

CROMOSOMAS B MITOTICAMENTE INESTABLES EN EL
SALTAMONTES SPHINGONOTUS HAITIENSIS SAUS.
(ORTHOPTERA: ACRIDIDAE)

DANIEL E. PEREZ G.*

Resumen

Se realizó un estudio citogenético de la espermatogénesis en dos poblaciones dominicanas del saltamontes *Sphingonotus haitiensis* Sauss. Esto reveló la existencia de individuos portadores de cromosomas B (B's) mitóticamente inestables, adicionales al cariotipo normal de la especie ($2n = 22 + XO$ cromosomas acrocéntricos).

Estos B's se muestran heterocromáticos durante la profase I, son de tamaño pequeño y acrocéntricos. Su inestabilidad mitótica da lugar a una variación numérica de 0 - 4 B's por núcleo entre diferentes folículos, variando también en ocasiones su número intrafolicularmente.

Los posibles efectos de esta heterocromatina extra sobre la frecuencia quiasmática y la producción de espermatidas anormales en los individuos portadores, son examinados brevemente.

* Artículo basado en su tesis de licenciatura en Biología, en la Universidad Autónoma de Santo Domingo. Actualmente en la Escuela de Graduados, Departamento de Biología, Universidad de Rochester, E.U.A.

Introducción

Los cromosomas B o supernumerarios con su carga extra de heterocromatina son una de las causas más frecuentes de variación cariotípica entre los insectos ortopteroideos (Viseras & Camacho, 1985; Suja et al., 1986).

Estos son elementos accesorios al cariotipo normal y no homólogos del complemento regular, que pueden presentarse en algunos individuos de ciertas especies (White, 1973). Además, parecen ser genéticamente inactivos, por lo que generalmente no afectan el fenotipo ni la adaptabilidad de los individuos que los poseen.

La mayoría de los B's en plantas y animales son mitóticamente estables (Jones, 1975). Una minoría de especies posee cromosomas B mitóticamente inestables, los cuales varían en número entre las células de un mismo individuo. Esto provocado por eventos de no disyunción en la línea germinal (Nur, 1963).

La posible inclusión de los cromosomas B como elementos genéticos "egoístas", que procuraran únicamente su permanencia en el genoma, ha motivado en los últimos años un renovado interés por comprender su significado biológico (Ver Ruiz-Rejón et al., 1987).

El propósito del presente trabajo es reportar el hallazgo de cromosomas B mitóticamente inestables en el saltamontes *Sphingonotus haitiensis* Sauss. Se describen sus características generales en dos poblaciones naturales de esta especie y se discuten algunos aspectos sobre su efecto en la meiosis de los individuos portadores.

Materiales y métodos

El *S. haitiensis* es un saltamontes oedipodino de 2-3 cm, color gris marrón con bandas transversales oscuras sobre todo el cuerpo y alas membranosas azuladas. Habita pedregales secos de ríos y playas arenosas, así como los espacios desprovistos de vegetación de las zonas secas del suroeste y noroeste de la República Dominicana.

Para este estudio, se colectaron 40 machos adultos en dos poblaciones naturales de este acridido, localizadas en Playa Palenque y San Cristóbal, provincia San Cristóbal durante mayo y junio de 1987.

Los testículos de cada macho fueron extraídos y fijados individualmente en una mezcla de Etanol: Acido Acético Glacial (3:1), realizando un cambio a las 24 horas y preservando este material en la nevera en el mismo fijador.

Las preparaciones citológicas se hicieron aplastando por lo menos 3 folículos seminíferos por preparación, los cuales habían sido previamente clarificados con unas gotas de Acido Acético 45% y teñidos con Orceína Lactopropiónica 2%.

Para determinar las frecuencias quiasmáticas medias en cada población, se contabilizaron los quiasmas en 10 núcleos diplotémicos por individuo.

Resultados

Ambas poblaciones estudiadas representaron mayormente individuos con un cariotipo normal ($2n = 22 + XO$ cromosomas acrocéntricos), que puede subdividirse en 2 pares grandes, 6 pares medianos, 3 pares pequeños y un cromosoma sexual que es el más largo del cariotipo.

