina* ni en *Dichroplus pratensis*, y por lo tanto la base fáctica de ambas afirmaciones es la misma: cero. En segundo lugar, esta hipótesis sólo funcionaría en el caso de los heterocigotas. En efecto, se han detectado errores de apareamiento en individuos híbridos para fusiones céntricas en *Mus musculus* (Gropp & Winking 1984), y se sabe que cierto nivel de desinapsis está asociado con la hibridez estructural (Parker & al. 1982). Sin embargo tanto en *L. argentina* como en *D. pratensis* la virtual supresión de los quiasmas proximales e intersticiales en el cromosoma fusionado *no se revierte* en los homocigotas de fusión, como podría esperarse de dos cromosomas que son semejantes y que no presentan hibridez estructural (y como de hecho se ha observado en *Mus musculus*, Gropp & Winking 1984) sino que la estricta localización de quiasmas se mantiene.

Según nuestra opinión, la solución a este dilema debe buscarse en las poblaciones naturales. Si la redistribución de los quiasmas en los metacéntricos polimórficos fuera realmente producto de la selección contra los III mal orientados, entonces podría esperarse que en una población donde estos metacéntricos estuviesen fijados la selección pudiera relajarse, siendo posible por lo tanto que aparezcan nuevamente metacéntricos con alta frecuencia de quiasmas

proximales. Tales poblaciones no fueron encontradas en *L. argentina*, pero sí afortunadamente en *D. pratensis* (Bidau 1988), donde se compararon dos poblaciones en que los metacéntricos 1/2, 3/4 y 5/6 se encuentran fijados y en estado polimórfico, respectivamente. En ésta última, los homocigotas de fusión presentan una gran restricción en su frecuencia de quiasmas proximales en los bivalentes metacéntricos, mientras que en la población en que las fusiones están fijadas la frecuencia de quiasmas proximales aumenta en forma altamente significativa (Bidau 1989). En nuestra opinión, ésta es una buena demostración del papel de la selección en la localización distal de los quiasmas en metacéntricos que se encuentran en estado polimórfico.

.....

Lo que se ha visto hasta aquí corresponde al primer intento, más o menos sistemático, de comprender desde una óptica integrada el significado de la variación cromosómica en esta especie. Las hipótesis mencionadas en este trabajo son pasibles de demostración o de refutación, y en nuestra opinión suministran pistas para investigaciones futuras. Sin embargo, mientras no se hayan caracterizado con alguna certeza los parámetros ecológicos en los que se mueven *L. argentina* y sus especies potencialmente competidoras, así como hasta que no se hayan tomado muestras que cubran mejor la amplia zona de distribución de *Leptysma argentina*, estas hipótesis permanecerán por algún tiempo más en el concurrido ámbito de la conjetura.

APENDICE:

1) Programa para el cálculo del índice 1 (ver texto en Resultados 7.4) a partir de los datos de distribución de quiasmas de *Leptysma argentina*:

2) Programa para el cálculo del índice 2 (ver texto en Resultados 7.4) a partir de los datos de distribución de quiasmas de *Leptysma argentina*:

SUMMARY:**POPULATION CHROMOSOMAL STUDIES IN THE SUBFAMILY LEPTYSMINAE (ACRIDIDAE: ORTHOPTERA):**

It is currently accepted that most inversion polymorphisms in *Drosophila* are being maintained by natural selection. This certainty is strengthened by many studies regarding geographic distribution, temporal and spatial variation of inversion frequencies and their correlation with environmental variables. Recently, more accurate experimental studies have characterized the selection components that contribute to the maintenance of these polymorphisms. This experimental approach is eased because of the characteristics of *Drosophila* -a paradigmatic case in population genetic studies.

However, there are other organisms that display a considerable amount of chromosomal variation, either at a polymorphic, polytypic or between-species level: one of these groups of organisms are the orthopterans. Although the characteristics of the material makes it less fit for experimental studies, they show some other peculiarities that reveal them to be more adequate for a different approach: they have discrete generations, their vagility is low and meiotic figures are clear. This fact allow the development of detailed chiasma distribution studies, what permits an accurate determination of the effects that these rearrangements usually exert on genetic recombination.

In the present work nine populations of the orthopteran *Leptysma argentina* (Acrididae: Leptysminae) were analysed. Four polymorphic chromosomal variations were detected, namely: a) A B (supernumerary) chromosome; b) An interstitial supernumerary segment (s_1) and a proximal one (s_2) with respect to the centromere, in the smallest member of the complement (10^{th} pair), and c) A centric fusion between pairs 3 and 6 of the basic complement.

Once analysed the meiotic behaviour of all four variations, it was determined that supernumerary segments -in spite of the multiple configurations that both segments form in pair 10- show a quite regular meiotic behaviour; that the B-chromosome displays the irregular behaviour, characteristic

of these elements, and that fusion 3/6 determines the formation of three karyotypes: basic homozygotes (in which two telocentric bivalents are formed), heterozygotes (what determines the formation of a trivalent) and fusion homozygotes (in which a metacentric bivalent is formed). The trivalent behaviour was quite regular (95 % alternate orientation), what suggests that it is a stable and probably ancient polymorphism.

Besides, the geographic distribution of all polymorphisms, the fluctuations of their frequencies along the time and the correlations of all of them with geographic and climatic variables and among them, were analysed. These studies showed that: I) There would be a geographic pattern for all polymorphisms, excepting probably s_2 . II) The frequencies of fusion 3/6 and s_1 are negatively correlated with temperature and mean pluviometric records per year, respectively. III) The frequency of the B-chromosome is negatively correlated with that of the fused 3/6 chromosome.

The study of fluctuations in the frequency of polymorphisms as a function of time was by purpose divided into two aspects: I) Fluctuations of **chromosomal** frequency along several generations (carried out in the "El Palmar" population), and II) Modifications of **karyotypic** frequencies along **one** generation. I) Revealed that chromosome 3/6 frequencies remain unchanged (although four generations is quite a short time to make definitive conclusions), and that s_1 frequency increases in the last two years (1987 and 1988). Both years were the driest ones in recent times, what confirm the tendency previously reported (*i.e.* negative correlation between s_1 frequency with mean pluviometric records). II) evidenced a trend toward increased fusion homozygotes frequencies and decreased s_1 heterozygotes frequencies when the season was about to finish. These changes, recorded independently in two populations, could not be explained yet.

Although correlations may be informative about which polymorphisms are susceptible of being engaged in a selective relation (Endler 1986), they are not indicative of causation; consequently, these polymorphisms were studied in the effects they may exert on exo- and endophenotypic traits as an approach to their possible adaptive relevance. As it has been long accepted, a great deal of importance was conferred to

the effects that chromosome polymorphisms cause on chiasma frequency and position. However, beyond the dogmatism that prevails in some cytogenetic schools, which regard chromosome rearrangements exclusively as chromosomal devices that preserve certain regions of the genome from recombination, the effects of chromosomal change on exophenotypic traits were also studied.

The exomorphological studies revealed that fusion 3/6 carriers are bigger than non-carriers, at least considering the phenotypic variables analysed (i.e., total length, tegmina length, femur and tibia length, thorax length and thorax height), as is evident from the comparison between animals of different karyotype that belong to the same population; it was also determined that this increase in size is roughly accumulative (it is to say that fusion homozygotes are somewhat bigger than heterozygotes). This fact determines that populations with different frequencies of the fused 3/6 chromosome show a parallel variation in their average body size; in fact, there is a marked and significant correlation between fusion 3/6 frequency and the average body size per population.

The effects of polymorphisms on chiasma conditions were also analysed; the study of supernumerary segments yielded no interesting results, with the exception of a displacement of chiasmata as a consequence of the presence of proximal segments (a very common fact in these cases). It was also determined that the B chromosome is associated with an increase of univalent frequency per cell in carriers.

The effects of fusion 3/6 were much more varied. It was found that this fusion exert three main effects on recombination, namely:

- 1) Decrease in the number of linkage groups (an obvious effect of every centric fusion)

- 2) Decrease of chiasma frequency in the fused chromosome, especially in proximal and interstitial position (=intrachromosomal effects).

- 3) Decrease of total chiasma frequency, especially in proximal position (=interchromosomal effects).

Both intra- and interchromosomal effects were attributed to different causes. It was argued that intrachromosomal effects might have been produced by natural selection with the "purpose" of enhancing the frequency of alternate segregation (the only configuration that assures the production of euploid gametes). In fact, the study of a spontaneous mutant that bore a centric fusion between telocentrics 5 and 7 (fusion 5/7) -that was also a heterozygote for fusion 3/6- revealed that in the former the frequency of proximal chiasmata within the trivalent was much higher than in the latter, as well as the frequency of linear (bad) orientation. A high proximal chiasmata frequency was also found in the metacentric 1, which is not polymorphic and hence forms no trivalents. Intrachromosomal effects were by chance attributed to a direct effect of fusion 3/6 on chiasma control mechanisms, especially at the chiasma interference level. In fact, it was found that interchromosomal effects of fusion 3/6 are explainable in terms of Mather's model (1938) of sequential chiasma formation, where interference plays an important role in determining chiasma frequency and position.

In addition, the effects that other type of chromosome variation (a complex B chromosome system) exert on recombination in the closely related species *Cylindrotettix obscurus* (Leptysminae: Acrididae) were also analysed. Leaving apart the peculiarities of this complex B chromosome system (a big Iso B chromosome and a little, mitotically unstable telocentric B chromosome), the effects that each type of B chromosome alone exerted on recombination were revealed to be comparable to the interchromosomal effects that fusion 3/6 caused in *Leptysma argentina* (but directed towards an increase of proximal and total chiasma frequency) and also interpretable in terms of Mather's model (1938) (notably, the interaction of both B chromosome types produced a sensible decrease of chiasma frequency and even univalent formation).

Hence, the hypothesis mentioned above (i.e. that interchromosomal effects of fusion 3/6 are due to an intensification of chiasma interference) was tested by performing a chiasma distribution study in diplotene. With this purpose chiasma frequency and distribution were compared

in 8 basic homozygotes, 10 heterozygotes and 9 fusion homozygotes (10 cells per individual) as well as the distance from the telomere to the first chiasma (called **differential distance, "d"**) and the between-chiasma distances (called **interference distance, "i"**). It was determined that both variables are modified in fusion 3/6 carriers; "d" decreases and "i" increases. It was also found that chiasma frequency diminution of fusion carriers is due in fact to an intensification of interference, but the mechanism by which this effect is attained was wholly unexpected. The surprising fact consists in that telocentric bivalents did not change their chiasma frequency, irrespectively of the karyotype, but they adjusted their chiasma position according to a clear distal-proximal pattern. It was in the metacentric bivalents, by means of the operation of **trans-centromeric interference**, where a marked decrease of proximal chiasmata was found. It is not the first case in which the operation of interference beyond the centromere is suggested, but its real existence had not been previously demonstrated, and the statement -not exempt of dogmatism- "there is no interference across the centromere-at least among orthoptera" had been non-explicitly accepted by most authors, including the author of this work.

Given that most of the populational parameters of this species are ignored in plenitude, it is only feasible to make conjectures regarding the possible adaptive nature of these polymorphisms. Hypothesis concerning the possible role of fusion 3/6 in the regulation of recombination (it was in fact observed that its distribution resembles somewhat the **"central-marginal pattern"** found in inversion polymorphisms of some *Drosophila* species) were traced; it was also noticed that the effects on body size may have any importance at a selective level (remember the negative correlation between fusion frequency and mean body size, and how increased body sizes are frequently associated with tolerance to colder environments). In one case the explanation is centered over the effects of polymorphisms on recombination, in others the role of exophenotypic effects or the importance of correlations with environmental variables are emphasized; in all of them (at least in those considered here) the fact is

recognized that many characteristics, usually codified by many loci are here linked to a single chromosome rearrangement. This fact would make selection for or against this set of characteristics much more efficient.

Finally the problem remains of how did fusion 3/6 become a stable polymorphism in *Leptysma argentina* populations. The most commonly accepted model requires that a centric fusion, which may present negative heterosis, had been favourably selected in its origins due to a hypothetical selective advantage in its bearers. We know the effects that fusion 3/6 has now, but do not know whether these effects were present in its very origin. If the increase of trans-centromeric interference is a direct effect of fusion 3/6, this interference increase may have been a preadaptation that allowed the establishment of the polymorphism with no negative heterosis; the genes modifying body size (hypothetically adaptative) would have accumulated in the metacentric in a second instance, given the suppression of recombination in heterozygotes with their telocentric homologues. If the interference increase is not a direct effect of the centric fusion, the metacentric would have suffered a strong negative selection; this fact could have been circumvented by an adaptive direct effect of the fusion itself -let us say the body size effect. The whole question is entirely speculative, and it is finally possible that the maintenance of the fusion polymorphism have been maintained merely by meiotic drive. This possibility must be seriously considered, since fusion 3/6 could be fixing in Buenos Aires Province's populations and extending northwards by the sole operation of meiotic drive. There exists some evidence to suspect the contrary, but more experimental data are necessary in order to discard this possibility with plenitude.

BIBLIOGRAFIA:

- Amedegnato, C., 1974. Les genres d'acridiens neotropicaux. Leur classification par familles, sous-familles et tribus. *Acrida* 3: 193-204.
- Amoedo, D., 1979. Estudio citogenético en *Leptysma argentina* (Orthoptera- Acrididae- Leptysminae). *Actas IV Congreso Latinoamericano de Genética* (Mendoza, Argentina) 1: 9.
- Arana, P., Santos, J.L. & Giráldez, R., 1980. Chiasma interference and centromere coorientation in a spontaneous translocation heterozygote of *Euchorthippus pulvinatus gallicus* (Acrididae: Orthoptera). *Chromosoma* 78: 327-340.
- Baker, B.S., Carpenter, A.T.C., Esposito, M.S., Esposito, R.E. & Sandler, L. 1976. The genetic control of meiosis. *Ann. Rev. Genet.* 10: 53-134.
- Bianchi, N.O. & Merani, S., 1981. Chromosome 1 polymorphism and viability in *Akodon* (Rodentia, Cricetidae). In: Reig, O.A. (ed.): *Ecología y Genética de la Especiación*. Caracas: Equinoccio Press, Universidad Simón Bolívar.
- Bickham, J.W. & Baker, R.J., 1979. Canalization model of chromosomal evolution. In: J.H. Schwartz & H.G. Rollins. *Models and methodologies in evolutionary theory*. Bull. Carnegie Mus. Nat. Hist. 13: 70-84.
- Bidau, C.J., 1984. Estudios citogenéticos en Orthoptera de Sudamérica. Tesis de Doctorado, Universidad de Buenos Aires.
- Bidau, C.J., 1986a. geographic distribution of chromosome polymorphism in *Dichroplus pratensis* Bruner (Melanoplinae: Acrididae) in Argentina. Proc. 4th. Triennial Mtg. PAAS. (Ann. Arbor.): 165-166.
- Bidau, C.J., 1986b. A nucleolar-organising B chromosome showing segregation distortion in the grasshopper *Dichroplus pratensis* (Melanoplinae: Acrididae). *Can. J. Genet. Cytol.* 28: 138-148.
- Bidau, C.J., 1986c. Effects on cytokinesis and sperm formation of a B-isochromosome in *Metaleptea brevicornis adspersa* (Acrididae: Acridinae). *Caryologia* 39: 165-177.
- Bidau, C.J., 1987. Influence of a rare unstable B chromosome on chiasma frequency and non-haploid sperm formation in *Dichroplus pratensis* (Melanoplinae: Acrididae). *genetica* 73: 201-210.

- Bidau, C.J., 1987. Zonas híbridas en ortópteros: el ejemplo de *Dichroplus pratensis* (Acrididae). Actas I Congreso Argentino de Entomología (Tucumán): en prensa.
- Bidau, C.J. & Confalonieri, V.A., 1988. A cytophotometric study of micro- and macrospermatids in three species of grasshoppers (Acrididae). *Cytobios* 53: 31-41.
- Bidau, C.J. & Hasson, E.R., 1984. Population cytology of *Leptysma argentina* Bruner (Leptysminae: Acrididae). *Genetica* 62: 161-175.
- Bidau, C.J. & Mirol, P., 1988. Orientation and segregation of Robertsonian trivalents in *Dichroplus pratensis* (Acrididae). *Genome* 30: 947-955.
- Brussard, P.E., 1984. Geographic patterns and environmental gradients: the central-marginal model revisited. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 15: 24-64.
- Carson, H.L., 1955. The genetic characteristics of marginal populations of *Drosophila*. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 20: 276-287.
- Carson, H.L., 1958. Response to selection under different conditions of recombination in *Drosophila*. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 23: 291-306.
- Callan, H.G. & Montalenti, G., 1947. Chiasma interference in mosquitoes. *J. Genet.* 48: 119-134.
- Callan, H.G. & Perry, P.E. 1977. Recombination in male and female meiocytes contrasted. *Philos. Trans. R. Soc. London* 277: 227-233.
- Capanna, E., Civitelli, M.V. & Cristaldi, M., 1977. Chromosomal rearrangement, reproductive isolation and speciation in mammals. The case of *Mus musculus*. *Bull. Zool.* 44: 213-246.
- Capanna, E., Corti, M., Nascetti, G. & Bullini, L., 1985. Pre- and post-mating isolating mechanisms in the speciation of the European long-tailed house mouse (*Mus musculus domesticus*). *Acta Zool. Fennica* 170: 115-120.
- Cardoso, H. & Dutra, A., 1979. The Neo-X Neo-Y pair in Acrididae, its structure and association. *Chromosoma* 70: 323-336.
- 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., 1985. Genetic variation and recombination in *Drosophila*. II. Genetic analysis of a high recombination stock. *Heredity* 54: 85-98.

- Chinnici, J.P., 1971. Modification of recombination frequency in *Drosophila*. II. The polygenic control of crossing-over. *Genetics* 69: 85-96.
- Coates, D.J. & Shaw, D.D., 1982. The chromosome component of reproductive isolation in the grasshopper *Caledia captiva*. 1. Meiotic analysis of chiasma distribution patterns in two chromosomal taxa and their F₁ hybrids. *Chromosoma* 46: 173-179.
- Colombo, P.C. & C.J. Bidau. 1985. Estudios cromosómicos en Heterópteros Argentinos I. Los cromosomas meióticos de cinco especies de Coreidae. *Physis C*, 43: 29-40.
- Colombo, P.C., 1987. Effects of centric fusions on chiasma frequency and position in *Leptysma argentina* (Acrididae: Orthoptera). I. Spontaneous centric fusion. *Genetica* 71: 171-179.
- Colombo, P.C., 1989. Effects of B-chromosomes on recombination in *Cylindrotettix obscurus* (Leptysminae: Acrididae). *Caryologia*: en prensa.
- Colombo, P.C., 1989. Polimorfismos cromosómicos en ortópteros. *Rev. Soc. Ent. Arg.*: en prensa.
- Colombo, P.C., 1989. Chromosome polymorphisms affecting recombination and exophenotypic traits in *Leptysma argentina* (Orthoptera). *Heredity*: en prensa.
- Colombo, P.C., 1989. Effects of centric fusions on chiasma frequency and position in *Leptysma argentina* (Acrididae: Orthoptera). II. Intra- and interchromosome effects. *Caryologia*: en prensa.
- Confalonieri, V.A., 1988. Effects of centric-shift polymorphisms on chiasma conditions in *Trimerotropis pallidipennis* (Oedipodinae: Acrididae). *Genetica* 76: 171-179.
- Confalonieri, V.A. & Bidau, C.J., 1986. The B-chromosomes of two species of *Cylindrotettix* (Leptysminae: Acrididae). *Genetica* 68: 87-96.
- Confalonieri, V.A. & Colombo, P.C., 1989. Inversion polymorphisms in *Trimerotropis pallidipennis* (Orthoptera): clinal variation along an altitudinal gradient. *Heredity* 62: 107-112.
- Da Cunha, A. B. & Dobzhansky, Th., 1954. A further study of chromosomal polymorphism in *Drosophila willistoni* in relation to environment. *Evolution* 8: 119-134.
- Darlington, C.D. 1929. Chromosome behaviour and structural hybridity in the *Tradescantiae*. *J. Genet.* 21: 207-286.

- Darlington, C.D. 1930. A cytological demonstration of "genetic" crossing-over. *Proc. R. Soc. London* 107: 50-59.
- Darlington, C.D. 1932. *Recent Advances in Cytology*. Churchill, London.
- Darlington, C.D. 1937. *Recent Advances in Cytology, 2nd. Ed.* Churchill, London.
- Darlington, C.D. 1958. *The Evolution of Genetic Systems*. Oliver & Boyd, Edinburgh.
- Dobzhansky, Th., Hunter, A.S., Pavlovsky, O., Spassky, B. & Wallace, B., 1963. Genetics of natural populations XXXVI. Genetics of an isolated marginal population of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* 48: 98-103.
- Elliot, C.G. 1958. Environmental effects on the distribution of chiasmata among nuclei and bivalents and correlation between bivalents. *Heredity* 12: 429-439.
- Ennis, T.J. 1972. Meiosis in *Diabrotica* (Coleoptera: Chrysomelidae). Chiasma frequency and variation. *Can. J. Genet. Cytol.* 14: 113-128.
- Endler, J.A., 1986. *Natural selection in the wild*. Princeton University Press. Princeton, New Jersey.
- Fox, D.P., 1973. The control of chiasma distribution in the locust, *Schistocerca gregaria* (Forsk.). *Chromosoma* 43:289-328.
- Gale, M.D. & Rees, H., 1970. Genes controlling chiasma frequency in *Hordeum*. *Heredity* 25: 393-410.
- Goñi, B., Vaio, E.S. de, 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: 259-271.
- Gropp, A. & Winking, H., 1981. Robertsonian translocations: cytology, meiosis, segregation patterns and biological consequences of heterozygosity. In: Berry, R.J. (ed.): *Biology of the house mouse*. Academic Press: New York-London.
- Gropp, A., Winking, H. & Redi, C.A., 1982. Consequence of Robertsonian heterozygosity: segregational impairment of fertility versus male-limited sterility. In: P.S. Crossignant & S. Rubin (eds.), *Genetic control of gamete production and function*. pp. 115-134. Acad. Press: London.

- Hasson, E.R., 1988. Ecogenética evolutiva de *Drosophila buzzatii* y *Drosophila koepferae* (Diptera: Drosophilidae) en zonas áridas y semiáridas de Argentina. Tesis de Doctorado, Universidad de Buenos Aires.
- Hedrick, P.W., 1983. *Genetics of Populations*. Science Books International: Boston.
- Henderson, S.A. 1962. Temperature and chiasma formation in *Schistocerca gregaria*. II. Cytological effects at 40°C and the mechanism of heat induced univalence. *Chromosoma* 13: 437-463.
- Henderson, S.A., 1963. Chiasma distribution at diplotene in a locust. *Heredity* 18: 173-190.
- 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. 1964. Population cytology of British grasshoppers. I. Chiasma variation in *Chorthippus brunneus*, *Chorthippus parallelus* and *Omocestus viridulus*. *Chromosoma* 15: 212-230.
- Hewitt, G.M., 1967. An interchange that raises chiasma frequency. *Chromosoma* 21: 285-295.
- Hewitt, G.M., 1976. Meiotic drive for B-chromosomes in the primary oocytes of *Myrmeleotettix maculatus* (Orthoptera: Acrididae). *Chromosoma* 56: 381-391.
- Hewitt, G.M., 1979. *Animal Cytogenetics*. Vol. 3. Insecta 1: Orthoptera. Gebrueder Borntraeger. Berlin-Stuttgart.
- Hewitt, G.M., East, T.M. & Shaw, M.W. 1987. Sperm disfunction produced by B-chromosomes in the grasshopper *Myrmeleotettix maculatus*. *Heredity* 58: 59-68.
- Hewitt, G.M. & John, B., 1972. Inter-population sex-chromosome polymorphism in the grasshopper *Podisma pedestris*. II. Population parameters. *Chromosoma* 37: 23-42.
- Hewitt, G.M. & Schroeter, G.L., 1968. Population cytology of the genus *Oedaleonotus*. I. The karyotypic facies of *Oedaleonotus enigma* Scudder. *Chromosoma* 25: 121-140.
- Hillel, J., Feldman, M.W. & Simchen, G. 1973. Mating systems and population structure in two closely related species of the wheat group. III. Chiasma frequency and population structure. *Heredity* 31: 1-9.
- Hultén, M., 1974. Chiasma distribution at diakinesis in the normal human male. *Hereditas* 76: 55-78.

- Janssens, F.A. 1905. Spermatogénèse dans les Batraciens. III. Evolution des auxocytesimales du *Batrachoseps attenuatus*. Cellule 22: 379-425.
- Janssens, F.A. 1909. Spermatogénèse dans les Batraciens. V. La théorie de la chiasmatisation, nouvelle interprétation des cinèses de maturation. Cellule 25: 387-411.
- Janssens, F.A. 1924. La chiasmatisation dans les insectes. Cellule 34: 135-359.
- John, B., 1976. *Population Cytogenetics*. Studies in Biology N° 70. London: Edward Arnold.
- John, B. 1981a. Chromosome change and evolutionary change: a critique. In: W.R. Atcheley & D.S. Woodruff (eds.): *Evolution and Speciation*. pp. 23-51. Cambridge University Press: Cambridge.
- John, B., 1983. The role of chromosome change in the evolution of orthopteroid insects. In: A.K. Sharma & A.M. Sharma (eds.): *Chromosomes in the evolution of eukaryotic groups*, Vol. 1. pp. 1-114. C.R.C. Press: Florida.
- John, B., Appels, R. & Contreras, N., 1986. Population cytogenetics of *Atractomorpha similis*. II. Molecular characterisation of the distal C-polymorphisms. Chromosoma 94: 45-58.
- John, B. & Freeman, M., 1975. Causes and consequences of Robertsonian exchange. Chromosoma 52: 123-136.
- John, B. & Freeman, M., 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*. I. The mechanics. Chromosoma 16: 548-578.
- John, B. & Hewitt, G.M., 1965b. The B-chromosome system of *Myrmeleotettix maculatus*. II. The statics. Chromosoma 17: 121-138.
- John, B. & Hewitt, G.M., 1970. Inter-population sex-chromosome polymorphism in the grasshopper *Podisma pedestris*. I. Fundamental facts. Chromosoma 31: 291-308.
- John, B. & Lewis, K.R. 1965. *The meiotic system*. *Protoplasmatologia v1/F/1*. Springer Verlag, Viena.
- John, B. & Lewis, K.R. 1966. Chromosome variability and geographical distribution in insects. Science 152: 711-721.

- Jones, G.H. 1987. Chiasmata. In: *Meiosis*. P. Moens, ed. London-New York-San Francisco: Academic Press.
- Jones, G.H. & Tease, C. 1980. Meiotic exchange analysis by molecular labelling. *Chromosomes Today* 7: 114-125.
- Jones, R.N., & Rees, H., 1967. Genotypic control of chromosome behaviour in rye. XI. The influence of B-chromosomes on meiosis. *Heredity* 22: 333-347.
- Jones, R.N. & Rees, H., 1982. *B-chromosomes*. Academic Press: London.
- Kidwell, M.G., 1972. Genetic change of recombination value in *Drosophila melanogaster*. I. Artificial selection for high and low recombination and some properties of recombination-modifying genes. *Genetics* 70: 419-432.
- Kimura, M., 1983. The neutral theory of molecular evolution. In: *Evolution of genes and proteins*. Nei, M. & Koehn, R., Eds. Sinauer Associates Inc. Publishers: Sunderland, Massachusetts.
- King, R.C. & Hayman, D. 1978. Seasonal variability of chiasma frequency in *Phyllodactylus marmoratus* (Gray) (Gekkonidae: Reptilia). *Chromosoma* 69: 131-154.
- Lande, R. 1979. Effective deme sizes during long-term evolution estimated from of chromosomal rearrangement. *Evolution* 33: 234-251.
- Lande, F.L., 1985. The fixation of chromosomal rearrangements in a subdivided population with local extinction and colonization. *Heredity* 54: 323-332.
- Laurie, D.A. & Jones, G.H., 1981. Inter-individual variation in chiasma distribution in *Chorthippus brunneus* (Orthoptera: Acrididae). *Heredity* 47: 409-416.
- Lewontin, R.C. & White, M.J.D. 1960. Interaction between inversion polymorphisms of two chromosome pairs in the grasshopper *Moraba scurra*. *Evolution* 14: 116-129.
- Li, C.C., 1954. *Population Genetics*. The University of Chicago Press.
- Loidl, J. 1979. C-band proximity of chiasmata and absence of terminalisation in *Allium flavum* (Liliaceae). *Chromosoma* 73: 45-51.
- López Fernández, C., Rufas, J.S., García de la Vega, C. & Gosálvez, J., 1984. Cytogenetic studies on *Chorthippus jucundus* (Fisch.) (Orthoptera). III. The meiotic consequences of a spontaneous centric fusion. *Genetica* 63: 3-7.

- Lucchesi, J.C., 1976. Interchromosomal effects. *In: The genetics and biology of Drosophila*. M. Ashburner & E. Novitski (eds.). Academic Press: London, New York, San Francisco.
- Lucchesi, J.C. & Suzuki, D.T., 1968. The interchromosomal control of recombination. *Ann. Rev. Genet.* 2: 53-86.
- Mather, K., 1936. The determination of position in crossing-over. I. *Drosophila melanogaster*. *J. Genet.* 33: 207-235.
- Mather, K., 1937. The determination of position in crossing-over. II. The chromosome length-chiasma frequency reation. *Cytologia Fujii Jubilee Vol.*, pp. 514-526.
- Maudlin, I. 1972. Developmental variation of chiasma frequency in *Chorthippus brunneus*. *Heredity* 29: 259-262.
- Maudlin, I. & Evans, E.P., 1980. Chiasma distribution in mouse oocytes during diakinesis. *Chromosoma* 80: 49-56.
- Mesa, A., 1956. Los cromosomas de algunos acridoideos uruguayos (Orthoptera-Caelifera-Acridoidea). *Agros (Montevideo)* 141: 32-45.
- Mesa, A., Ferreira, A. & Carbonell, E., 1982. Cariologia de los acridoideos neotropicales. Estado actual de su concoimiento y nuevas contribuciones. *Ann. Soc. Ent. Fr. (NS)* 18: 507-526.
- Murray, A.W., Schultes, N.P. & Szostak, J.W., 1986. Chromosome length controls mitotic chromosome segregation in yeast. *Cell* 48: 529-536.
- Nur, U. 1969. Mitotic instability leading to an accumulation of B-chromosomes in grasshoppers. *Chromosoma* 27: 1-19.
- Nur, U., 1977. Maintenance of a "parasitic" B-chromosome in the grasshopper *Melanoplus femur-rubrum*. *Genetics* 87: 399-412.
- Ostergren, G., 1945. Heterochromatic B-chromosomes in *Anthoxanthum*. *Hereditas* 42: 235-260.
- Papeschi, A.G., 1988. C-banding and DNA content in three species of *Belostoma* (Heteroptera) with large differences in chromosome size and number. *Genetica* 76: 43-51.
- Parker, J.S., Palmer, R.W., Whitehorn, M.A.F. & Edgar, L.A., 1982. Chiasma frequency effects of structural chromosome change. *Chromosoma* 85: 673-686.
- Patterson, J.T. & Stone, 1952. *Evolution in the Genus Drosophila*. The Mc. Millan Co., New York.

- Patton, J.L. & Sherwood, S.W., 1983. Chromosome evolution and speciation in rodents. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 14: 139-158.
- Peters, G.B., 1982. The recurrence of chromosome fusion in interpopulation hybrids of the grasshopper *Atractomorpha similis*. *Chromosoma* 85: 323-347.
- Polani, P.E., 1972. Centromere localization at meiosis and the position of chiasmata in the male and female mouse. *Chromosoma* 36: 343-374.
- Rees, H. 1955. Genotypic control of chromosome behaviour in rye. I. Inbred lines. *Heredity* 9: 93-110.
- Rees, H. 1961. Geneotypic control of chromosome form and behaviour. *Bot. Rev.* 27: 288-318.
- Rees, H. & Jones, G.H. 1967. Chromosome evolution in *Lolium*. *Heredity* 9: 93-116.
- Rees, H. & Thompson, J.B. 1956. Genotypic control of chromosome behaviour in rye. III. Chiasma frequency in homozygotes and heterozygotes. *Heredity* 10: 409-424.
- Reig, O.A., Aguilera, M., Barros, M.A. & Useche, M., 1980. Chromosomal speciation in a *Rassenkreis* of Venezuelan spiny rats (genus *Proechimys*, Rodentia, Echimyidae). *Genetica* 52/53:291-312.
- Remis, M.I., 1989. Cytogenetic studies in *Sinipta dalmani* (Orthoptera: Acrididae). II. Effects of centric fusions on chiasma conditions. *Enviado*.
- Remis, M.I. & Vilardi, J.C., 1986. Meiotic behaviour and dosage effect of B chromosomes on recombination in *Dichroplus elongatus* Giglio Tos (Orthoptera: Acrididae). *Caryologia* 39: 287-301.
- Rieger, R., Michaelis, A., Green, M., 1968. *A Glossary of Genetics and Cytogenetics*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.
- Roberts, M.R., 1978. A revision of the tribe Leptysmini except the genus *Cylindrotettix* (Orthoptera: Acrididae: Leptysminae). *Proc. Nat. Sci. Phil.* 129: 33-69.
- Robertson, W.R.B., 1916. Chromosome studies. I. *J. Morphol.* 27: 179-332.
- Ruiz Rejón, M., Ruiz Rejón, C. & Oliver, J.L., 1987. Evolución de los cromosomas B. *Investigación y Ciencia* 133: 92-101.
- Rückert, J., 1892. Zur Entwicklungsgeschichte des Ovarialeies bei Selachiern. *Anat. Anz.* 7: 107-158.

- Ruse, M., 1979. *La Filosofía de la Biología*. Alianza Editorial, S.A. Madrid.
- Sáez, F.A., 1963. Gradient of the heterochromatinisation in the evolution of the sexual system "neoX-neoY". *Port. Acta. Biol. Ser. A* 7: 111-138.
- Sáez, F.A. & Pérez Mosquera, G., 1971. Citogenética del género *Dichroplus* (Orthoptera: Acrididae). *Rec. Adelantos en Biología, Cong. Arg. Cs. Biológ. V*: 11-20.
- Santos, J.L. & Giráldez, R., 1978. The effect of heterochromatin on chiasma terminalisation in *Chorthippus biguttulus* L. (Acrididae: Orthoptera). *Chromosoma* 70: 59-66.
- Scheffé, H., 1959. *The analysis of variance*. Wiley, New York.
- Schluter, D., Price, T.D. & Grant, P.R., 1985. Ecological character displacement in Darwin's finches. *Science* 227: 1059-1068.
- Schroeter, G.L., 1968. Pericentric inversion polymorphism in *Trimerotropis helperi*. Ph.D. Thesis, Universidad de California (Davis).
- Schultz, J. & Redfield, H., 1951. Interchromosomal effects on crossing over in *Drosophila*. *Cold Spring Harb. Symp. Quan. Biol.* 16: 175-197.
- Searle, J.B., 1984. Nondisjunction frequencies in Robertsonian heterozygotes from natural populations of the common shrew, *Sorex araneus* L. *Cytogenet. Cell Genet.*: 265.
- Searle, J.B., 1986 a. Factors responsible for a karyotypic polymorphism in the common shrew, *Sorex araneus* L. *Proc. R. Soc. Lond.* B229: 277.
- Searle, J.B., 1986 b. Meiotic studies of Robertsonian heterozygotes from natural populations of the common shrew, *Sorex araneus* L. *Cytogenet. Cell Genet.* 41: 154.
- Searle, J.B., 1988. Selection and Robertsonian Variation in Nature: the Case of the Common Shrew. *In: The Cytogenetics of Mammalian Autosomal Rearrangements*. A. Daniel, ed. pp. 507-531. Alan R. Liss, Inc.
- Snedecor, D.I., 1956. *Statistical methods*. 5th ed. Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa.
- Shaw, D.D., 1972. Genetic and environmental components of chiasma control. II. The response to selection in *Schistocerca*. *Chromosoma* 37: 297-308!
- Shaw, DD., 1974. Genetic and environmental components of chiasma control. III. Genetic analysis of chiasma

- frequency variation in two selected lines of *Schistocerca gregaria* Forskal. *Chromosoma* 46: 365-374.
- Shaw, D.D. & Knowles, G.R., 1976. Comparative chiasma analysis using a computerised optical digitiser. *Chromosoma* 89: 103-127.
- Southern, D.I., 1967a. Chiasma distribution in truxaline grasshoppers. *Chromosoma* 22: 164-191.
- Southern, D.I., 1967b. Spontaneous chromosome mutations in truxaline grasshoppers. *Chromosoma* 22: 241-247.
- Speed, R.M. 1977. The effects of ageing on the meiotic chromosomes of male and female mice. *Chromosoma* 64: 241-254.
- Sperlich, D. & Pfriem, P. 1986. Chromosomal polymorphisms in natural and experimental populations. *In: The genetics and biology of Drosophila; Vol. 3e.* Academic Press Inc. (London).
- Stebbins, G.L., 1966. *Processes of Organic Evolution.* Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, New Jersey.
- Sybenga, J., 1975. *Meiotic configurations.* Monogr. Theor. Appl. Genet. Vol. 1. Berlin-Heidelberg-New York: Springer.
- Tease, C. & Jones, G.H. 1976. Chromosome specific control of chiasma formation in *Crepis capillaris*. *Chromosoma* 57: 33-49.
- Templeton, A.R., 1981. Mechanisms of speciation: a population genetic approach. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 12: 23-48.
- Teoh, S.B. & Yong, H.S., 1983. A spontaneous centric fusion heterozygote in the tropical grasshopper, *Valanga nigrocornis* (Burmeister). *Caryologia* 36: 165-173.
- Tosto, D. & Bidau, C.J., 1987. Análisis de la variabilidad morfológica de razas cromosómicas de *Dichroplus pratensis* en relación a la capacidad potencial de recombinación. II. Zonas Híbridas. *Actas I Congr. Entomol.* (Tucumán).
- 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., 1984. Chromosome polymorphism and chiasma frequency in two populations of *Staurorhectus longicornis* (Orthoptera: Acrididae). *Cytologia* 49: 513-528.

- Vilardi, J.C., 1985. Meiotic behaviour in a population of *Dichroplus elongatus* Giglio Tos (Orthoptera: Acrididae). *Caryologia* 38: 147-160.
- Vilardi, J.C., 1985. Isocromosomas B e irregularidades meióticas en dos especies de *Euplectrotettix* (Orthoptera: Acrididae). *Mendeliana* 7: 125-137.
- Vilardi, J.C., 1986. Parallel polymorphisms for interstitial C-bands and B chromosomes in *Zoniopoda tarsata* (Orthoptera: Romaleidae). *Caryologia* 39: 365-380.
- Vilardi, J.C., 1987. Studies on chiasma distribution and chiasma movement in *Zoniopoda tarsata* (Orthoptera: Romaleidae). *Genetica*: en prensa.
- Vosa, C.G. & Barlow, P.W., 1972. Meiosis and B-chromosomes in *Listera ovaia* (Orchidaceae). *Caryologia* 25: 1-8.
- Weissman, D.B., 1976. Geographical variability in the pericentric inversion systems of the grasshopper *Trimerotropis pseudofasciata*. *Chromosoma* 55: 325-347.
- Wenrich, D.H. 1916. The spermatogenesis of *Phynotettix magnus*, with special reference to synapsis and the individuality of the chromosomes. *Bull. Mus. Comp. Zool.* 60: 57-135.
- Westerman, M. 1967. The effect of X-irradiation on male meiosis in *Schistocerca gregaria* (Forsk.). I. Chiasma frequency response. *Chromosoma* 22: 401-416.
- Westerman, M., 1983. Chiasma frequency and variability of morphological characters in populations of two grasshopper species. *Heredity* 51: 501-506.
- White, M.J.D., 1968. Models of speciation. *Science* 159: 1065-1070.
- White, M.J.D., 1973. *Animal Cytology and Evolution*. 3rd. Ed. Cambridge University Press, London-New York.
- White, M.J.D., 1978. *Modes of Speciation*. W.H. Freeman & Co., San Francisco.
- 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., Lewontin, R.C. & Andrew, L.E. 1963. Cytogenetics of the grasshopper *Moraba scurra*. VII. Geographic variation of adaptive properties of inversions. *Evolution* 17: 147-162.
- White, M.J.D. & Morley, F.H.W., 1955. Effects of pericentric rearrangements on recombination in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 40: 604-619.

- Whitehouse, H.L.K. 1965. *Towards an Understanding of the Mechanism of Heredity*. Edward Arnold, London.
- Whitehouse, C., Edgar, L.A., Jones, G.H. & Parker, J.S. 1981. The population cytogenetics of *Crepis capillaris*. I. Chiasma variation. *Heredity* 47: 95-103.
- Zouros, E., 1982. On the role of chromosomal inversions in speciation. *Evolution* 36 (Notes and comments): 414-416.

Tabla 1: Procedencia, tamaño muestral y fecha aproximada de colección de las poblaciones de *Leptysma argentina*, *Leptysma sp.* y *Cylindrotettix obscurus* analizadas aquí.

Localidad	Número de machos recolectado	Fecha de colección
<i>Leptysma argentina:</i>		
<u>Pcia. de Buenos Aires:</u>		
Zárate (Z)	16	Setiembre 1984
Isla Talavera (IT)	10	Diciembre 1985
Puerto Talavera (PT)	67	Oct. a Nov. 1985
Pilar (P)	13	Setiembre 1985
Río Luján (RL)	50	Diciembre 1985
	48	Oct.-Nov.Dic. 1985
<u>Pcia. de Entre Ríos:</u>		
Arroyo de los Loros (LL)	20	Diciembre 1985
Yarará Guazú (YG)	25	Diciembre 1986
	18	Diciembre 1988
Arroyo El Palmar (EP)	32	Diciembre 1985
	22	Diciembre 1986
	17	Diciembre 1987
	24	Diciembre 1988
<u>Pcia. de Sta. Fe:</u>		
Santa Fe (SF)	13	Diciembre 1986
<i>Leptysma sp.:</i>		
Puerto Talavera	2	Diciembre 1986
<i>Cylindrotettix obscurus:</i>		
Arroyo Mbocai (Iguazú, Misiones)	87	Octubre 1985

Tabla 2: Frecuencias observadas (O) y esperadas según Hardy-Weinberg (E) de la fusión céntrica y segmentos supernumerarios, y frecuencias del cromosoma B en las poblaciones de *L. argentina* analizadas. Cuando el tamaño muestral permitió docimar las diferencias entre (E) y (O), éstas resultaron no significativas. HB= Homocigota básico; H= Heterocigota; HF= Homocigota estructural; q=frecuencia del rearreglo. Abreviaturas como en tabla 1.

		Fusión		S ₁		S ₂		Cromosoma B
		O	E	O	E	O	E	
SF	HE	13	13	7	7.69	12	12.02	0.23
	H	-	0	6	4.62	1	0.96	
	HF	-	0	-	0.69	-	0.02	
	q	0.0		0.23		0.04		
LL	HE	12	11.25	17	16.2	16	16.2	0.15
	H	6	7.5	2	3.6	4	3.6	
	HF	2	1.25	1	0.2	-	0.2	
	q	0.25		0.1		0.1		
YG	HE	9	9.61	19	19.36	23	23.04	0.12
	H	13	11.78	6	5.28	2	1.94	
	HF	3	3.61	-	0.36	-	0.04	
	q	0.38		0.12		0.04		
EP	HE	8	8.5	28	28.26	32	32.03	0.03
	H	18	17.0	6	5.47	2	1.94	
	HF	8	8.5	-	0.26	-	0.04	
	q	0.5		0.09		0.03		
Z	HE	-	0.77	6	6.64	16	16.0	0.0
	H	7	5.47	7	7.71	-	0.0	
	HF	9	9.77	3	0.26	-	0.0	
	q	0.78		0.41		0.0		
PT	HE	2	2.55	21	22.7	59	58.3	0.015
	H	22	21.03	36	32.59	7	8.39	
	HF	43	43.52	10	11.7	1	0.3	
	q	0.8		0.42		0.07		
IT	HE	1	0.4	9	9.03	10	10	0.0
	H	2	3.2	1	0.9	-	0	
	HF	7	6.4	-	0.03	-	0	
	q	0.8		0.05		0.0		
RL (B3)	HE	3	0.7	26	24.5	25	21.8	0.05
	H	6	10.6	18	21.0	16	22.4	
	HF	41	38.7	6	4.5	9	5.8	
	q	0.88		0.30		0.33		
RL	HB	-	0.8	27	27.0	40	39.4	0.06
	H	12	10.5	18	18.0	7	8.2	
	HE	36	36.7	6	6.0	1	0.4	
	q	0.875		0.25		0.33		
P	HB	-	0	6	5.56	13	13.0	0.0
	H	-	0	5	5.88	-	0.0	
	HE	13	13.0	2	1.56	-	0.0	
	q	1.00		0.35		0.0		

Tabla 3: Variación de frecuencias cariotípicas en una misma generación.

a) Frecuencias cariotípicas a lo largo de una estación (Octubre-
Noviembre 1987) en la localidad de Puerto Talavera.

a.1) Segmento S_1	BB	BS_1	S_1S_1	q
26/X	7	18	3	0.43
12/XI	7	13	4	0.44
29/XI	7	5	3	0.43
a.2) Fusión 3/6	BB	BF	FF	q
26/X	1	10	17	0.78
12/XI	1	8	15	0.79
29/XI	-	4	11	0.87

b) Frecuencias cariotípicas a lo largo de una estación (Octubre-
Noviembre- Diciembre 1984) en la localidad de Río Luján.

b.1) Segmento s_1	BB	BS_1	S_1S_1	q
29/X	10	10	1	0.29
25/XI	6	7	1	0.32
12/XII	6	4	1	0.27
b.2) Fusión 3/6	BB	BF	FF	q
29/X	-	9	13	0.79
25/XI	-	2	12	0.93
12/XII	-	3	8	0.86

Tabla 4: Frecuencias cariotípicas y cromosómicas de los polimorfismos para S_1 , S_2 , cromosoma B y fusión 3/6 en 4 muestras tomadas en 4 años consecutivos en la localidad de Arroyo El Palmar (EP).

a) Fusión 3/6:	BB	BF	FF	q
1985	8	16	8	0.50
1986	7	12	3	0.41
1987	8	8	1	0.37
1988	7	13	4	0.43
b) Segmento S_1 :	BB	BS_1	S_1S_1	q
1985	26	6	-	0.09
1986	16	6	-	0.14
1987	14	3	-	0.10
1988	15	9	-	0.22
c) Segmento S_2 :	BB	BS_2	S_2S_2	q
1985	31	1	-	0.016
1986	21	1	-	0.024
1987	16	1	-	0.029
1988	24	1	-	0.021
d) Cromosoma B: Frecuencia				
1985	0.032			
1986	0.136			
1987	0			
1988	0			

Tabla 5: Frecuencias cariotípicas y cromosómicas de los polimorfismos de *Leptysma argentina* en la localidad de Yarará Guazú (1986 y 1988):

a) Fusión 3/6:	BB	BF	FF	q
1986	9	13	3	0.38
1988	7	9	2	0.36
b) Segmento s_1 :	BB	Bs_1	s_1s_1	q
1986	19	6	-	0.12
1988	12	5	1	0.19
c) Segmento s_2 :	BB	Bs_2	s_2s_2	q
1986	23	2	-	0.04
1988	18	-	-	0
d) Cromosoma B: Frecuencia:				
1986	0.166			
1988	0			

Tabla 6: Registros pluviométricos y de temperatura de algunas localidades donde fueron coleccionadas muestras poblacionales de *Leptysma argentina* (o de estaciones meteorológicas próximas a ellas), según estadística 1951/180 del Servicio Meteorológico Nacional.

a) Registros pluviométricos y temperaturas medias, anuales y de la estación de colección (setiembre-diciembre).