Adicionalmente se encontraron machos portadores de cromosomas B y/o segmentos de heterocromatina supernumeraria (Tabla 1).

Tabla 1
Composición de las poblaciones de *Sphingonotus haitiensis*
por tipos cromosómicos de individuos

Población	Número y Tipos de macho				Total
	Básicos	Supernum.	Segmentos	Supernum. y segmentos	
Palenque	17	2	1	--	20
(PAC)	85%	10%	5%	--	100%
S.Cristóbal	11	7	1	1	20
(SCC)	55%	35%	5%	5%	100%

Características Meióticas de los B's

Los cromosomas B encontrados en *Sph. haitiensis* aparecen en número variable de 0 - 4 en los núcleos meióticos, pudiendo su número variar ocasionalmente dentro de un mismo folículo. Presentan heteropicnosis positiva durante la profase I, siendo así fácilmente distinguibles de los bivalentes autosómicos (Figura 1).

Estos B's son generalmente más pequeños que el menor de los autosomas y son acrocéntricos (Figura 2). Sólo en dos individuos (uno de cada población se encontró un supernumerario mayor que los demás, aproximadamente de tamaño mediano).

Frecuentemente se observaron núcleos diplotémicos y metafases I donde los B's se asociaban distalmente a un autosoma mediano o al X, pero esta asociación no quiasmática desaparecía posteriormente y no parecía afectar el

comportamiento meiótico de los B's. En los núcleos donde había más de un B, en ningún caso estos se observaron formando bivalentes o multivalentes, sino que cada uno se mantenía independientemente.

Las frecuencias quiasmáticas medias en ambas poblaciones fueron semejantes, con 17.90 ± 0.45 en Playa Palenque. Un análisis comparativo de las frecuencias quiasmáticas medias de individuos básicos y portadores de B's fue realizado, esto con la idea de detectar cualquier posible influencia de los supernumerarios a este respecto. En la población de San Cristóbal, los portadores tuvieron una frecuencia quiasmática de 18.14 ± 0.90 , mientras en los básicos fue de 17.73 ± 0.73 , con una diferencia estadísticamente no significativa ($t = 1.0256$, $df = 18$, $P0.05$). Por el contrario en Playa Palenque los portadores tuvieron una frecuencia quiasmática de 17.70 ± 0.00 , mientras en los básicos fue de 18.41 ± 0.67 , presentando una diferencia estadísticamente significativa ($t = 4.6666$, $df = 18$, $P 0.05$), pero son los básicos quienes presentaron un valor más alto.

Espermátidas Anormales

En la población de Playa Palenque los individuos portadores de B's (2, 10% presentaron pocas espermátidas anormales (macroespermátidas), contrastando con el hecho de que en todos los portadores de San Cristóbal (8, 40%) pudo detectarse una obvia elevación del número de macroespermátidas con diferentes niveles de ploidía.

La observación de puentes intercitoplasmáticos entre espermátidas anormales, demuestra que estas macroespermátidas se producen por influencia de los B's mediante fusión por fallas en la fragmentación del sincito que las agrupa antes de la espermiogénesis.

Segmentos Heterocromáticos Extra

Junto a los individuos con supernumerarios, también se encontraron individuos portadores de segmentos distales de heterocromatina extra sobre uno de los autosomas medianos, tanto en estado heterocigótico como doble homocigótico.

Estos aparecían siempre homogéneos, siendo claramente observables desde paquitenc temprano. Característicamente presentan una aloclia igual al cromosoma sexual, siendo heteropicnóticos positivos durante la profase I, para luego pasar a una heteropicnosis negativa en metafase I. En estado heterocigótico este segmento da lugar a una bivalente desigual.



Figura 1: Núcleo diploténico del saltamontes *Sphingonotus haitiensis* mostrando un cromosoma B (flecha). El B aparece heterocromático al igual que el sexual. Los bivalentes autosómicos se observan eucromáticos y con quiasmas bien visibles. X1000 (Barra = 5 μ m).