Localidad	Temp.media anual (en °C)	Temp.media estacional	Registro pluviométrico anual (en mm)	Registro pluviométrico estacional
SF	18.2	19.5	1070	378
Palmar de Colón (est. Concordia)	18.0	20.45	1254.5	460
Z, IT y PT (est. S. Pedro)	16.7	18.1	1115	377
RL (est. Aeroparque Bs. As.)	17.6	18.8	1062	353
P	16.8	18.5	716	300.5

b) Registros medios (anuales y estacionales) pluviométricos y de temperatura 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 (en °C)	Temp.media estacional	Registro pluviométrico anual (en mm)	Registro pluviométrico estacional
1985	19.29	21.45	1245.5	330.0
1986	19.49	21.45	1558.0	542.6
1987	18.85	19.58	1118.3*	305.8
1988	18.2	20.45	1110.7*	367.6
Normal (1951-1980)	18.0	20.45	1264.6	460

* Años de sequía

Tabla 7: Distribución de individuos portadores de B entre los tres cariotipos de la fusión 3/6; individuos coleccionados en el Parque Nacional EL Palmar entre 1985 y 1988.

	BB	BF	FF	Total
Total	44	58	23	125
con B	4	6	1	11
Porcentaje portadores de B.	9%	10%	4%	8.8%

Tabla 8: Efectos de la fusión sobre el largo total: análisis de varianza entre cariotipos en tres poblaciones de *Leptysma argentina*.
GL= grados de libertad; SC= suma de cuadrados; CM= cuadrados medios; F= razón de varianzas.

a) Arroyo El Palmar (EP):

FV	GL	SC	CM	F
Entre cariotipos	2	15.9929	7.9965	10.75***
Error	65	48.3506	0.7438	
Total	67	64.3435		

b) Yarará Guazú (YG):

FV	GL	SC	CM	F
Entre cariotipos	2	4.0872	2.0436	2.78*
Error	39	28.6352	0.7342	
Total	41	32.7224		

c) Puerto Talavera (PT): homocigotas de fusión y heterocigotas.

FV	GL	SC	CM	F
Entre cariotipos	1	3.2663	3.2663	4.93**
Error	53	35.1337	0.6629	
Total	54	38.4		

Tabla 9: Tamaño medio para cada población de *Leptysma argentina* por cariotipo y para todas las variables morfométricas estudiadas (ver **Materiales y Métodos**). Además de las variables morfométricas se indica la frecuencia de la fusión 3/6 en cada población (q). LT= largo total; LTeg= largo tegmina; LF= largo fémur; LTib= largo tibia; LTx= largo del tórax; ATx= altura del tórax.

Loc.	Ctipo.	Variables morfométricas					
		LT	LTeg	LF	LTib	LTx	ATx
SF	BB	24.25	24.15	11.42	10.08	3.79	2.79
(0.0)	BF	-	-	-	-	-	-
	FF	-	-	-	-	-	-
LL	BB	24.50	24.94	11.75	10.18	3.89	2.79
(0.25)	BF	24.87	26.25	12.025	10.33	3.83	2.83
	FF	25.0	25.25	11.97	10.67	3.93	2.77
YG	BB	24.28	23.63	11.82	10.22	3.77	2.85
(0.38)	BF	25.25	24.55	11.97	10.56	3.94	2.77
	FF	25.33	25.33	12.33	10.83	3.93	2.77
EP	BB	24.88	25.0	11.88	10.19	3.83	2.81
(0.50)	BF	24.63	24.77	11.74	10.27	3.88	2.81
	FF	25.5	26.0	12.0	10.45	4.07	3.00
PT	BB	-	-	-	-	-	-
(0.78)	BF	24.89	25.11	12.21	10.53	3.9	2.96
	FF	25.46	25.66	12.41	10.79	4.16	2.97
RL	BB	-	-	-	-	-	-
(0.89)	BF	26.07	26.42	12.74	11.0	4.0	2.9
	FF	25.99	26.25	12.63	10.89	4.06	2.95
P	BB	-	-	-	-	-	-
(1.0)	BF	-	-	-	-	-	-
	FF	26.04	25.78	12.38	10.91	4.04	3.01

Tabla 10: Valores medios por población de los caracteres morfométricos y su correlación (r) con las frecuencias de la fusión 3/6. El número de individuos analizados en cada caso se indica entre paréntesis debajo del valor medio. p = nivel de significación de r .

Loc.	Ctipo.	Variables morfométricas					
		LT	LTeg	LF	LTib	LTx	ATx
SF	0.0	24.15 (13)	24.46 (13)	11.42 (13)	10.08 (13)	3.74 (13)	2.79 (13)
LL	0.25	24.68 (17)	25.15 (13)	11.85 (17)	10.30 (17)	3.88 (17)	2.86 (17)
YG	0.38	24.98 (24)	24.56 (18)	11.98 (24)	10.51 (23)	3.88 (24)	2.79 (17)
EP	0.50	24.89 (32)	24.98 (24)	11.83 (32)	10.29 (32)	3.91 (32)	2.84 (32)
PT	0.78	25.31 (57)	25.45 (52)	12.34 (57)	10.68 (57)	4.11 (57)	2.97 (57)
RL	0.89	25.97 (25)	26.18 (21)	12.62 (25)	10.90 (25)	4.05 (25)	2.93 (25)
P	1.00	26.04 (13)	25.79 (13)	12.38 (13)	10.91 (13)	4.04 (13)	3.01 (13)
r		0.97	0.88	0.94	0.95	0.93	0.89
p		<0.001	0.009	0.002	<0.001	0.002	0.007

Tabla 11: Frecuencia media de quiasmas en los cromosomas involucrados en la fusión 3/6 y en el bivalente 1 para cada población en cada uno de los tres cariotipos para la fusión. En los homocigotas de fusión y en los heterocigotas se llevaron a cabo sendos ANOVAs a fin de comprobar la homogeneidad entre poblaciones para cada cariotipo. El número de individuos analizados se indica entre paréntesis. Abreviaturas como en tabla 1.

F= razón de varianzas (Entre poblaciones)
Dentro de poblac.

		Poblaciones					
		RL	Z	P	IT	EP	F
FF	II 3/6	2.0962	2.0125	2.0919	2.0885	2.1991	1.46
	II 1	2.3823	2.4229	2.4899	2.5398	2.4906	0.47
		(24)	(8)	(11)	(6)	(6)	
BF	III 3/6	2.0246	2.4730	-	2.0000	2.0787	2.02
	II 1	2.5842	2.6575	-	2.6000	2.0787	1.82
		(17)	(7)	-	(2)	(23)	
BB	IIs 3+6	-	-	-	-	2.3886	-
	II 1	-	-	-	-	3.1937	-
		-	-	-	-	(17)	-

Tabla 12: Coeficientes de correlación (r), ecuación lineal y análisis de covarianza (ANCOVA) de la frecuencia media de quiasmas en el trivalente 3-3/6-6, el bivalente 1 y los bivalentes 3 + 6 por individuo sobre la frecuencia total media de quiasmas por individuo (T). Cuando las diferencias entre pendientes fueron significativas, y por lo tanto la diferencias entre medias ajustadas no pudieron ser determinadas, se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA). N= número de individuos analizados.

	N	R	Ecuación lineal	ANCOVA		ANOVA
				Diferencia entre pendientes	Diferencia entre medias ajustadas	Diferencia entre medias
1) Trivalente 3-3/6-6	44	0.7511	0.085 T + 0.932			
2) Bivalente 3/6-3/6	56	0.7952	0.143 T + 0.263	$F_{1,96} = 8.53$		$F_{1,96} = 1.52$
3) Bivalente 1	117	0.7980	0.263 T - 0.884	$F_{1,117} = 10.34$	----	$F_{1,117} = 92.32$
4) Bivalentes 3 + 6	17	0.9326	0.274 T - 1.288	$F_{1,17} = 0.06$ ns.	$F_{1,17} = 12.17$	----
Comparación entre 1), 2) y 4)				$F_{2,117} = 34.50$	----	$F_{2,117} = 213.17$

Tabla 13: Posición de los quiasmas en los cromosomas involucrados en la fusión 3/6 y en el cromosoma 1. P= proximal; I=intersticial; D= distal.

a) Número de quiasmas en los cromosomas involucrados en la fusión 3/6 en los tres cariotipos. Datos de 17 homocigotas básicas (220 células), 44 heterocigotas (609 células) y 56 homocigotas de fusión (942 células).

Cariotipo	Posición			Nº total de X ^{ca}
	P	I	D	
BB	212	142	293	647
BF	20	91	1141	1252
FF	91	95	1741	1977
Nº total de X ^{ca}	323	328	3225	3876
	$X^2_{(4)} = 871.26$		$p < 0.001$	

Prueba de Ji-cuadrado comparando heterocigotas y homocigotas de fusión solamente:

$$X^2_{(2)} = 28.24 \quad p < 0.001$$

b) Número de quiasmas en los bivalentes 1 y 3/6. Datos de 56 homocigotas para la fusión 3/6 (942 células).

Bivalente	Posición			Nº total de X ^{ca}
	P	I	D	
1	254	283	1755	2292
3/6	91	95	1791	1977
Nº total de X ^{ca} .	345	378	3546	4269
	$X^2_{(2)} = 175.49$		$p < 0.001$	

c) Número de quiasmas en el bivalente 1 y en los bivalentes 3+6. Datos de 17 homocigotas básicas (220 células).

I	D	Posición			Bivalente(s) P
		Nº total de X ^{ca}			
1		212	142	293	647
	3/6	118	220	371	709
Nº total de X ^{ca} .		330	362	664	1356
		$X^2_{(2)} = 50.01$		$p < 0.001$	

Tabla 14: Valores medios por población de las frecuencias de quiasmas proximales (P), intersticiales (I), distales (D) y totales (T) en los tres cariotipos de la fusión 3/6. El número de individuos analizados se indica entre paréntesis. Diez, raramente 9 células fueron analizados por individuo. Se llevó a cabo un análisis de varianza (diseño jerárquico) comparando las diferentes poblaciones para cada variable (P, I, D y T) en los homocigotas de fusión y en los heterocigotas.

		Población					
		RL	Z	P	IT	EP	F
	P	2.6963	2.5125	2.2714	2.3714	3.4667	2.01
FF	I	1.3765	1.4500	2.0843	1.7429	1.3000	1.46
	D	8.8374	8.6250	8.4756	8.5714	8.6667	0.34
	T	12.9103	12.5875	12.8398	12.6857	13.4333	0.89
		(27)	(8)	(12)	(7)	(6)	
	P	2.8151	3.0857	-	2.3500	3.4089	1.91
BF	I	1.6507	1.8143	-	1.9500	1.7489	1.48
	D	8.7329	8.1857	-	8.6500	8.3968	1.20
	T	13.1986	13.0857	-	12.9500	13.5547	1.26
		(15)	(7)	-	(2)	(25)	
	P	3.3000	-	-	-	4.5034	
BB	I	2.9333	-	-	-	3.2313	
	D	8.5667	-	-	-	7.6734	
	T	14.8000	-	-	-	15.4082	
		(3)	-	-	-	(15)	

Tabla 15: Valores medios y análisis de varianza (diseño jerárquico) de frecuencias de quiasmas T, P D e I en los tres cariotipos de la fusión 3/6. El factor "individuos" se encuentra anidado dentro del factor "cariomorfos". Se efectuaron comparaciones entre medias según el método de Scheffé (1959). Basado en 177 células de 18 homocigotas estándar, 489 células de 49 heterocigotas y 598 células de 60 homocigotas de fusión (10, raramente 9 células por individuo). BB: homocigotas estándar; BF: heterocigotas; FF: homocigotas de fusión. K= cariotipo.

K	Frec. X [±] .	ANOVA (todos los cariotipos)	<u>Contrastes entre medias</u>	
			BB vs. BF + FF	BF vs. FF
BB	15.2992	F _{2,124} = 43.56	f = 38.36	f = 4.11
BF	13.4066	p < 0.001	p < 0.001	p = 0.019
FF	12.8712	QUIASMAS TOTALES		
BB	4.2994	F _{2,124} = 20.34	f = 15.48	f = 4.24
BF	3.1784	p < 0.001	p < 0.001	p = 0.017
FF	2.6254	QUIASMAS PROXIMALES		
BB	3.0618	F _{2,124} = 17.03	f = 15.07	f = 1.54
BF	1.9046	p < 0.001	p < 0.001	p = 0.22
FF	1.5869	QUIASMAS INTERSTICIALES		
BB	7.8305	F _{2,124} = 5.67	f = 3.87	f = 1.61
BF	8.3499	p < 0.001	p = 0.024	p = 0.203
FF	8.6856	QUIASMAS DISTALES		

Tabla 16: Valores medios y análisis de varianza (diseño jerárquico) como en la tabla 15 pero excluyendo a los cromosomas 3 y 6 del cómputo, a fin de controlar la variación debida a posibles efectos intracromosómicos. Basado en 146 células de 15 homocigotas básicos, 336 células de 34 heterocigotas y 329 células de 33 homocigotas de fusión (10, raramente 9 células por individuo). Contrastes y referencias como en la tabla 15.

K	Frec. X [±] .	ANOVA (todos cariotipos)	Contrastes entre medias	
			BB vs. BF + FF	BF vs. FF
BB	12.5273	$F_{2,79} = 20.89$	$f = 16.04$	$f = 4.94$
BF	11.4375	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p = 0.009$
FF	10.7659	QUIASMAS TOTALES		
BB	3.4657	$F_{2,79} = 9.13$	$f = 3.11$	$f = 4.98$
BF	3.0678	$p < 0.001$	$p = 0.05$	$p = 0.092$
FF	2.4772	QUIASMAS PROXIMALES		
BB	2.6575	$F_{2,79} = 7.84$	$f = 7.10$	$f = 0.82$
BF	1.8363	$p < 0.00008$	$p = 0.005$	$p = 0.44$
FF	1.5714	QUIASMAS INTERSTICIALES		
BB	6.4041	$F_{2,79} = 1.61$	$f = 0.4644$	$f = 1.7337$
BF	6.3333	$p = 0.21$	$p = 0.90$	$p = 0.23$
FF	6.7173	QUIASMAS DISTALES		

Tabla 17: Coeficientes de correlación entre diferentes combinaciones de las variables: frecuencia de quiasmas totales (T), proximales (P), intersticiales (I) y distales (D) por individuo para cada uno de los cariotipos de la fusión 3/6. El número de individuos analizados por cariotipo se indica entre paréntesis.

Variables correlacionadas	Cariotipos		
	BB	BF	FF
P vs. T	0.7191***	0.7896***	0.7087***
I vs. T	0.0263	-0.1586	0.2147
D vs. T	0.3777*	0.2605	0.1055
I vs. D	-0.6567***	-0.7715***	-0.7033***
P vs. D	-0.0296	-0.0357	-0.0776
I vs. P	-0.1985	-0.2856*	-0.1897
	(18)	(49)	(60)

*** altamente significativo ($p < 0.001$)

* significativo en el nivel 0.05 - 0.02

Tabla 18: Valores medios (\bar{Y}) \pm desviación estándar (SD) de las frecuencias de quiasmas en los cromosomas 5 y 7 de los individuos no mutantes y del portador de la fusión espontánea 5/7. Los valores de las frecuencias medias de quiasmas totales ($\bar{X} \pm$ SD) y el número de células analizadas (N) se indican también.
*: doble heterocigota; r= coeficiente de correlación.

	Individuos										
	4	8*	9	11	12	13	14	15	16	17	
Y	2.0	2.54	2.77	2.27	2.05	2.2	2.2	2.55	2.63	2.3	2.354
SD	0	.104	.230	.205	.058	.140	.109	.187	.196	.166	.086
X	11.9	14.2	14.4	12.3	13.1	13.6	12.8	13.4	14.6	12.7	13.298
SD	.192	.286	.222	.285	.201	.323	.251	.393	.449	.223	.302
N	21	25	13	11	18	10	15	9	8	10	140

Tabla 19: Posición de quiasmas en los bivalentes 5 y 7 de los individuos normales (datos reunidos de 8 individuos) y en el trivalente 5-5/7-7 del portador de la fusión 5/7. P= proximal, I= intersticial, D= distal.

Posición	Cariotipo		Nº total de X ^{tes} .
	5-5/7-7	5+7	
P	21	51	72
I	7	15	22
D	53	173	226
Nº total de X ^{tes} .	81	239	320

$$X^2_{(2)} = 1.47$$

$$p = 0.47 \text{ ns.}$$

Tabla 20: Número de quiasmas y posición en los cromosomas involucrados en las dos fusiones, tanto en el doble heterocigota como en un homocigota básico.

a) Número de quiasmas (N):

a.i) Homocigota básico:

N	5+7	3+6	Nº total de pares de IIs.
2	17	5	22
3 (o 4)	6	18	24
<hr/>			
Nº total de pares de IIs.	23	23	46
$X^2_{(1)} = 24.06$ $p < 0.001$			

a.ii) Doble heterocigota:

N	3-3/6-6	5-5/7-7	Nº total de IIIs.
2	29	14	43
3	3	18	21
<hr/>			
Nº total de IIIs.	32	32	64
$X^2_{(1)} = 15.95$ $p < 0.001$			

b) Posición de los quiasmas:

b.i) Homocigota básico:

Posición	5+7	3+6	Nº total de quiasmas
I+P	17	32	49
D	33	37	70
<hr/>			
Nº total de X ^{ts} .	50	69	119
$X^2_{(1)} = 1.85$ $p = 0.1743$			

b.ii) Doble heterocigota:

Posición	5-5/7-7	3-3/6-6	Nº total de X ^{ts} .
I+P	28	13	41
D	53	54	107
<hr/>			
Nº total de X ^{ts} .	81	61	148
$X^2_{(1)} = 4.27$ $p = 0.038$			

Tabla 21: Frecuencia media de quiasmas totales (T), proximales (P), intersticiales (I) y distales (D) por población, y frecuencia del cromosoma fusionado 3/6, para cada una de las 9 poblaciones de *L. argentina* estudiadas en el presente trabajo. r = coeficiente de correlación entre cada una de las frecuencias de quiasmas y la de la fusión. N = número de individuos analizados por población.

Población	q	T	P	I	D	N
SF	0	15.75	5.08	3.25	7.02	13
LL	0.25	14.71	4.12	3.18	7.41	20
YG	0.38	14.68	3.98	2.63	8.16	25
EP	0.50	13.89	3.66	1.78	8.45	28
Z	0.78	13.81	2.78	2.09	7.94	16
PT	0.80	13.50	3.21	1.65	8.64	25
IT	0.80	12.76	2.32	1.83	8.61	10
RL	0.89	12.87	2.71	1.6	8.56	35
P	1	12.75	2.27	2.08	8.39	13
r		-0.95***	-0.95***	-0.83**	0.83**	

Tabla 22: Distribución de ambos cromosomas B y de las frecuencias de quiasmas totales (T) en los 87 individuos analizados pertenecientes a la especie *Cylindrotettix obscurus*.

Frecuencia media de Xta. en folículos con B_{es}:

Individuo	0	1	2	3	4	5	6	N
85072	-	16.5	17.3	18.0	18.0	-	-	36
85054	-	-	14.2	-	15.2	-	14.6	28
85046	-	13.9	14.5	15.6	15.5	-	-	38
85078	-	-	15.0	15.0	15.4	-	-	30
85049	14.7	14.3	13.9	14.6	13.8	-	-	50
85129	-	-	14.4	14.8	14.7	-	-	30
85120	-	-	14.8	17.1	17.2	-	-	22
85066	15.6	15.5	15.9	-	-	-	-	30
85103	-	13.7	14.0	13.8	-	-	-	25
85128	-	15.6	15.2	-	15.7	-	16.0	39
85110	-	14.4	15.1	-	-	-	-	20
85142	-	-	14.3	15.5	14.7	-	-	25
85074*	-	14.9	-	-	-	-	-	10
85116*	-	-	14.2	-	-	-	-	10
85098	-	-	11.7	-	-	11.8	-	18
85073 IsoB	14.6	14.2	13.3	-	-	-	-	30
85053 IsoB	14.8	-	15.2	-	15.2	-	-	27
85125 IsoB	-	-	15.4	-	13.9	-	-	17
85060 IsoB	17.2	-	16.2	-	-	-	-	20
85099 IsoB	16.2	-	-	-	-	-	-	10
85118 IsoB	15.2	-	-	-	-	-	-	10
85095 IsoB	14.0	-	-	-	-	-	-	9
85056 IsoB	16.3	-	-	-	-	-	-	10
85045 IsoB	14.2	-	-	-	-	-	-	10
85111 IsoB	15.6	-	-	-	-	-	-	8
85053 IsoB	14.8	-	-	-	-	-	-	10
85065 2 IsoBs	-	19.1	18.0	18.3	-	-	-	30
85093 2 IsoBs	16.5	-	-	-	-	-	-	10

*: Individuos no incluidos en los análisis de las tablas 25 y 26, pues no presentan variación en el número de B_{es}.

Tabla 23: Efectos del IsoB sobre las frecuencias de quiasmas totales (T), proximales (P), intersticiales (I) y distales (D). Se llevó a cabo un ANOVA (diseño jerárquico) para cada variable a fin de probar diferencias entre individuos portadores y no portadores de IsoB. Diez, raramente 9 células fueron analizadas en cada individuo. GL= grados de libertad. N= número de individuos analizados.

		Variables analizadas				
		T	P	I	D	N
Valores medios	0 IsoB	14.6690	3.6813	3.4045	7.5832	58
	1 IsoB	15.2447	4.5106	3.1170	7.6170	10
	2 IsoBs	17.8	5.35	4.2	8.25	2
	Portadores de IsoB (Datos reu- nidos)	15.6929	4.6579	3.3070	7.7281	12
Razón de varianzas	Entre cariotipos (GL= 1;68)	9.9286	8.4696	0.0635	0.2583	
	Entre individuos (GL= 68;615)	5.9631	8.6115	5.5280	0.1331	
p	Entre cariotipos	0.002	0.0049	0.8018	0.6187	
	Entre individuos	<0.001	<0.001	>0.9999	>0.9999	

Tabla 24: Datos medios transformados para frecuencias de quiasmas totales (T'), proximales (P'), intersticiales (I') y distales (D'). Todos los individuos que exhibieron variación en el número de B₂s (exceptuando los portadores de Iso Bs) fueron incluidos en el análisis (ver tabla 23). Los datos de 13 individuos fueron transformados en desviaciones estandarizadas con respecto a la media para descartar la variación interindividual, y consecuentemente reunidos (Remis & Vilardi 1987).

Variable analizada	Número de B ₂ s							F	p
	0	1	2	3	4	5	6		
T'	-0.0766	-0.3543	0.1589	0.2639	0.2172	-	0.1877	4.77	0.0003
P'	-0.0659	-0.3195	0.0089	0.0472	0.1572		0.3263	2.32	0.0412
I'	0.3559	-0.0805	-0.0166	0.1073	-0.0165		0.0938	1.04	0.3737
D'	-0.4027	0.1315	-0.0619	0.0187	0.0464	-	0.0938	1.08	0.3709
Número de células	25	71	109	77	83	0	10		

Tabla 25: Análisis de regresión de frecuencia de quiasmas totales (T') y proximales (P') transformadas versus número de B_{ts} (intervalo 1-6) en individuos sin IsoB. Datos de la tabla 25. FV= fuente de variación; SC= suma de cuadrados; GL= grados de libertad; RV= razón de varianzas; p=probabilidad de que las diferencias se deban al azar.

Variables	FV	SC	GL	RV	p
	Entre Nº de B _{ts} (1-6)	21.6626	4	5.56	0.0023
T'	Regresión	15.6512	1	16.09	<0.001
	Residual	2.0037	3	2.05	0.1053
	Error	356.2292	366		
	Entre Nº de B _{ts} (1-6)	11.0191	4	2.94	0.02
P'	Regresión	8.9967	1	9.63	0.002
	Residual	2.0231	3	0.72	0.54 ns.
	Error	350.8891	366		

Tabla 26: Datos medios transformados para frecuencias de quiasmas totales (T'), proximales (P'), intersticiales (I') y distales (D') de cinco individuos con IsoBs y número variable de Bes (ver tabla 1). Datos transformados como en tabla 25.

Variable analizada	Número de Bes					F	p
	0	1	2	3	4		
T'	0.1998	0.2873	-0.1579	-0.1227	-0.1794	1.23	0.30
P'	0.2373	0.3378	-0.0907	-0.0307	-0.3215	1.36	0.25
I'	0.0427	0.2123	-0.1109	-0.0425	0.0742	0.31	0.87
D'	-0.0541	-0.0572	0.0581	-0.0572	0.0080	0.07	0.99
Número de células	30	20	45	10	19		

Tabla 27: Análisis de regresión de frecuencias de quiasmas totales (T') y proximales (P') (datos transformados) versus número de B_{ts} (0-4) en 5 individuos portadores de IsoB (datos de la tabla 27). Referencias como en la tabla 25.

Variable	FV	SC	GL	RV	p
	Entre N° de B _{ts} (0-4)	4.7324	4	1.23	0.30
T'	Regresión	3.0511	1	3.17	0.077
	Residual	1.6813	3	0.58	0.629
	Error	114.2683	119		
	Entre N° de B _{ts} (0-4)	5.1739	4	1.36	0.25
P'	Regresión	4.2898	1	4.91	0.028
	Residual	0.8841	3	0.34	0.796
	Error	113.9687	119		

Tabla 28: Efecto de los cromosomas B_c sobre la frecuencia de univalentes en los portadores de IsoB. El número de células analizadas se indica entre paréntesis.

Individuo	Número de B_c s				
	0	1	2	3	4
85073	0 (34)	1.86 (37)	2.25 (36)	-	-
85060	0 (10)	-	0.54 (22)	-	-
85125	-	-	0.54 (22)	-	0.63 (33)
85053	0 (10)	-	0.08 (25)	-	0.22 (9)
85065	-	0 (10)	0 (10)	0 (10)	-

Tabla 29: Análisis de correlación entre diferentes combinaciones de las variables: frecuencia de quiasmas totales (T), proximales (P), intersticiales (I) y distales (D) medias por individuo en 58 machos sin cromosomas B. r = coeficiente de correlación; p = probabilidad de que las diferencias se deban al azar.

	P vs. T	I vs. T	D vs. T	I vs. P	P vs. D	I vs. D
r	0.7135	0.0167	0.2047	-0.4549	0.2209	-0.7932
p	<0.001	0.0011	0.1232	<0.001	0.0955	<0.001

Tabla 30: Distancia total (T) y de interferencia (i_1) por cromosoma o brazo cromosómico, calculadas como porcentaje de la longitud total autosómica (ver **Materiales y Métodos**). En la presente tabla se indican los valores medios de 10 células pertenecientes a 8, 10 y 9 homocigotas estándar, heterocigotas y homocigotas de fusión, respectivamente, para la fusión 3/6 de *Leptysma argentina*. Se realizó un análisis de varianza comparando las distancias de interferencia media para cada cariotipo; se indican la razón de varianzas (F), los grados de libertad (entre paréntesis) y la significación. Dado que la distancia de interferencia (i_1) consiste en la distancia entre el primero y el segundo quiasma, en esta tabla se han considerado sólo las células con dos quiasmas.

		Cariotipos			
		BB	BF	FF	
1L	T	15.56	16.19	15.50	4.66*
	i_1	9.99	10.28	11.62	(2;146)
2	T	13.97	14.11	13.93	20.54***
	i_1	9.63	10.97	11.70	(2;210)
1C	T	11.43	12.35	10.98	1.43 ns.
	i_1	7.52	8.21	7.21	(2;74)
3/	T	11.74	11.24	11.25	0.95 ns.
	i_1	8.37	9.12	8.96	(2;39)
4	T	9.65	9.53	9.99	3.56*
	i_1	7.21	8.09	8.39	(2;63)
5	T	8.89	8.83	9.23	6.47**
	i_1	6.65	7.29	7.88	(2;62)
/6	T	8.26	8.30	8.23	3.29*
	i_1	6.50	7.28	7.49	(2;45)
7	T	7.65	7.68	7.63	2.49 ns.
	i_1	6.12	6.27	6.81	(2;49)
8	T	6.61	6.00	6.57	1.96 ns.
	i_1	5.69	4.98	5.68	(2;6)

Tabla 31: Análisis de la covarianza reuniendo a todos los cromosomas.

Se utilizó a la distancia de interferencia (i_1) como variable principal, y a la longitud total del cromosoma (T) como variable concomitante, dada la elevada correlación entre ambas. K= cariotipo.

K	Medias i_1	Medias T	Ecuación de regresión	r
BB	7.52	10.4177	$y_1 = 0.5020 X + 2.2902$	0.988
BF	8.05	10.47	$y_2 = 0.5349 X + 2.4539$	0.931
FF	8.4155	10.36	$y_3 = 0.6647 X + 1.5240$	0.941

La diferencia entre pendientes es altamente significativa ($F_{2,708}=16.42$, $p<0.001$).

Tabla 32: Distancia total (T) y diferencial (d) para bivalentes con un quiasma (1 X^a) y dos quiasmas (2 X^a), calculadas como porcentajes de la longitud total del genoma autosómico. Medias de 10 células de 8, 10 y 9 homocigotas estándar, heterocigotas y homocigotas de fusión, respectivamente, para la fusión céntrica 3/6 de *Leptysma argentina*. Se realizó un análisis de varianza comparando las distancias de interferencia medias para cada cariotipo; se indica la razón de varianzas (F) y la significación.

		Cariotipo			
		BB	BF	FF	
1L	T	15.56	16.19	15.50	
	d (1 X ^a)	1.60	2.14	0.44	3.59*
	d (2 X ^a)	0.39	0.29	0.21	0.67 ns
2	T	13.97	14.11	13.93	
	d (1 X ^a)	4.45	2.11	1.03	28.35***
	d (2 X ^a)	0.38	0.24	0.00	6.58**
1C	T	11.43	12.35	10.98	
	d (1 X ^a)	1.34	0.87	0.36	3.65*
	d (2 X ^a)	0.36	0.00	0.00	-
3/	T	11.74	11.24	11.25	
	d (1 X ^a)	5.82	1.18	0.75	20.91***
	d (2 X ^a)	0.38	0.24	0.00	-
4	T	9.65	9.53	9.99	
	d (1 X ^a)	4.98	2.93	1.23	4.32*
	d (2 X ^a)	0.54	0.00	0.00	-
5	T	8.89	8.83	9.23	
	d (1 X ^a)	5.67	2.72	1.81	3.48*
	d (2 X ^a)	0.18	0.00	0.00	-
/6	T	8.26	8.30	8.23	
	d (1 X ^a)	1.32	0.76	0.68	34.87***
	d (2 X ^a)	0.00	0.00	0.00	-
7	T	7.65	7.68	7.63	
	d (1 X ^a)	3.09	1.84	1.82	3.44*
	d (2 X ^a)	0.18	0.00	0.00	-
8	T	6.61	6.00	6.57	
	d (1 X ^a)	2.71	3.37	2.59	2.9 ns.
	d (2 X ^a)	0.00	0.00	0.00	-
9	T	4.65	5.78	5.41	
	d (1 X ^a)	1.48	1.28	1.51	0.10 ns.

Tabla 33: Frecuencias medias de quiasmas por cromosoma o brazo cromosómico para cada cariotipo. En el rubro "total metacéntricos" se incluyen en los homocigotas básicos a los pares 3 y 6, a los fines de la comparación.

	Cariotipo		
	BB	BF	FF
1L	1.60	1.67	1.29
1C	1.34	1.16	1.03
2	1.76	1.86	1.83
3/	1.53	1.04	1.05
4	1.31	1.35	1.25
5	1.30	1.18	1.32
/6	1.36	1.02	1.01
7	1.27	1.15	1.24
8	1.05	1.03	1.06
9	1.00	1.00	1.00
Total	14.57	13.52	13.13
Total (-3+6)	11.68	11.46	11.07
Total metacént.	5.83	4.89	4.38
Total telocént. (-3+6)	8.74	8.63	8.75

Tabla 34: Coeficientes de correlación entre R_1 (distancia residual del 1L) y R_2 (distancia residual del 1C) para distintos valores de $R_1 + R_2$.

$R_1 + R_2$	Cariotipo		
	BB	BF	FF
≤ 30	-0.07	-0.024	-0.02
≤ 25	-0.10	-0.13	-0.30
≤ 20	-0.20	-0.35	-0.63
≤ 18	-0.34	-0.50	-0.57
≤ 15	-0.42	-0.69	-0.74
≤ 12	-0.45	-0.89	-0.89
≤ 10	-0.28	-0.86	-1

Tabla 35: Índices de recombinación promedio (índice 1 e índice 2), calculados sobre 86 células de 9 homocigotas de fusión, 95 células de 10 heterocigotas y 76 células de 8 homocigotas básicos. Se indican también el Índice de Darlington (ID) y el número de fragmentos (NF) que segregan independientemente (sumatoria de los X_1 , ver texto). N= número de células.

Cariotipo	N	Índice 1	Índice 2	ID	NF
Homocigotas básicos	76	9.9378	13.7420	24.8026	16.9736
Heterocigotas	95	8.0948	11.1444	22.5895	14.4632
Homocigotas de fusión	86	6.3457	9.1340	22.1628	13.1628

Tabla 36: Correlación del índice 1 con las frecuencias de quiasmas totales, proximales, intersticiales y distales, y con el número de fragmentos (NF).

Homocigotas básicos:

Quiasmas totales:	r= 0.2309	media totales:	14.8026
Quiasmas proximales:	r= 0.0016	media proximales:	4.0132
Quiasmas intersticiales:	r= 0.5655	media intersticiales:	3.2632
Quiasmas distales:	r= -.3122	media distales:	7.5263
NF	r= 0.6109	media NF:	16.9737

Heterocigotas:

Quiasmas totales:	r= 0.0408	media totales:	13.5895
Quiasmas proximales:	r= -.1248	media proximales:	3.3789
Quiasmas intersticiales:	r= 0.5844	media intersticiales:	1.9789
Quiasmas distales:	r= -.3845	media distales:	8.2316
NF	r= 0.6473	media NF:	14.4632

Homocigotas de fusión:

Quiasmas totales:	r= 0.2408	media totales:	13.1628
Quiasmas proximales:	r= 0.2071	media proximales:	3.1279
Quiasmas intersticiales:	r= 0.4329	media intersticiales:	1.0349
Quiasmas distales:	r= -.3352	media distales:	9.0000
NF	r= 0.6102	media NF:	12.8256

Tabla 37: Correlación del índice 2 con las frecuencias de quiasmas totales, proximales, intersticiales y distales, y con el número de fragmentos (NF).

Homocigotas básicos:

Quiasmas totales:	r= 0.4698	media totales:	14.8026
Quiasmas proximales:	r= -.2393	media proximales:	4.0132
Quiasmas intersticiales:	r= 0.7476	media intersticiales:	3.2632
Quiasmas distales:	r= -.0702	media distales:	7.5263
NF	r= 0.8667	media NF:	16.9737

Heterocigotas:

Quiasmas totales:	r= 0.0278	media totales:	13.5895
Quiasmas proximales:	r= 0.0221	media proximales:	3.3789
Quiasmas intersticiales:	r= 0.6291	media intersticiales:	1.9789
Quiasmas distales:	r= -.5691	media distales:	8.2316
NF	r= 0.8574	media NF:	14.4632

Homocigotas de fusión:

Quiasmas totales:	r= 0.2017	media totales:	13.1628
Quiasmas proximales:	r= 0.2125	media proximales:	3.1279
Quiasmas intersticiales:	r= 0.7350	media intersticiales:	1.0349
Quiasmas distales:	r= -.6381	media distales:	9.0000
NF	r= 0.8658	media NF:	12.8256

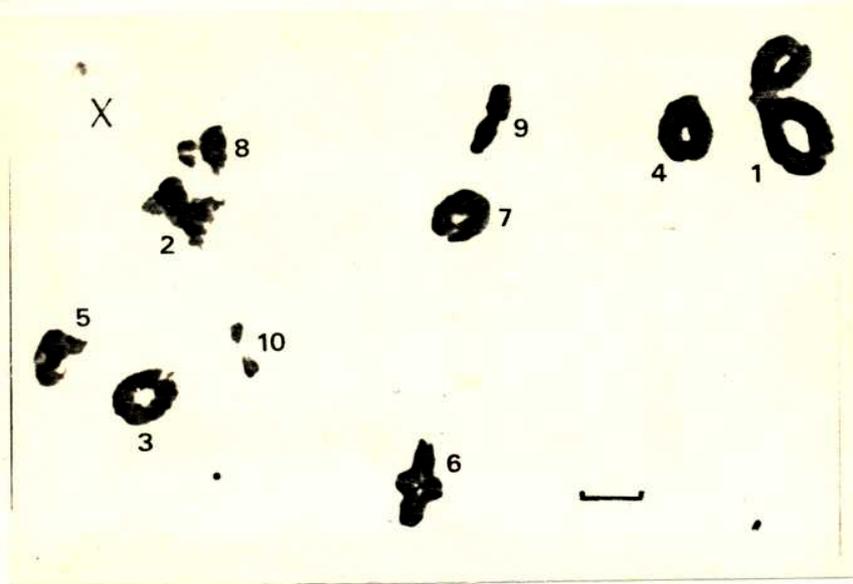


Figura 1: Prometafase meiótica de *Leptysma argentina* mostrando el complemento básico para esta especie: el 1 es un metacéntrico grande, el 2 es un telocéntrico grande, del 3 al 8 (incluyendo el X) son telocéntricos medianos (el 8 lleva grandes bloques de heterocromatina y es el megamérico para esta especie) y el 9 y el 10 son telocéntricos cortos. Barra= 10 um.

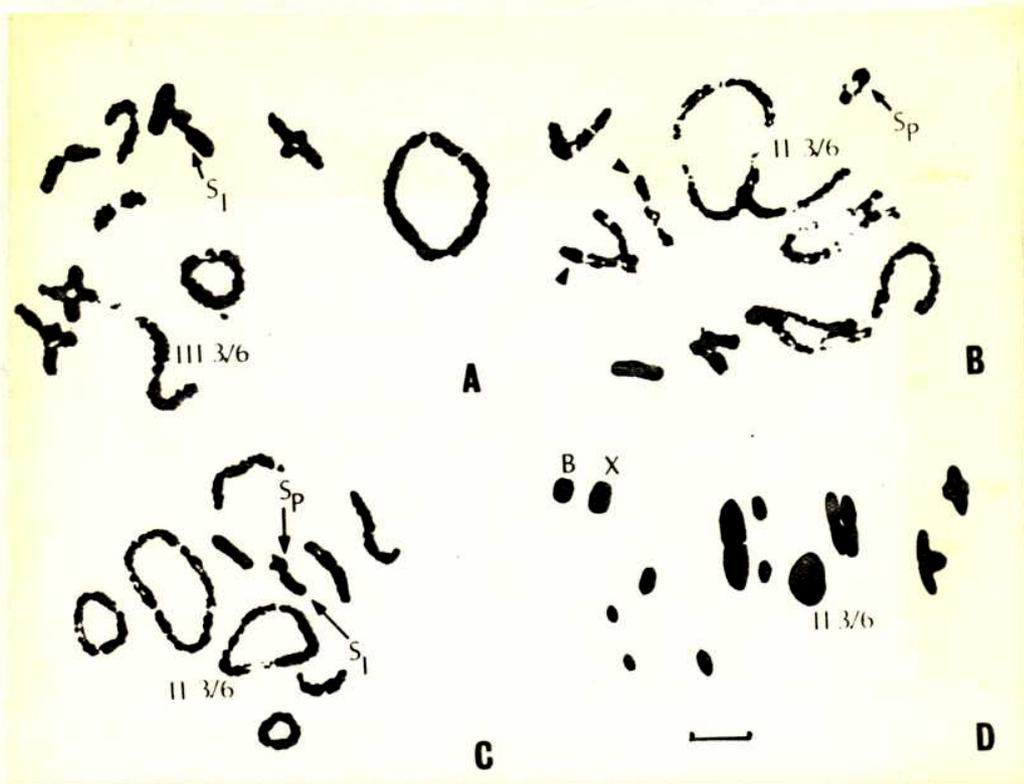


Figura 2: Los polimorfismos cromosómicos de *Leptysma argentina*. a) Diplotene: doble heterocigota para la fusión céntrica 3/6 y el segmento supernumerario s_1 (flecha). b) Diplotene: homocigota de fusión portador del segmento supernumerario proximal s_2 en el par 10 (flecha). También se muestran en esta figura los segmentos supernumerarios en los pares 4 y 9 (puntas de flecha) que aparecen en las poblaciones en baja frecuencia. c) Diplotene: homocigota de fusión portador de ambos segmentos supernumerarios en el par 10 (flechas). d) Metafase I: homocigota de fusión portador de un cromosoma B (B). III 3/6: trivalente 3-3/6-6. II 3/6: bivalente 3/6-3/6. La barra equivale a 10 μ m.



Figura 3: *Leptysma argentina*: Configuraciones meióticas del bivalente 10; a) Sin segmentos supernumerarios, quiasma distal (d) $s_2/+$, quiasma distal; c) $s_2/+$, quiasma distal; d) $s_1/+$, quiasma proximal (p); e) $s_2+/+s_1$, quiasma proximal; f) s_2+/s_1+ , quiasma proximal; g) $s_2s_1/+s_2$, quiasma distal; h) $s_2s_1/+s_1$, quiasma distal.

s_1 - segmento intersticial; s_2 = segmento proximal; c = centromero.

Q_p = quiasma proximal; Q_d = quiasma distal. Las células se encuentran en diplotene. Barra = 10 μ m.

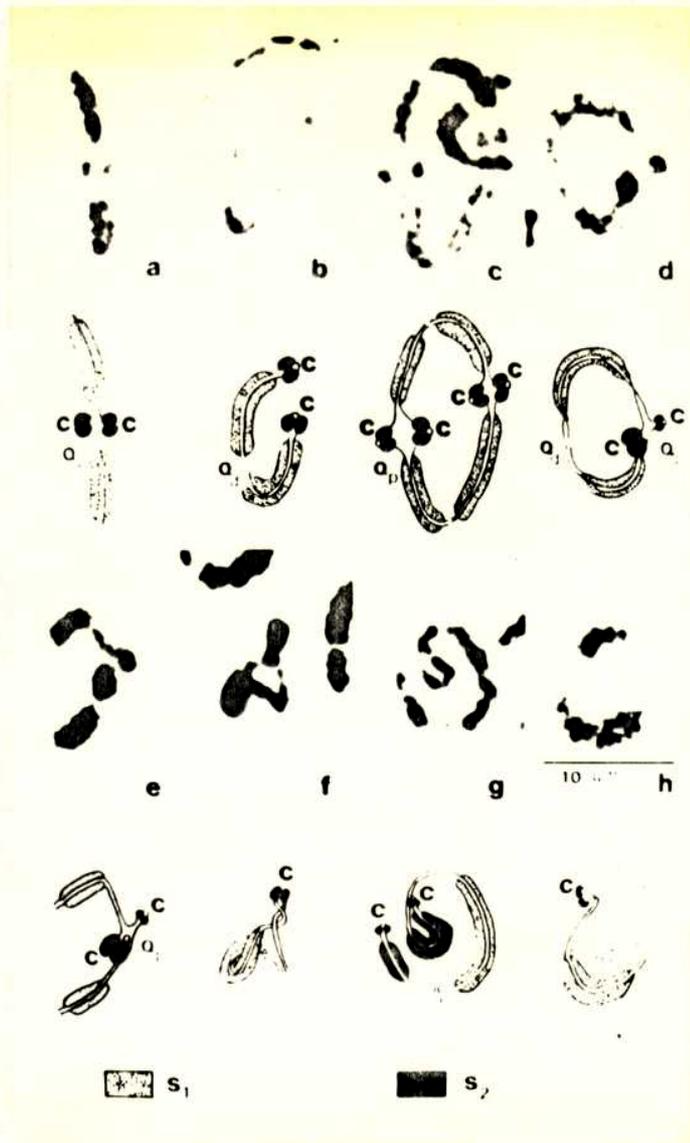


Figura 4: *Leptysma argentina*: Configuraciones meióticas del bivalente 10 en diplotene. a) s_2s_1/s_2s_1 , quiasma proximal; b) s_2s_1/s_2s_1 , quiasma distal; c) cuadrivalente s_2s_1 en una célula tetraploide, con quiasmas proximal y distal; d) $s_2s_1/+s_1$, quiasmas proximal y distal; e) $s_2s_1/+s_1$, quiasma proximal. En paquítene: f) $s_1/+$, apareamiento proximal y distal; g) s_2s_1/s_2+ , apareamiento distal; h) $s_1/+$, apareamiento proximal. Barra= 10 μ m.



Figura 5: El cromosoma B de *Leptysma argentina*. a) Leptotene: cromosoma B no asociado al X. b) Leptotene: cromosoma B asociado al X. c) Paquitene: cromosoma B no asociado al X. d) Paquitene: cromosoma B asociado al X. Nótese el patrón cromomérico en la región eucromática no apareada (flecha). e) Diplotene. f) Diacinesis: cromosoma B asociado al bivalente * (megamerico). g) Metáfase I: cromosoma B migrando hacia el mismo polo que el X. Las flechas señalan siempre la región eucromática del B. Barra= 10 μ m.