Figura 2: Núcleo en metafase I con 3 B's (flechas). En esta etapa no se distinguen de los autosomas por su picnosis. X1000.

Discusión

Los estudios de los polimorfismos para cromosomas B en las poblaciones constituyen una importante aproximación para llegar a comprender los mecanismos evolutivos a nivel cromosómico.

Hasta la fecha, menos de 25 especies de saltamontes con cromosomas B mitóticamente inestables, han sido reportadas (Hewitt, 1979; López-Fernández & Gosálvez, 1983). En *S. haitiensis* la variación intraindividual de B's no se limita a los diferentes folículos testiculares, sino que también ocurre intrafolicularmente. Como ha sido comprobado en casos similares (Nur, 1969, 1973; Stephen & Bregman, 1972), la permanencia de este tipo de B's en las poblaciones, debe estar sostenida por un mecanismo acumulativo que incrementa sus posibilidades de transmitirse a las generaciones siguientes.

Entre los variables efectos cuantitativos que puede provocar a nivel celular la presencia de cromosomas B en el genoma, es de mayor importancia su frecuente influencia variando el número y localización de los quiasmas en los núcleos meióticos (De la Torre et al., 1986). En las pocas especies con B's inestables en que se ha estudiado su posible efecto (citadas por Cabrero et al., 1984), estos no afectan la frecuencia de quiasmas. Aunque los resultados ob-

tenidos aquí no son concluyentes, estos sugieren igualmente que los B's presentes en *S. haitiensis* no influyen la frecuencia quiasmática.

Altas tasas de espermatidas anormales debidas a la influencia de los B's, han sido reportadas en distintas especies de saltamontes acrididos (Gosálvez et al., 1985; Suja et al., 1986, 1987). Estas pueden presentarse en forma de macro o de microespermatidas. En *S. haitiensis* sólo se encuentran macroespermatidas producidas mediante fusión. En este caso, se desconoce como los B's promueven estas fusiones. Este es un fenómeno muy importante, pues presumiblemente disminuye la capacidad productiva de estos individuos y puede constituir un mecanismo de eliminación de B's que contrarrestaría el posible efecto de acumulación (Nur, 1963). Cromosomas "egoístas".

A pesar del rechazo inicial de las ideas que señalaban un carácter "parasítico" o "egoísta" para los cromosomas B, las evidencias a favor de este concepto, han seguido acumulándose. El caso más reciente e impresionante, es el cromosoma B que afecta algunos individuos en las poblaciones de la avispa parasita *Nasonia vitripennis*. Este cromosoma B de forma aún no aclarada, elimina los cromosomas paternos poco después de la fecundación del oocito, mientras él se transmite siempre (Nur et al., 1988). Por esto, ha sido catalogado como el elemento genético más "egoísta" o "parasítico" que se ha encontrado.

Este DNA sin funciones específicas se mantendría en el genoma a pesar de las restricciones, pudiendo eventualmente adquirir significación funcional (Orgel & Crick, 1980; Doolittle & Sapienza, 1980; Schweizer et al., 1987). De este modo, se piensa que los cromosomas B formarían modelos accesibles para el estudio del llamado DNA "egoísta" (Shaw, 1984).

Segmentos extra

Los segmentos heterocromáticos extra también son frecuentes entre los Ortópteros. Muchas evidencias indican que estos se relacionan directamente con los B's. De acuerdo a Hewitt (1973a, 1973b), estos segmentos representarían B's que en su evolución se reintegran al genoma autosómico, constituyendo así reservorios de variabilidad genética. Este concepto parece ser reconciliable con la hipótesis del DNA "egoísta". Indudablemente ante estos enigmáticos polimorfismos, ambos presentes en *S. haitiensis*, se abren múltiples posibilidades con implicaciones de mayor importancia.

LITERATURA CITADA

- Cabrero, J., Viseras, E. & J. P. M. Camacho. 1984. The B-chromosomes of *Locusta migratoria*. 1. Detection of negative correlation between mean chiasma frequency and the rate of accumulation of the B's: a reanalysis of the available data about the transmission of these B-chromosomes. *Genetica* 64: 155-164.