Figura 6: *Leptysma argentina*. a) Metafase I: el cromosoma B se encuentra autoorientado. b) Anafase I con el cromosoma B sufriendo división ecuacional. c) Anafase I con el cromosoma B sufriendo división reduccional. d) Anafase II: el cromosoma B sufrió división reduccional en la segunda división (a juzgar por el número) y no es identificable. Barra= 10 μ m.

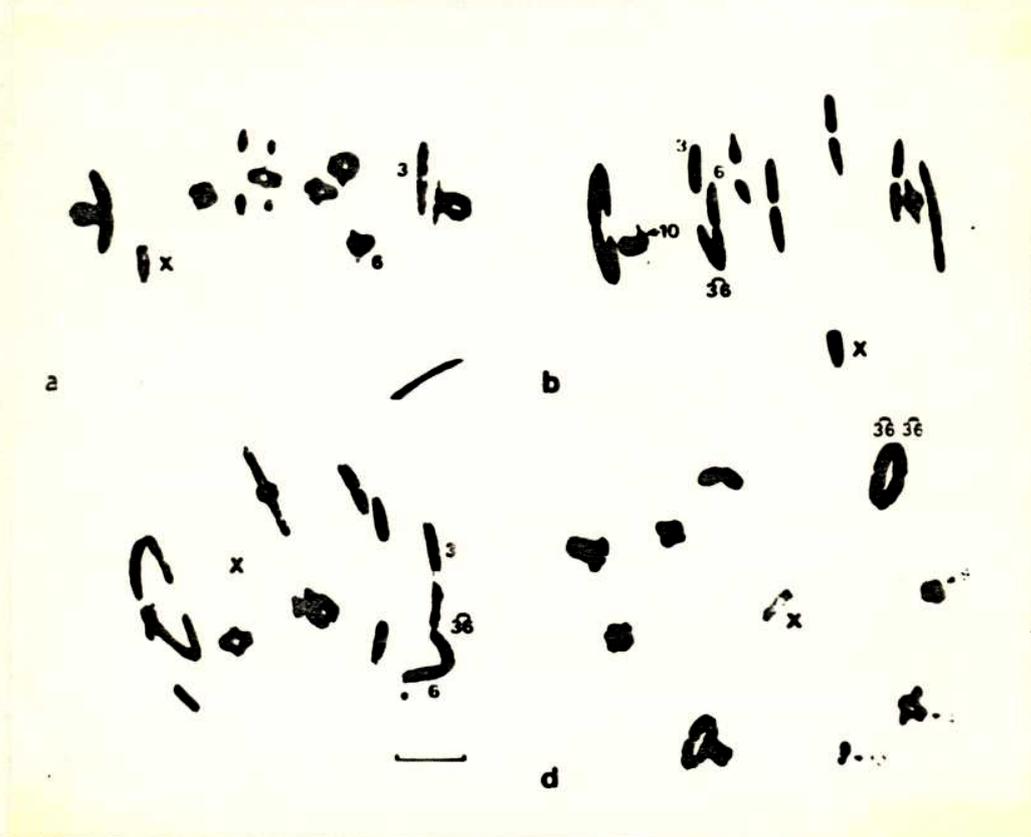


Figura 7: *Leptysma argentina*: el polimorfismo para la fusión 3/6. a) Metafase I; homocigota básico con los pares telocéntricos 3 y 6. b) Metafase I; heterocigota con el trivalente 3-3/6-6 formando dos quiasmas distales y en orientación alterna. c) *Id.* con el trivalente en orientación lineal. d) Metafase I; homocigota de fusión 3/6 con el bivalente 3/6 metacéntrico. Las flechas señalan pares heteromórficos por heterocigosis para segmentos supernumerarios. Barra= 10 μ m.

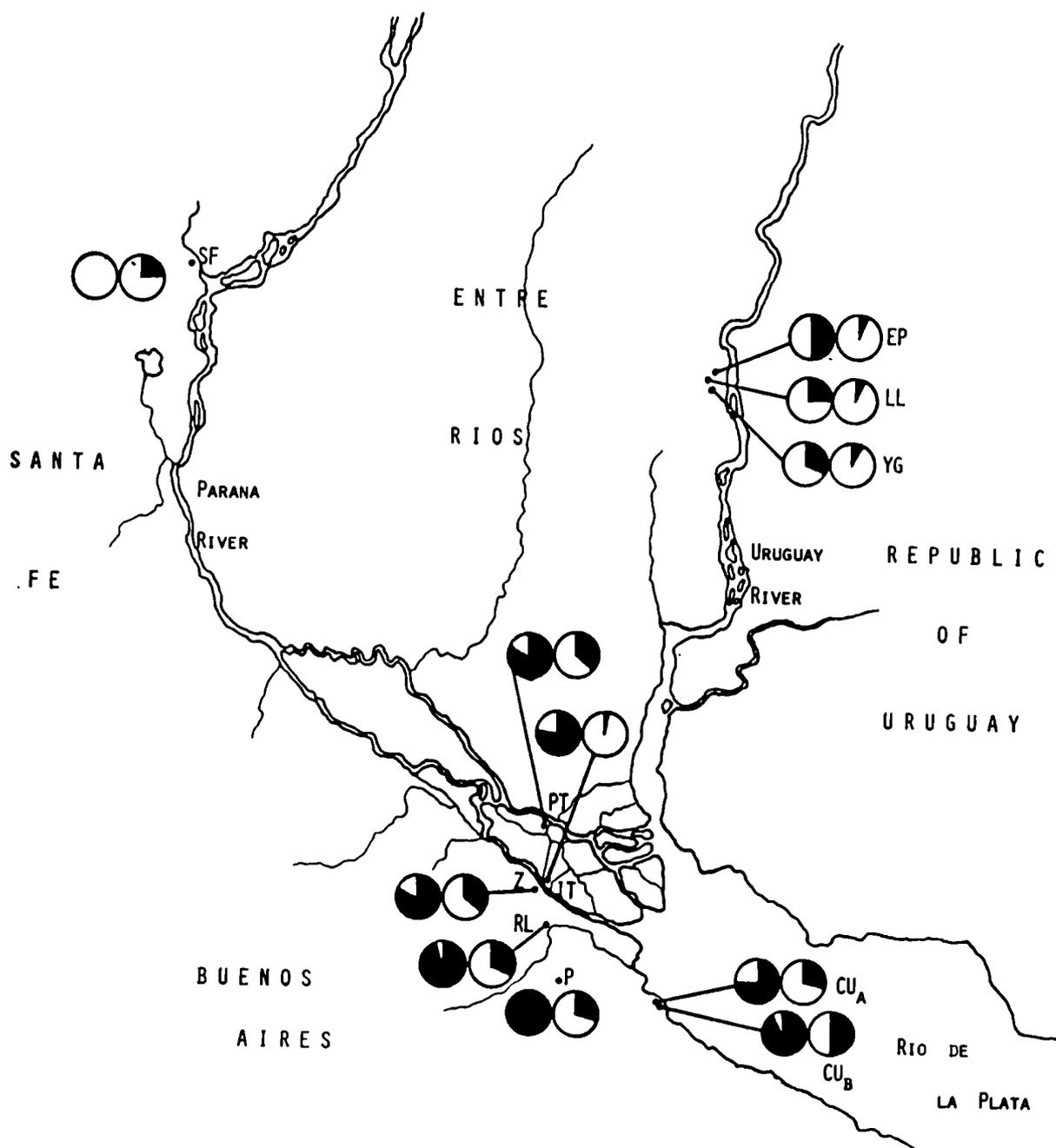


Figura 8: Mapa mostrando la distribución de las frecuencias para la fusión céntrica 3/6 (círculo izquierdo) y para el segmento s_1 (círculo derecho). El área sombreada dentro de cada círculo representa la frecuencia de cada polimorfismo. Siglas de las localidades como en tabla 1. Las poblaciones CU_A y CU_B corresponden a las estudiadas por Bidau & Hasson (1984).

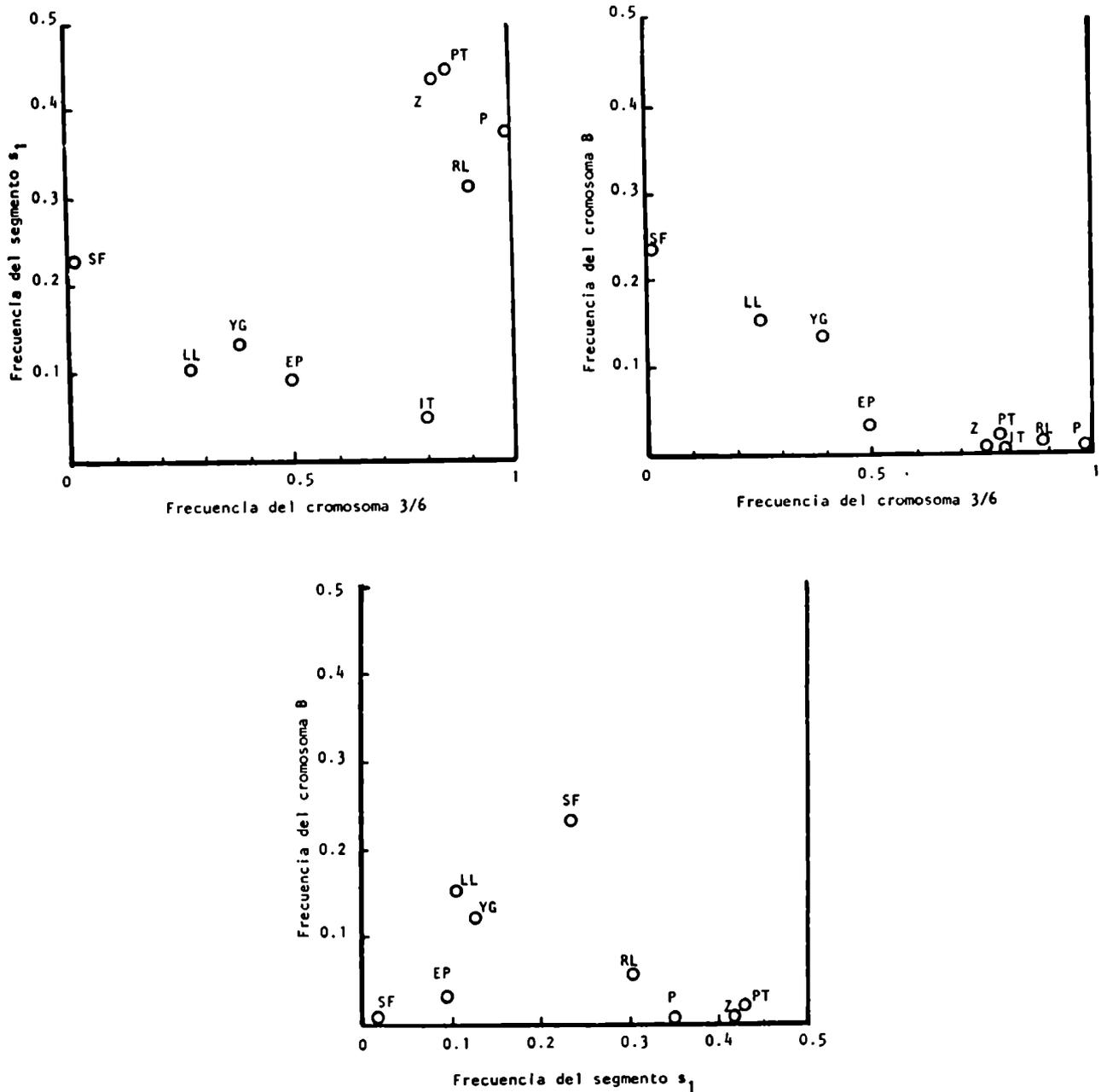


Figura 9: Frecuencias de los polimorfismos cromosómicos de *Leptyssa argentina* que revelaron un patrón geográfico (fusión céntrica 3/6, segmento s_1 , cromosoma B) representadas en sendos sistemas biaxiales ortogonales. a) s_1 vs. 3/6; b) cromosoma B vs. 3/6; c) cromosoma B vs. s_1 .

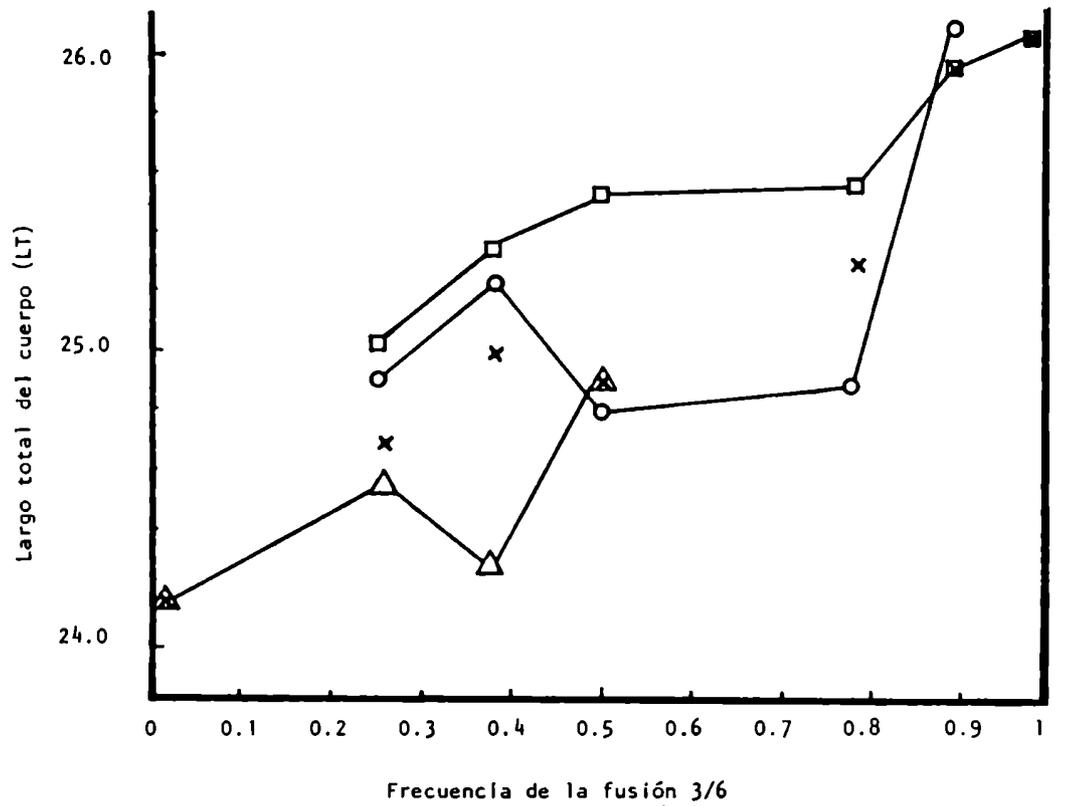
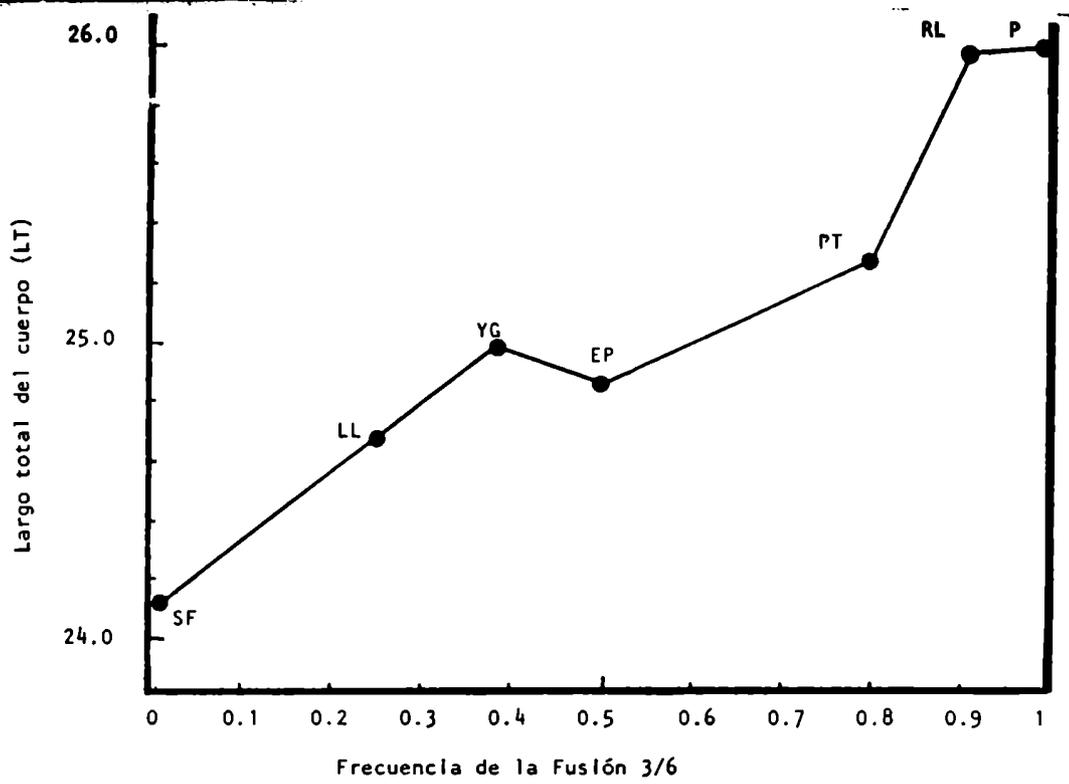


Figura 10: *Leptysma argentina*: efectos exofenotipicos de la fusión 3/6 en las 7 poblaciones analizadas para tal fin. a) Longitud total (LT) vs. Frecuencia de la fusión 3/6. b) *id.* anterior, pero discriminando entre homocigotas básicos (o), heterocigotas (x) y homocigotas de fusión (Δ). Nótese que la tendencia hacia un aumento de la longitud persiste en cada uno de los cariotipos, especialmente en los homocigotas de fusión (en los otros dos es bastante errático).

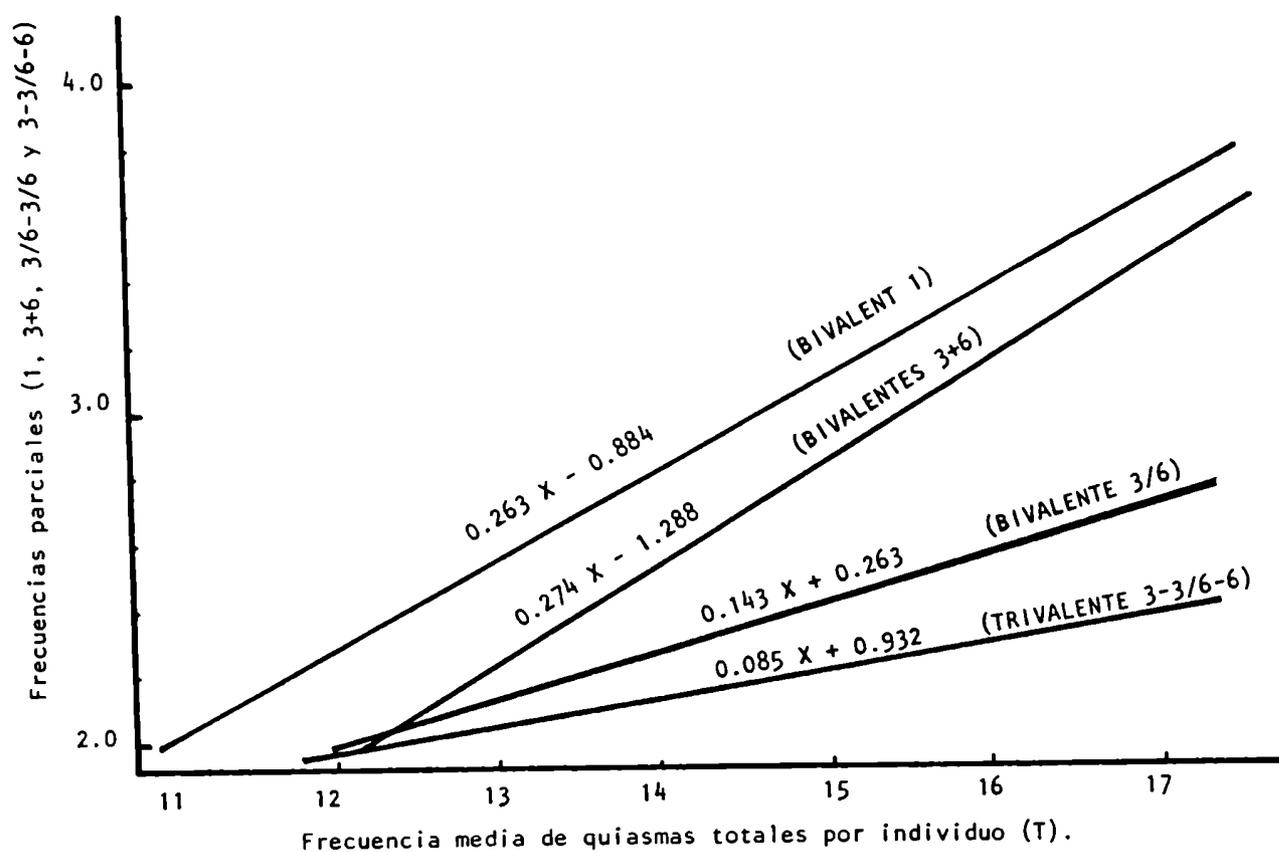


Figura 11: Una comparación entre las líneas de regresión de las frecuencias de quiasmas del bivalente 1, trivalente 3-3/6-6, bivalente 3/6-3/6 y bivalentes 3+6 por individuo sobre la frecuencia media total de quiasmas por célula por individuo. Datos de la tabla 13.

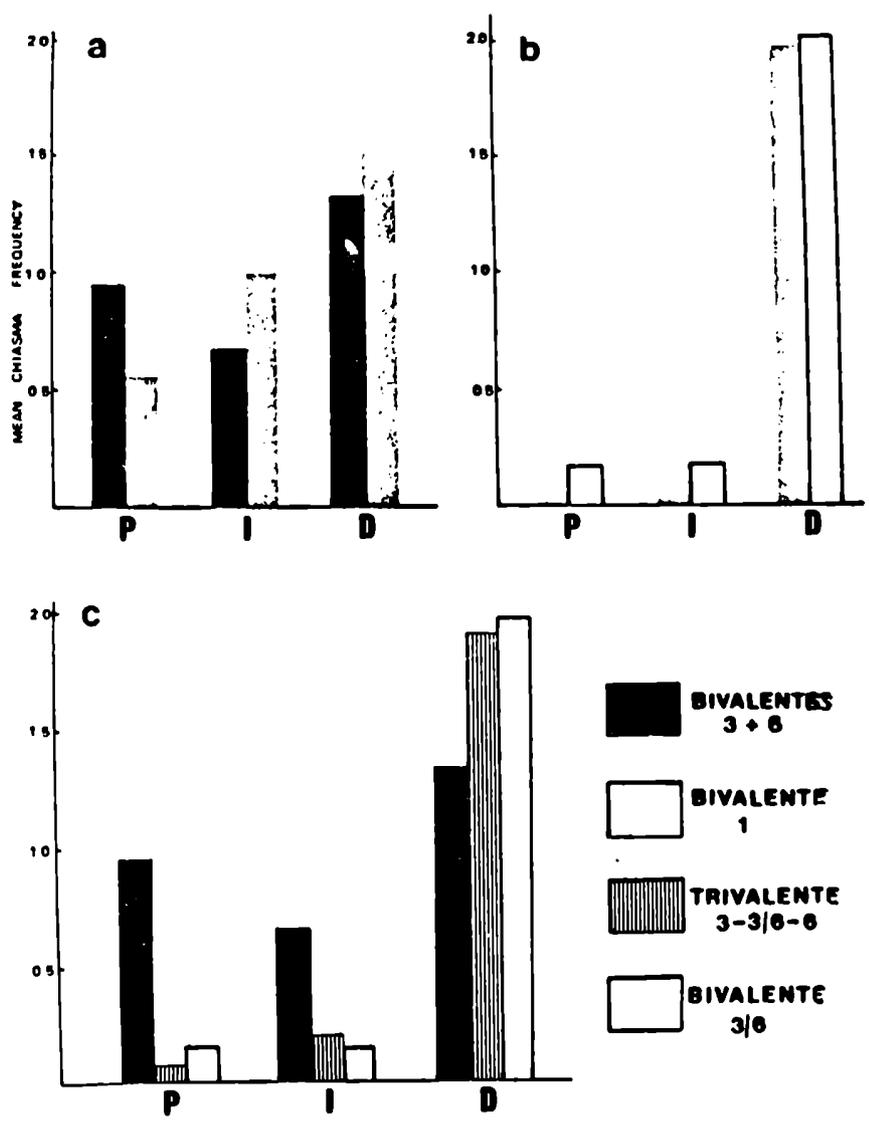


Figura 12: Posición de los quiasmas en los cromosomas involucrados en la fusión 3/6 y en el metacéntrico 1. Las barras representan la frecuencia media de quiasmas por bivalente(s) (o trivalente) en cada posición. a) Bivalente 1 y bivalentes 3 + 6. Datos de 17 homocigotas básicas (220 células). b) Bivalentes 1 y 3/6. Datos basados en 56 homocigotas de fusión (942 células). c) Cromosomas involucrados en la fusión 3/6. Datos de 17 homocigotas básicas, 44 heterocigotas y 56 homocigotas de fusión. (220, 609 y 942 células, respectivamente). P= proximales; I= intersticiales; D= distales.

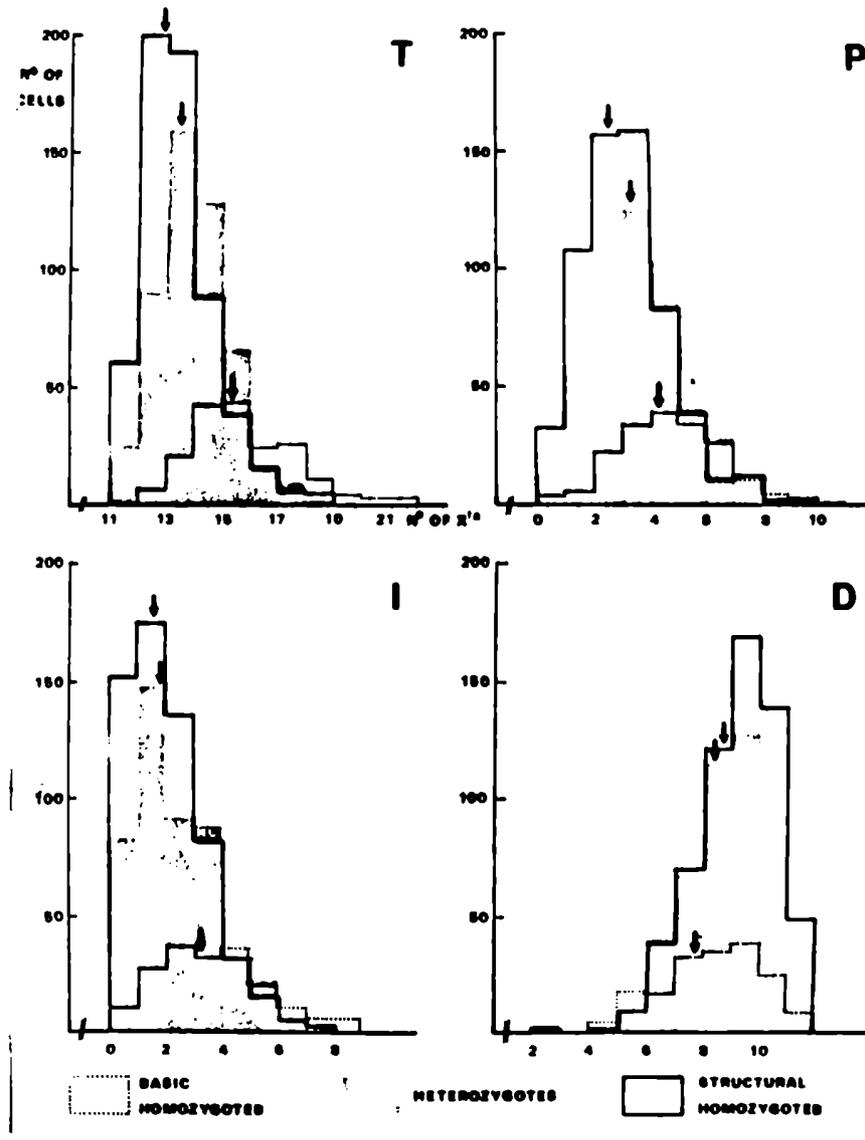


Figura 13: *Leptysma argentine*. Histogramas representando distribución de quiasmas por célula T, P, I y D (en número de células) para los tres cariotipos de la fusión 3/6 (de 177 células de 17 homocigotas básicos, 489 células de 49 heterocigotas y 589 células de 60 homocigotas de fusión).



Figura 14: *Leptysma argentina*: el individuo mutante para la fusión 5/7. a) y b) Células en metafase I mostrando ambos trivalentes (3-3/6-6 y 5-5/7-7) en configuración alterna. c) Trivalente 5-5/7-7 y el fragmento cromosómico (F) libre. d) *Id.* con el fragmento asociado al trivalente. e) Trivalente 5-5/7-7 en orientación lineal. Barra= 10 μ m.

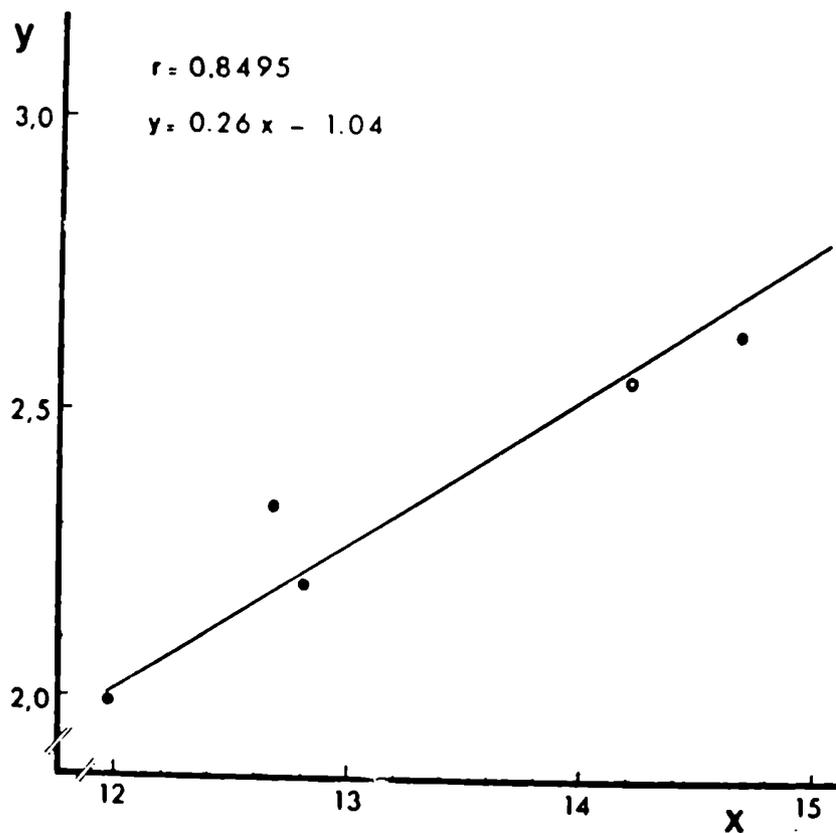


Figura 15: Frecuencias medias de quiasmas en los cromosomas involucrados en la fusión 5/7 (Y) vs. frecuencia media total de quiasmas por célula (X). \bullet : individuos normales (no mutantes); \circ : doble heterocigota.

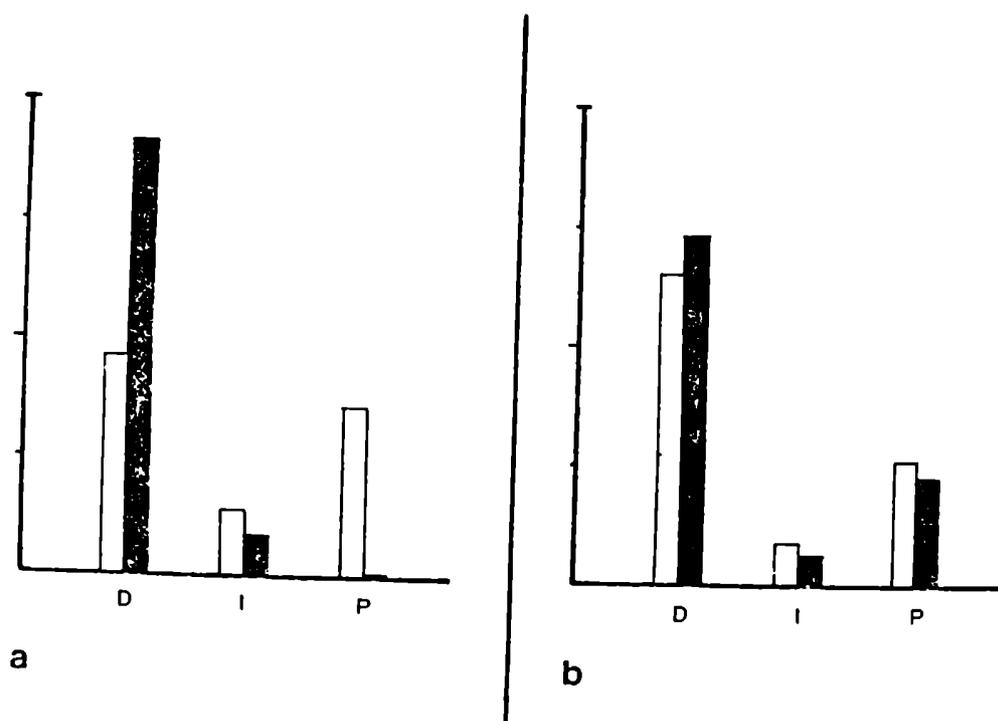


Figura 16: Posición de los quiasmas en: a) los bivalentes telocéntricos 3+6 de un homocigota básico () comparados con el trivalente 3-3/6-6 de 9 heterocigotas (); y b) en el trivalente 5-5/7-7 del individuos mutante () con los bivalentes telocéntricos 5+7 de 8 individuos no mutantes (). Datos correspondientes a los de la tabla 21, transformados en porcentajes para su comparación.

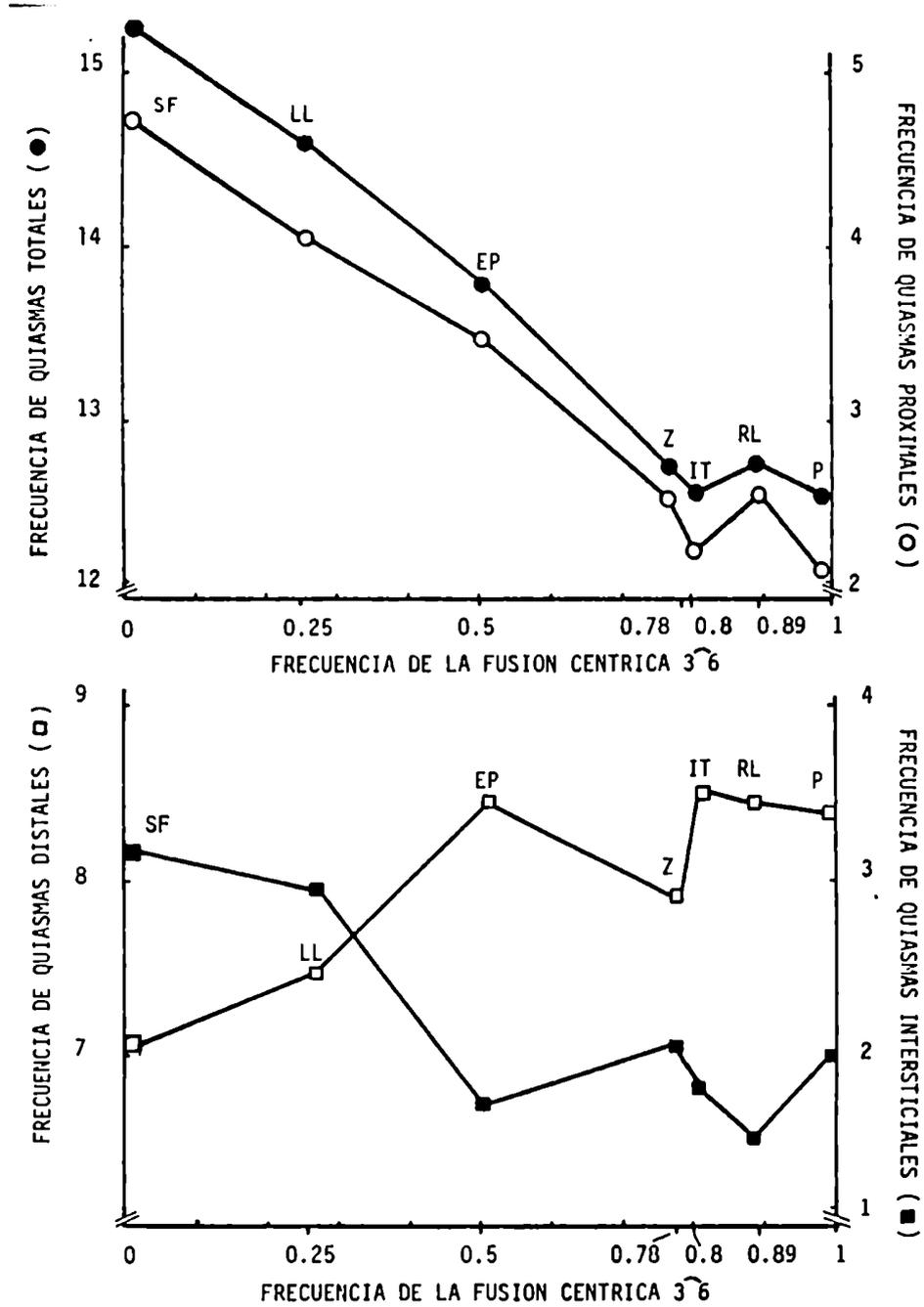


Figura 17: Frecuencias medias de quiasmas T, P, I y D por población representadas vs. la frecuencia de la fusión 3/6 en 9 poblaciones de *Leptysma argentina*. a) T y P; b) I y D. Datos de la tabla 22.

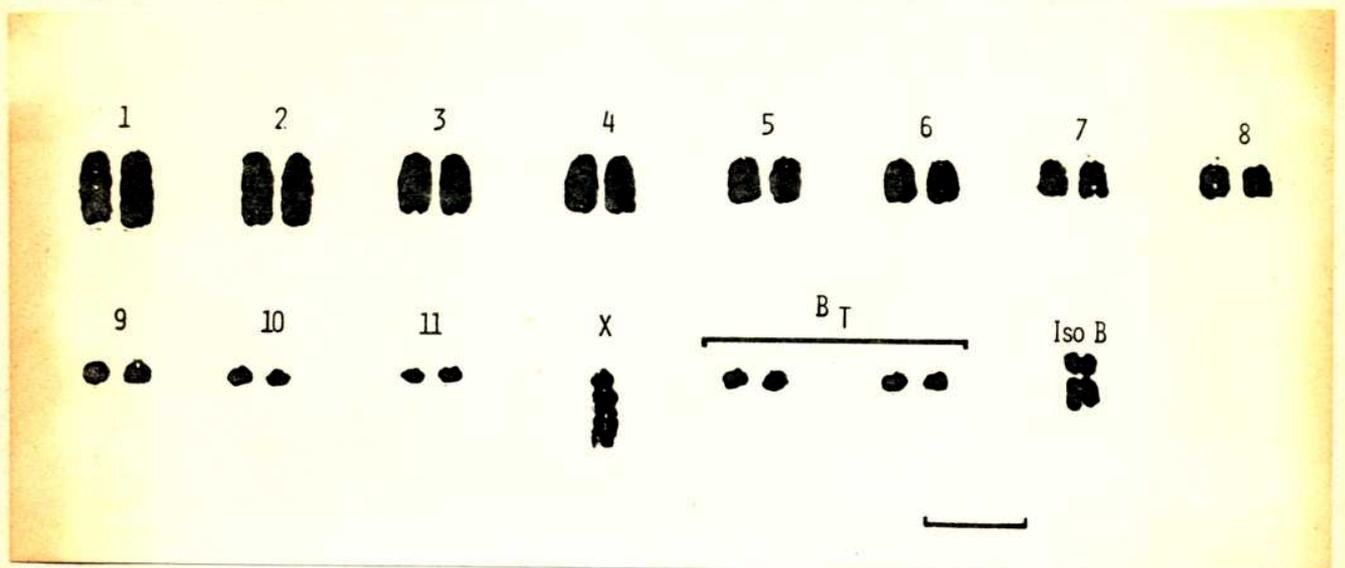


Figura 18: El cariotipo de *Cylindrotettix obscurus*. El complemento básico consiste de 23 cromosomas telocentricos (22 A + XO) en el macho; los cromosomas B_t poseen un tamaño análogo al de los miembros más pequeños del complemento (de la célula en la figura 19a). El cromosoma Iso B es submetacéntrico (el que aquí se muestra proviene de la célula en la figura 20 b y se lo incluyó para los efectos de la comparación). La barra equivale a 10 μ m.



Figura 19: Los cromosomas B de *Cylindrotettix obscurus*. a) Metafase gonial con 4 B_s. b) Bivalente Iso B (punta de flecha) en un individuo que es portador de dos Iso B mostrado en paquitene. Nótese el apareamiento completo de ambos elementos supernumerarios. c) *id.* en metafase I; nótese la formación del pequeño bivalente submetacéntrico. d) Placa metafásica del mismo individuo pero mostrando dos univalentes en anillo. Barra= 10 um.



Figura 20: Los cromosomas B de *Cylindrotettix obscurus*. a) Anafase I con el bivalente Iso B sufriendo no-disyunción (punta de flecha). b) Metafase II con 1 Iso B (flecha). c) Polo de anafase II con los dos Iso Bs, productos de no-disyunción (flechas). d) Diplotene con un Iso B (flecha gruesa) + 1 bivalente B_t ($II B_t$) + 2 univalentes del complemento A (marcados con flechas finas). Nótese el Iso B formando un univalente abierto (no en anillo); e) Lo mismo en metafase I (sólo que hay un par de univalentes A menos). Barra= 10 μ m.

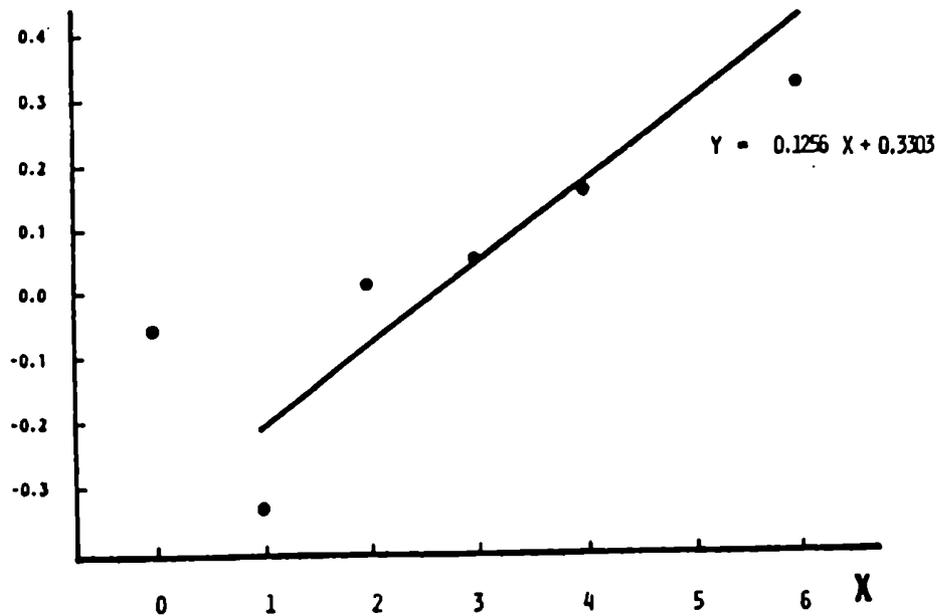
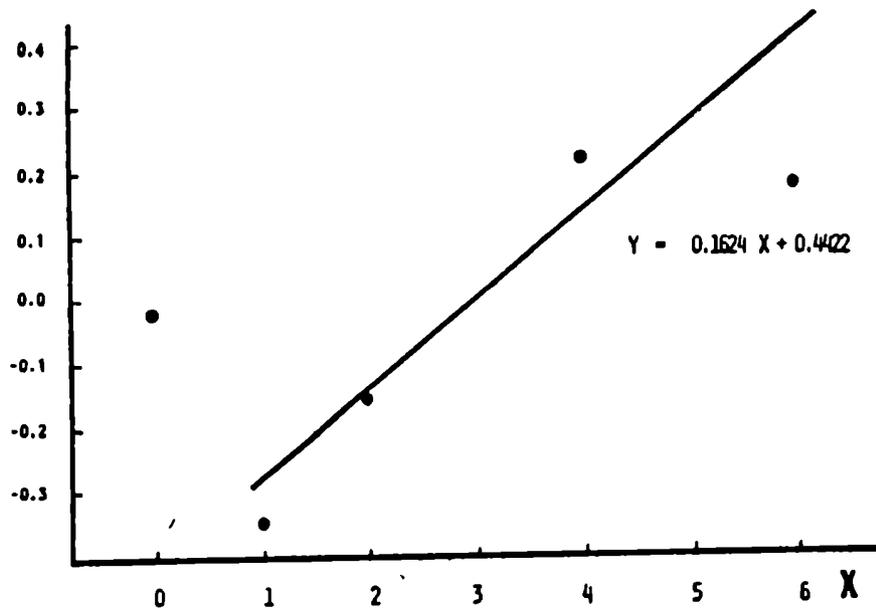


Figura 21: Efectos del cromosoma B_4 sobre la frecuencia de quiasmas proximales (a) y totales (b) en *Cylindrotettix obscurus*. Datos de la tabla 25. En ambos casos la regresión fue altamente significativa en el intervalo 1-6 B_4 s. Y= frecuencia transformada de quiasmas totales y proximales. X= número de cromosomas B_4 .

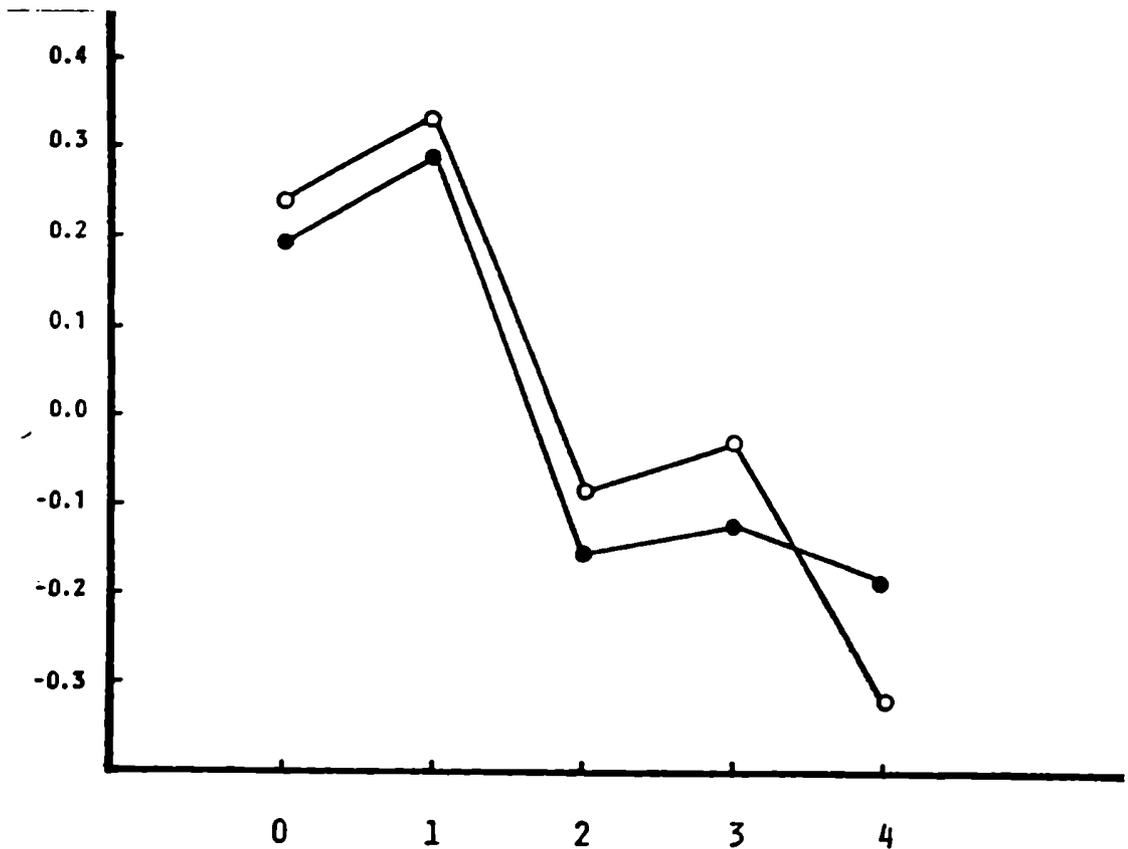


Figura 22: Efecto de dosis de los cromosomas B₄ sobre las frecuencias de quiasmas totales (○) y proximales (●) en 5 individuos portadores de Iso B. Datos de la tabla 28. La regresión no fue significativa para los quiasmas totales (p= 0.0779) pero fue significativa para los proximales (p= 0.028). Y= frecuencia transformada de quiasmas totales y proximales. X= número de B₄s.

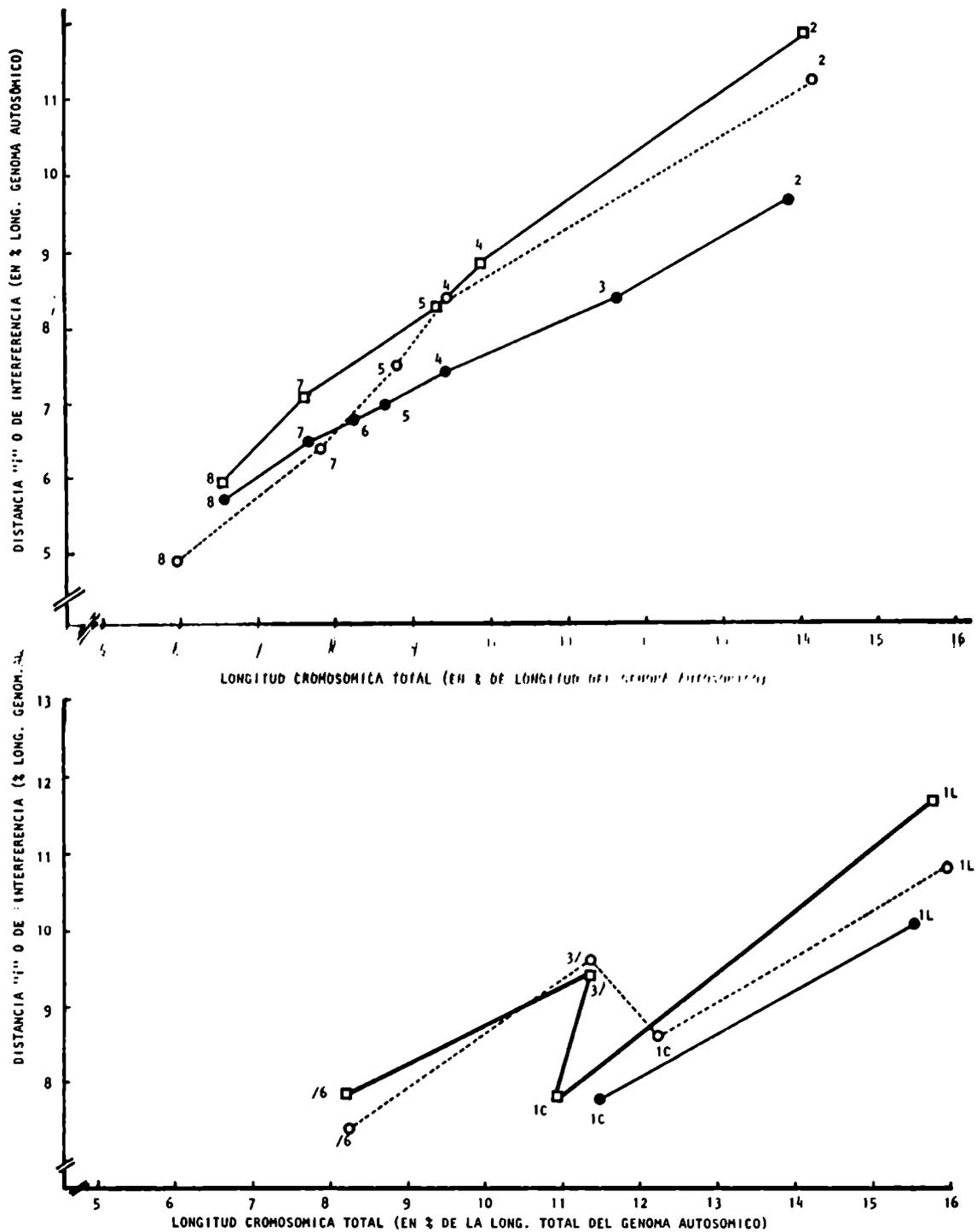


Figura 23: Distancia de interferencia (i) representada versus la longitud total (T) de cada cromosoma o brazo cromosómico (las distancias y longitudes están expresadas en porcentajes de la longitud total autosómica). a) Cromosomas telocéntricos; b) Cromosomas metacéntricos.

- — — — — : Homocigotas básicas;
- - - - - o - - - - - : Heterocigotas;
- — — — — : Homocigotas de fusión.

HOMOCIGOTAS BASICOS

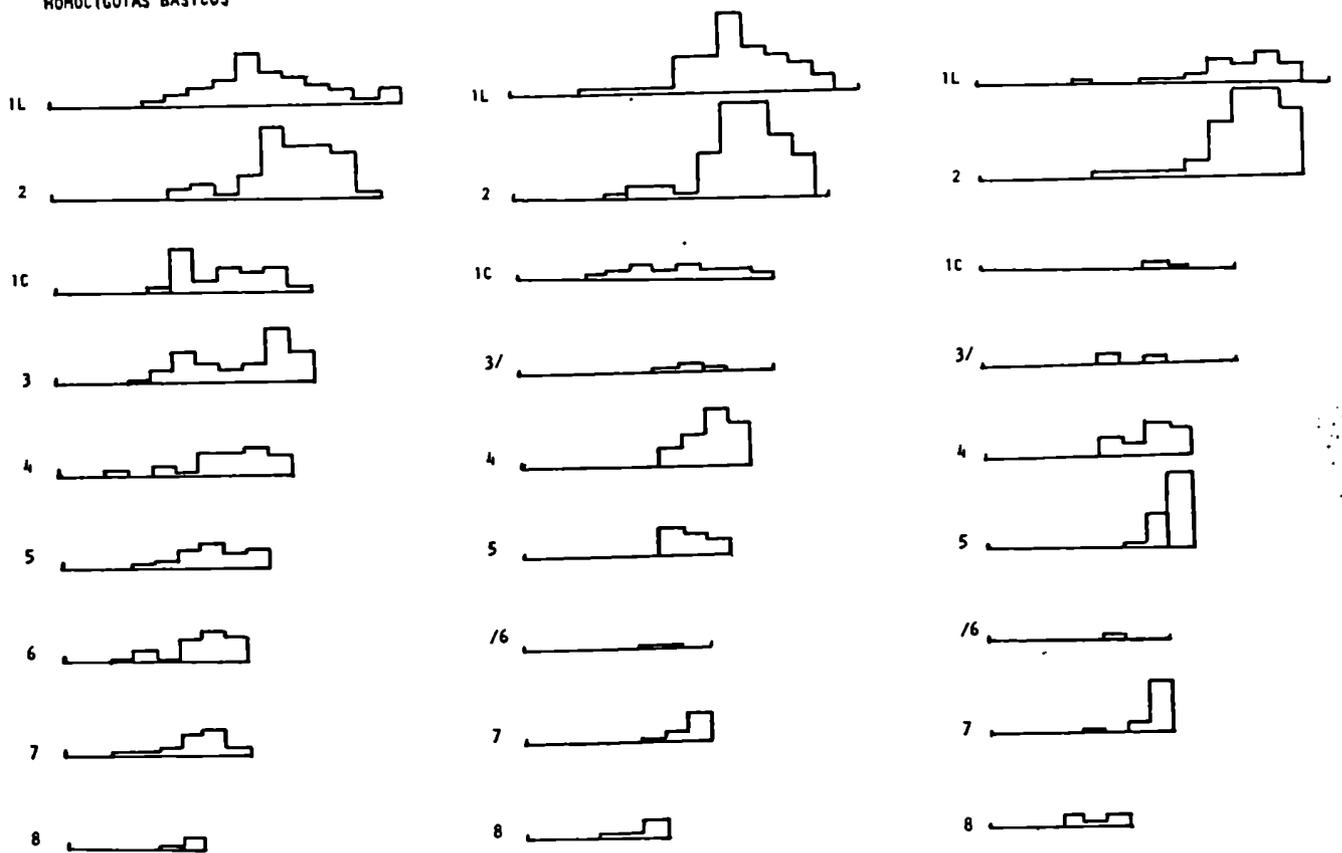
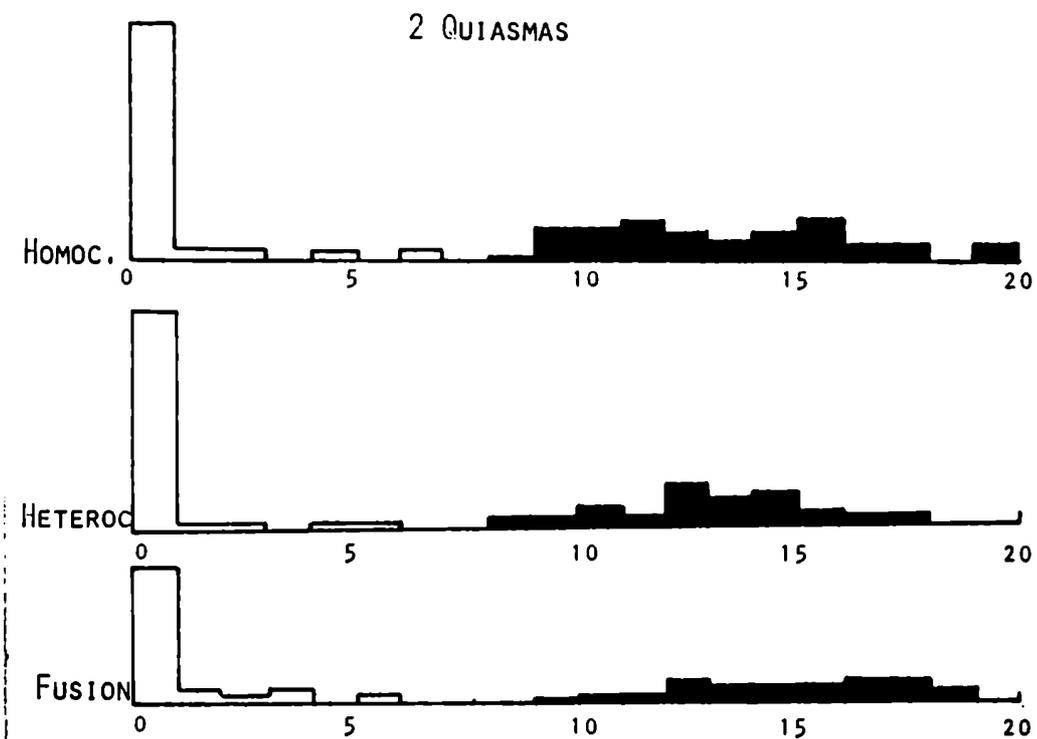
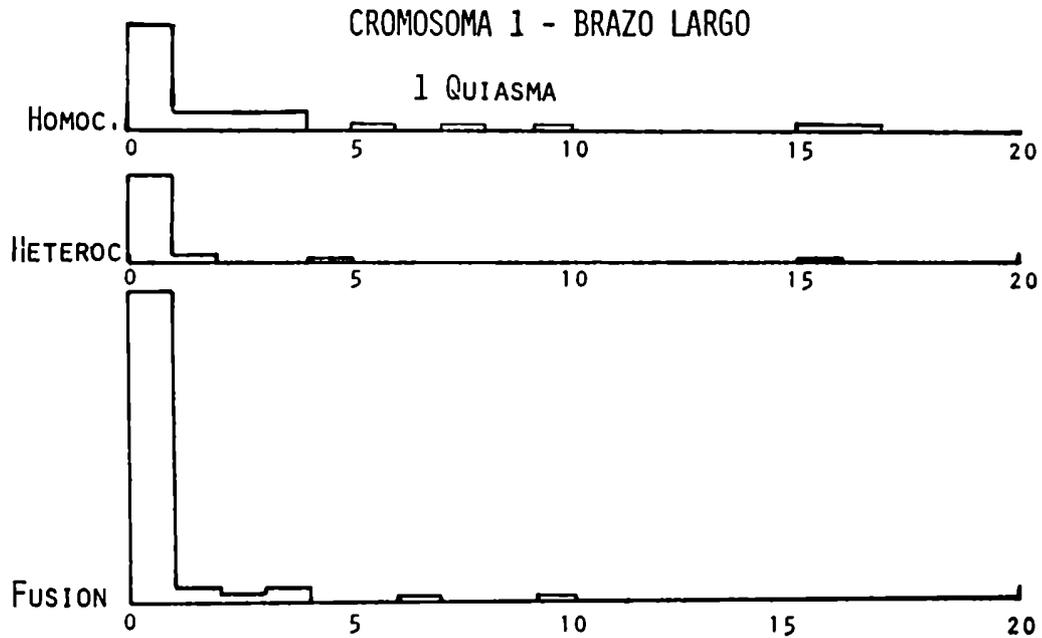
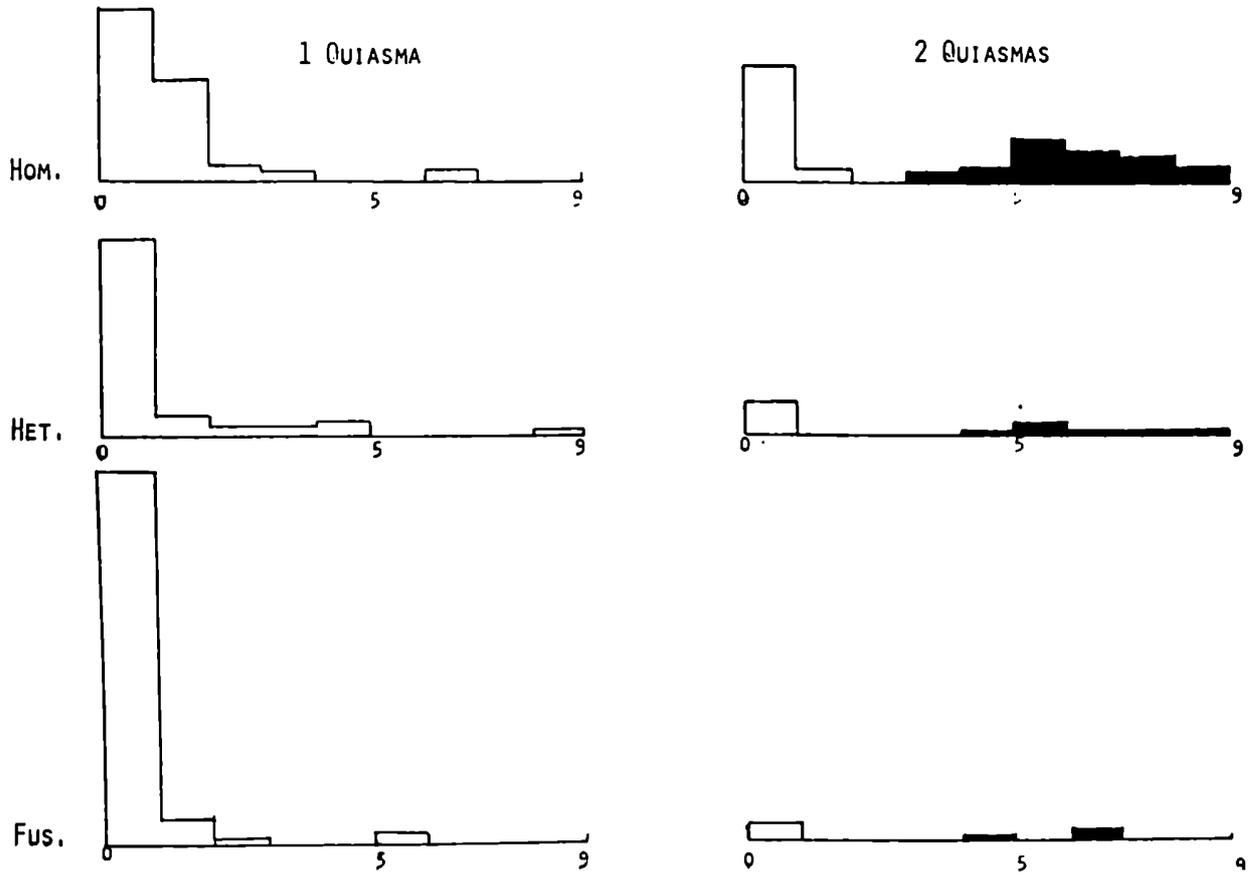


Figura 24: Distribución de la distancia de interferencia (i) a lo largo de cada cromosoma para los tres cariotipos de la fusión 3/6. Nótese: el aumento de las distancias de interferencia en los portadores de la fusión (especialmente en los homocigotas), la baja frecuencia de bivalentes con 2 quiasmas en los brazos metacéntricos, y la constancia que la distancia de interferencia mínima observa cierta constancia entre los cromosomas (o brazos cromosómicos) dentro de cada cariotipo.

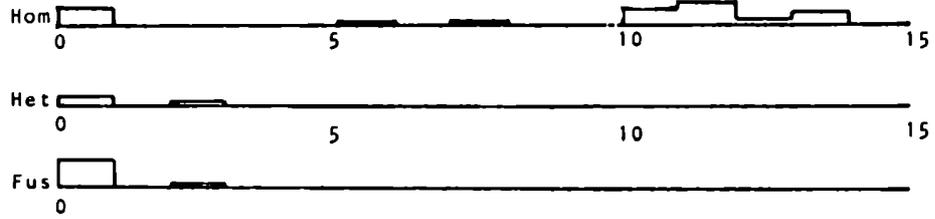


Figuras 25-31: Distribución de quiasmas en los cromosomas (o brazos cromosómicos) 1L, 2, 1C, 3 (3/), 4, 5, 6 (/6), para bivalentes con uno y dos quiasmas y en cada uno de los cariotipos de la fusión. En los gráficos que representan los cromosomas con dos quiasmas, el histograma de color negro corresponde a la posición del segundo quiasma. Nótese un marcado patrón proximal-distal entre los portadores de la fusión (especialmente en los homocigotas de fusión).

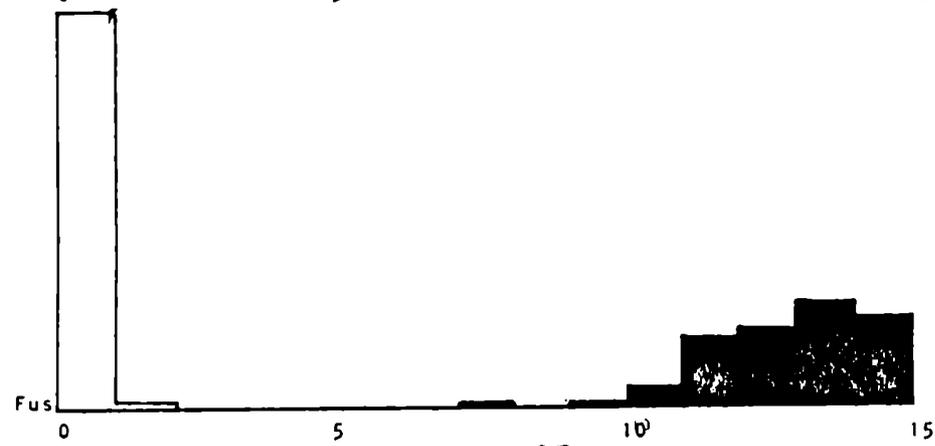
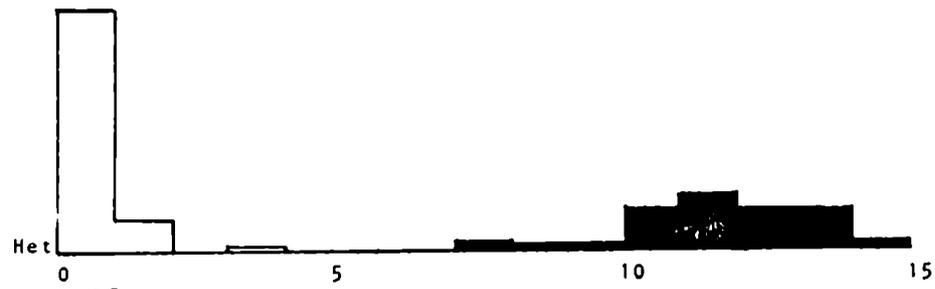
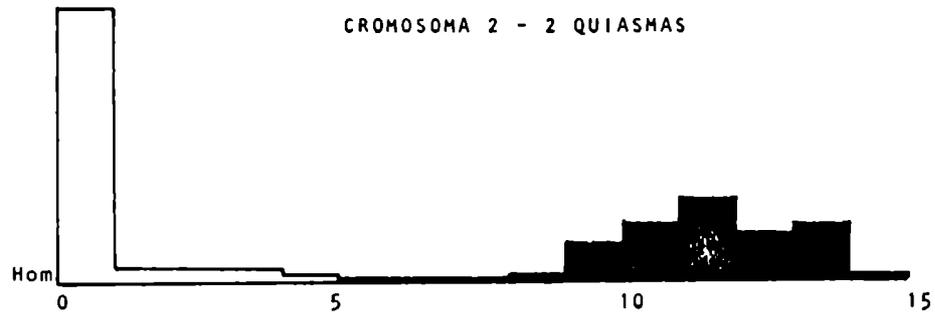
CROMOSOMA 1 - BRAZO CORTO

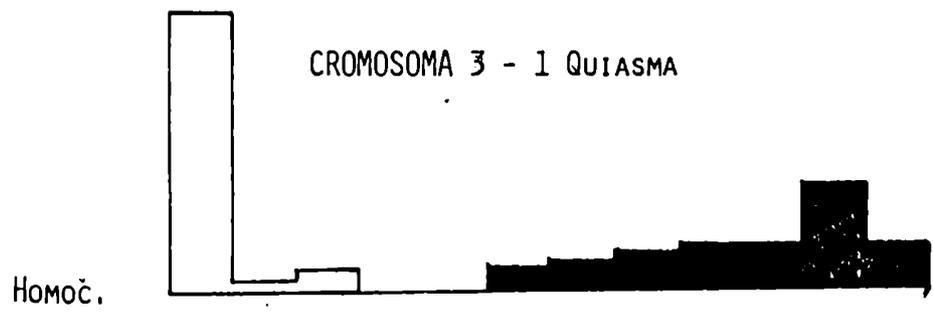
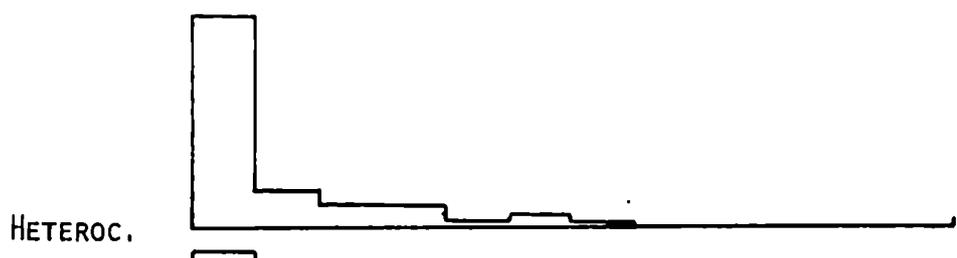
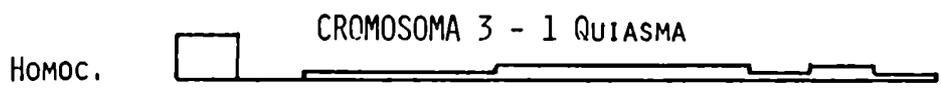


CROMOSOMA 2 - 1 QUIASMA

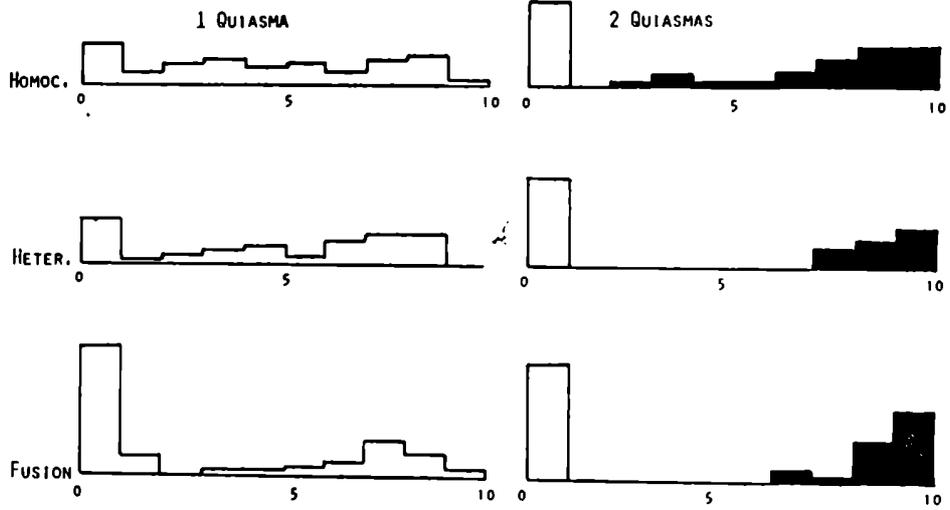


CROMOSOMA 2 - 2 QUIASMAS

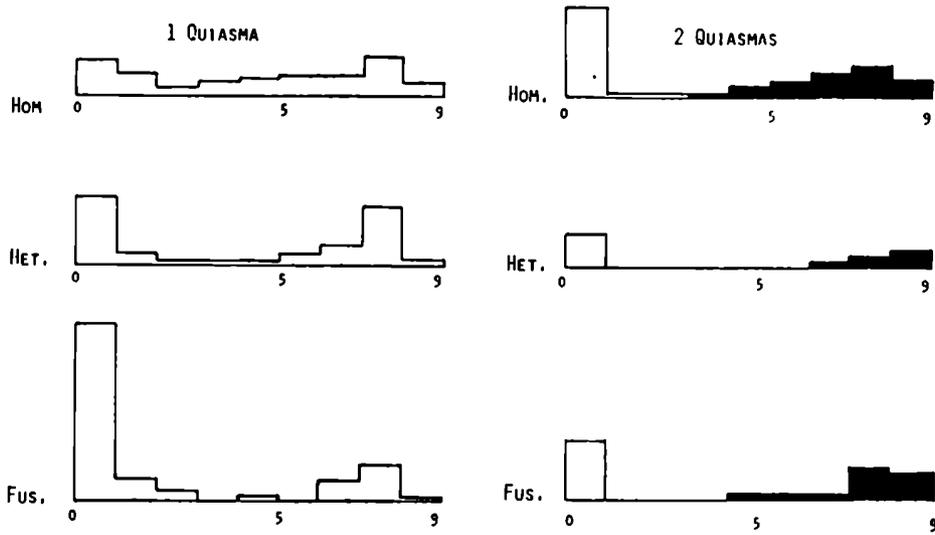




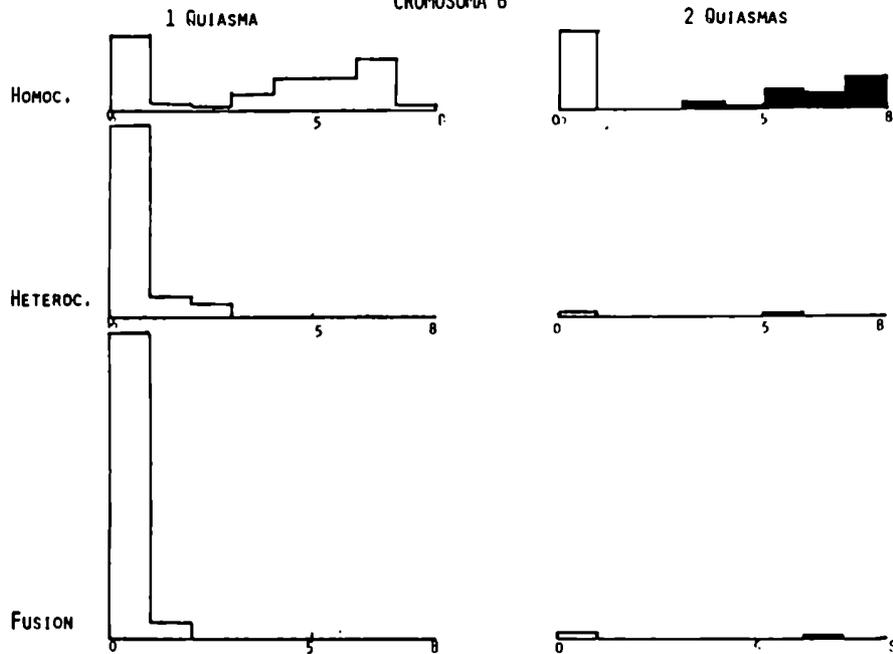
CROMOSOMA 4



CROMOSOMA 5



CROMOSOMA 6



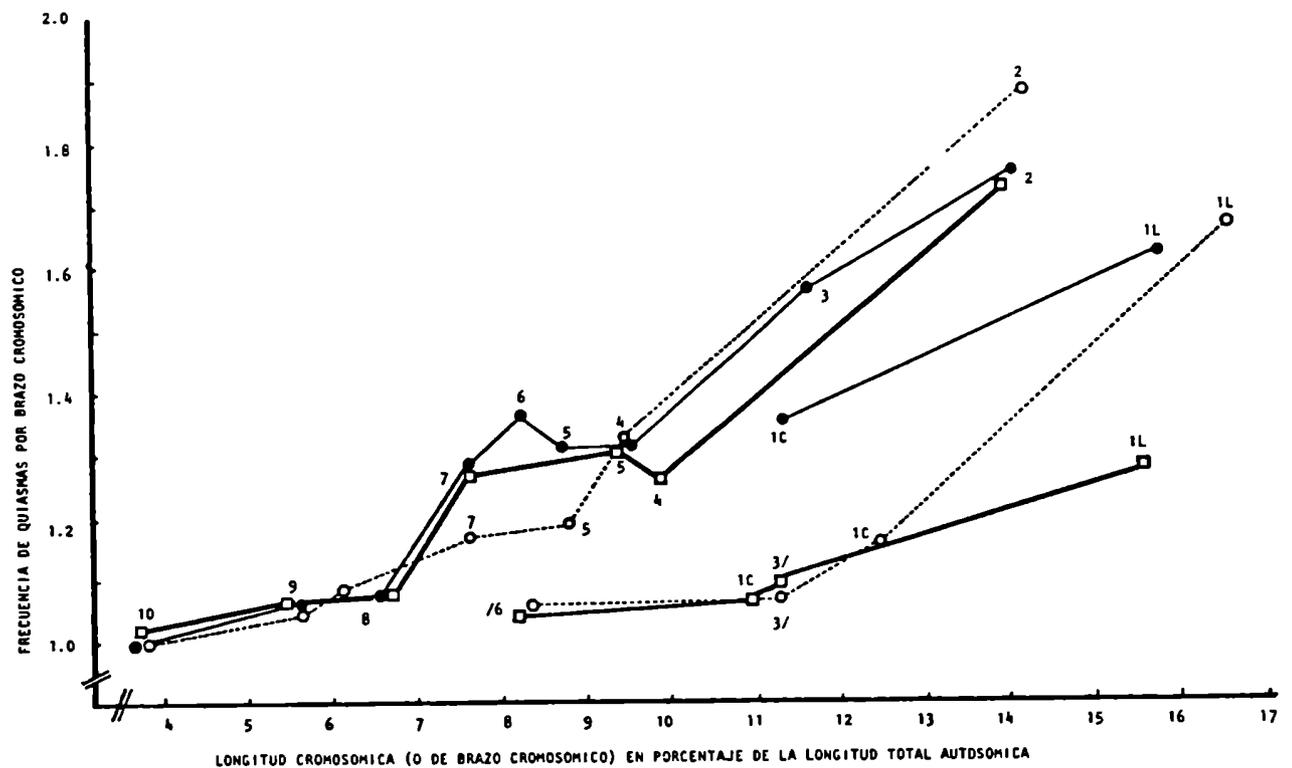


Figura 32: Frecuencia de quiasmas en cada uno de los cromosomas (o brazos cromosómicos) para todos los tres cariotipos de la fusión 3/6, representada versus la longitud cromosómica (en porcentaje de longitud total del genoma autosómico). Se ha graficado por separado a los metacéntricos (debajo, y con su respectivo nombre) de los telocéntricos (arriba) por ser su comportamiento distinto; ver un patrón similar en Southern (1967).

— □ —: Homocigotas básicas;
 - - - ○ - - -: Heterocigotas;
 — ● —: Homocigotas de fusión.

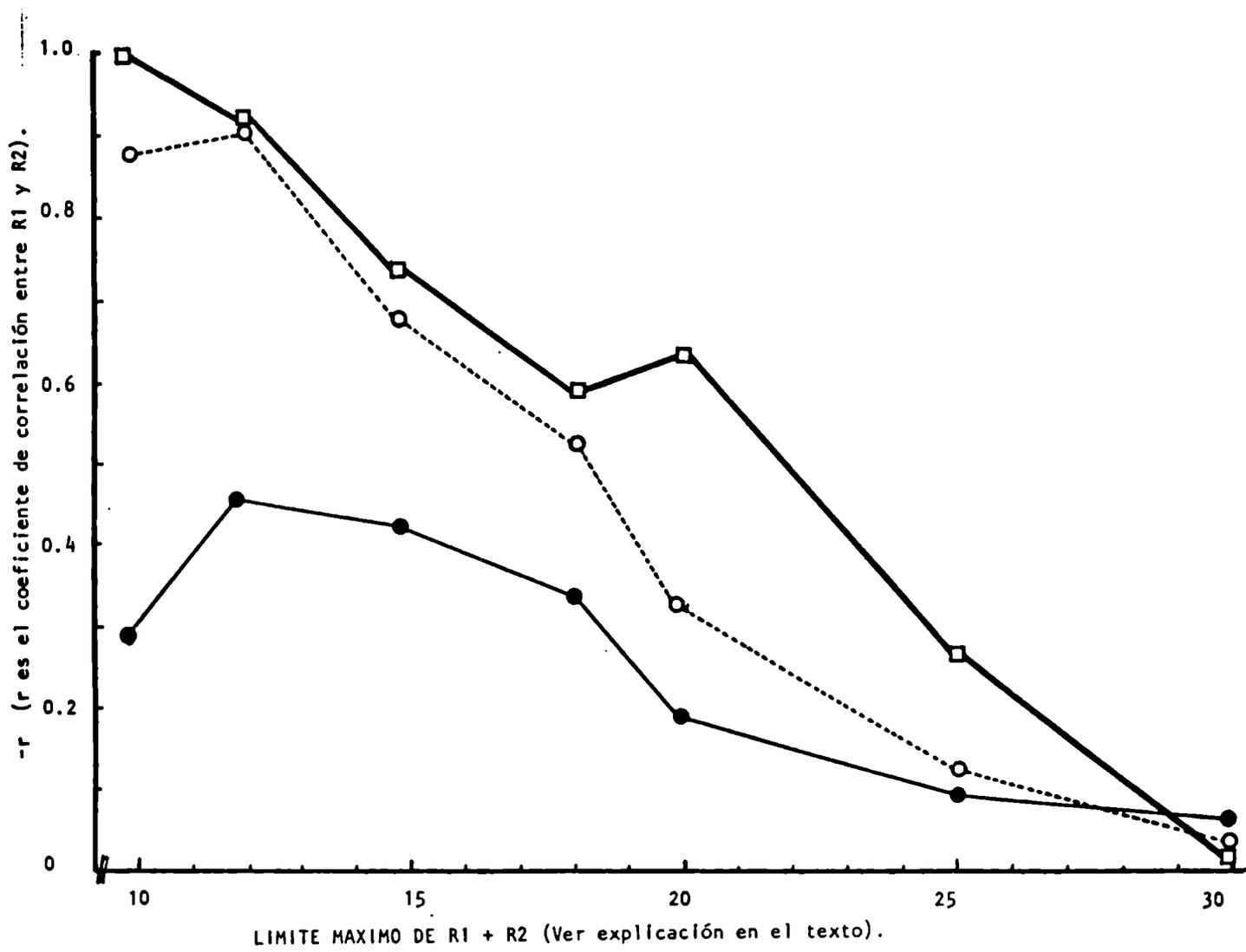


Figura 33: Coeficiente de correlación (en módulo) entre R_1 y R_2 (distancias residuales de 1L y 1C, respectivamente) versus la suma de estas dos variables (ver explicación en el texto).

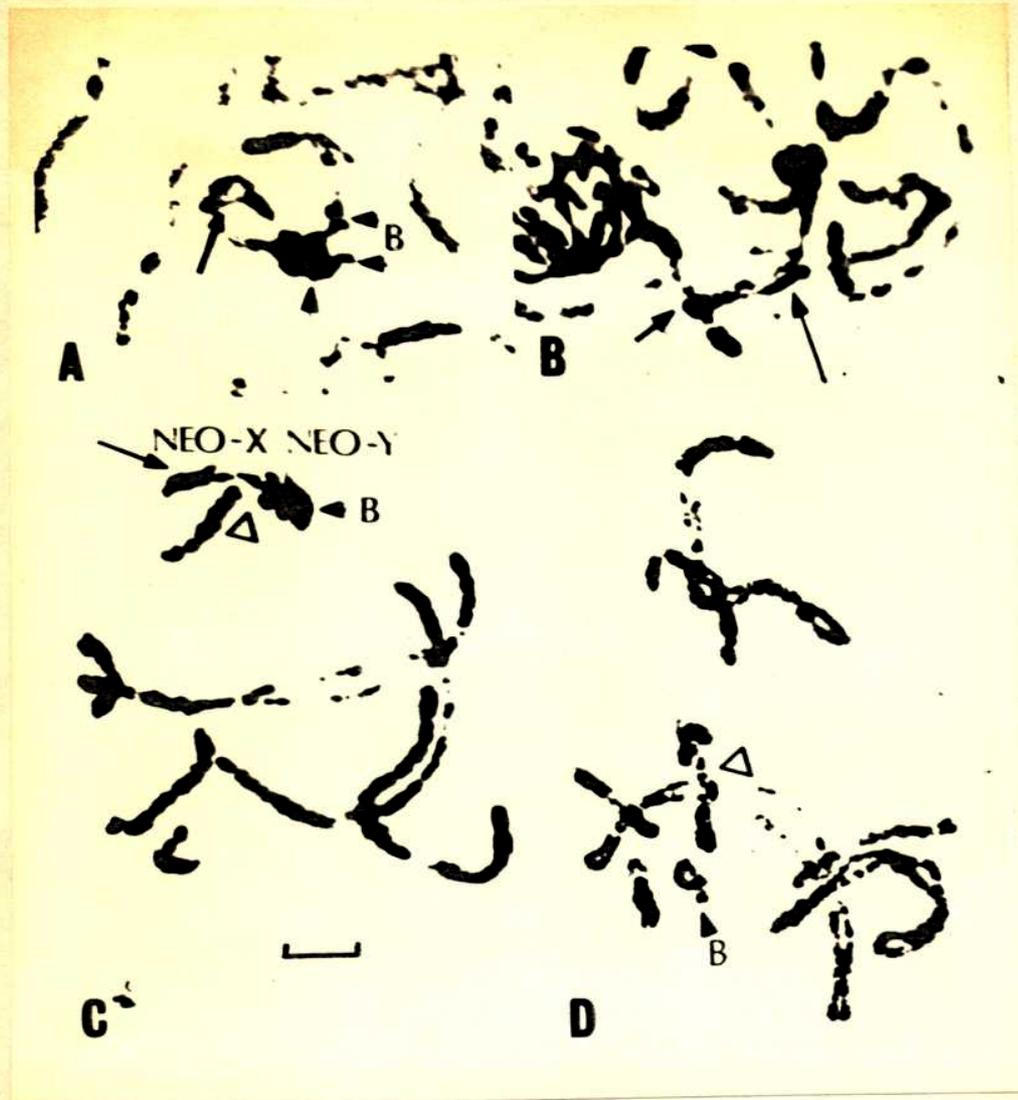


Figura 34: a) Bivalente neoX-neoY de *Leptysma sp.* (Puerto Talavera). Las puntas de flecha señalan el cromosoma B asociado a la región "paleo-X". La flecha señala el neoY parcialmente apareado. b) Bivalente neoX-neoY en un paquitene más avanzado. Se observa que el neoY es mucho más corto que el neoX y que su región proximal es heterocromática. La flecha señala el neoY, la punta de flecha blanca señala el neoX y la punta de flecha negra apunta al cromosoma B. c) Paquitene avanzado: se observan los tres bivalentes metacéntricos (uno de ellos con la región centromérica no apareada), los 4 acrocéntricos y el neoX-neoY asociado al cromosoma B. d) Paquitene tardío. Comienza la repulsión. El cromosoma B ha perdido su asociación con el neoX.

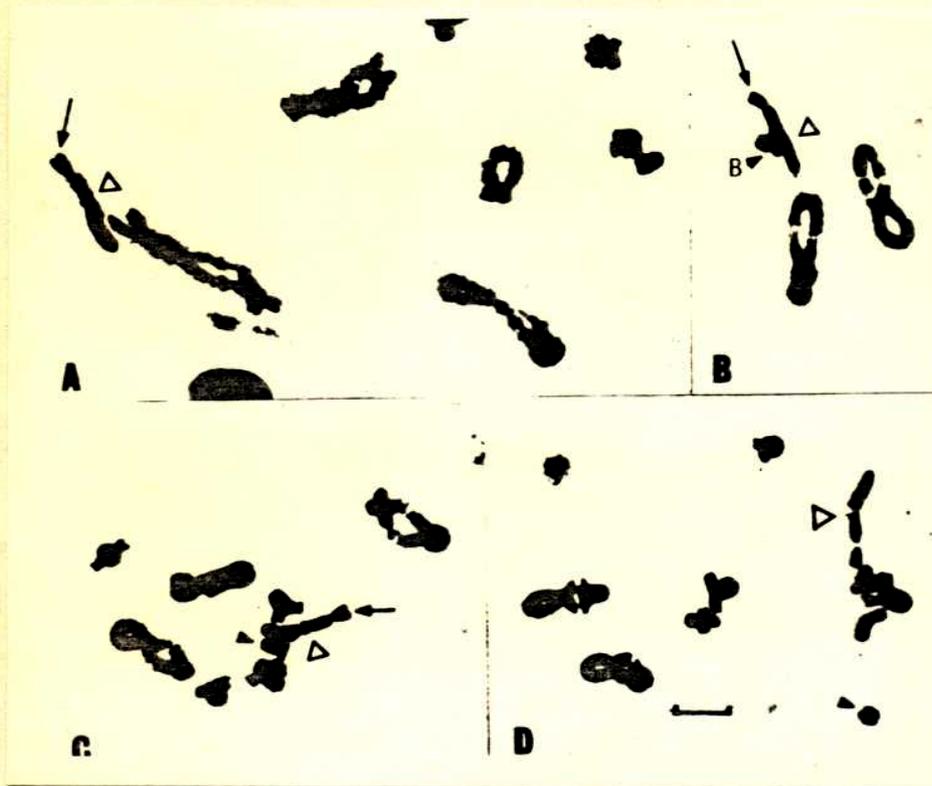


Figura 35: *Leptysma* sp. (Puerto Talavera). a) Diplotene. La cabeza de flecha hueca señala el neoX. La flecha señala al neoY, notoriamente más chico y heteropicnótico. b) Diacinesis. El cromosoma B (cabeza de flecha) se encuentra asociado al bivalente neoX-neoY (cabeza de flecha hueca). El neoY (flecha) es heteropicnótico positivo, y la región antigua del neoX es heteropicnótica negativa. c) Prometáfase I. El neoX (región "paleo-X") se encuentra asociada lado a lado con el B. d) Metafáfase I. EL neoX-neoY se coorienta normalmente (cabeza de flecha hueca). El B migra indiviso hacia uno de los polos.