- De la Torre, J., López-Fernández, C., Nichols, R., and J. Gosálvez. 1986. Heterochromatin readjusting chiasma distribution in two species of the genus *Arcyptera*: The effect among individuals and populations. *Heredity* 56: 177-184.
- Doolittle, W. F. and Sapienza. 1980. Selfish genes, the phenotype paradigm and genome evolution. *Nature* 284: 601-603.
- Gosálvez, J., García de la Vega, C., Rufas, J. S. and C. López-Fernández. 1985. Unstable B-chromosomes producing abnormal spermatid nuclei in *Sphingonotus coeruleans* (Orthoptera). *Arch. Biol. (Bruxelles)* 96: 15-22.
- Hewitt, G. M. 1973a. The integration of supernumerary chromosomes into the Orthopteran genome. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 38: 183-194.
- , 1973b. Evolution and maintenance of B chromosomes. *Chromosomes Today* 4: 351-369.
- , 1979. *Animal Cytogenetics*, 3. Insecta 1. Orthoptera. Gebruder Borntraeger, Berlin-Stuttgart.
- Jones, R. N. 1975. B. chromosome systems in flowering plants and animal species. *Int. Rev. Cytol* 40: 1-100.
- López-Fernández, C. and J. Gosálvez. 1983. The chromosome system in three species of the genus *Arcyptera*. II. Unstable B-chromosomes in *A. fusca* (Pall.). *Genética* 62: 41-46.
- Nur, Uzi. 1963. A mitotically unstable supernumerary chromosome with an accumulation mechanism in a grasshopper. *Chromosoma (Berl.)* 14: 407-422.
- , 1969. Mitotic instability leading to an accumulation of B-chromosomes in grasshoppers. *Chromosoma (Berl.)* 27: 1-19.
- , and Z. Lucov. 1973. Accumulation of B-chromosomes by preferential segregation in females of the grasshopper *Melanoplus femur-rubrum*. *Chromosoma (Berl.)* 42: 289-306.
- , Werren, John H., Eickbush, D. G., Burke, W. and T. H. Eickbush. 1988. A "selfish" B chromosome that enhances its transmission by eliminating the paternal genome. *Science* 240: 512-514.
- Orgel, L. E. and F. H. C. Crick. 1980. Selfish DNA: The ultimate parasite. *Nature* 284: 604-607.
- Ruiz-Rejón, M., Ruiz-Rejón, C. y José L. Oliver. 1987. Evolución de los Cromosomas B. *Investigación y Ciencia* No. 133, Octubre, 92-101.

- Schweizer, D., Loidl, L. and B. Hamilton. 1987. Heterochromatin and the phenomenon of chromosome banding. Results and Problems in Cell Differentiation 14. In **Structure and Function of Eukaryotic Chromosomes** (Edited by W. Hennig). Springer-Verlag, Berlin. 235-254.
- Shaw, M. W. 1984. The population genetics of the B-chromosome polymorphism of *Myrmeleotettix maculatus* (Orthoptera: Acrididae). *Biol. J. Linn. Soc.* 23: 77-100.
- Stephens, R. T. and A. A. Bregman. 1972. The B-chromosome system of the grasshopper *Melanoplus femur-rubru*. *Chromosoma* (Berl.) 38: 297-311.
- Suja, J. A., Gosálvez, J., López-Fernández, C. and J. S. Rufas. 1986. A cytogenetic analysis in *Psophus stridulus* (L.) (Orthoptera: Acrididae): B-chromosomes and abnormal spermatid nuclei. *Genetica* 70: 217-224.
- , García de la Vega, C. and J. S. Rufas. 1987. Meiotic stability of B-chromosomes and the production of macrospermatids in *Aiolopus strepens* (Orthoptera: Acrididae). *Genome* 29: 5-10.
- Viseras, E. and J. P. M. Camacho. 1985.. The B chromosome system of *Omocestus bolivari*: Changes in B-behaviour in M4-plysomic B-males. *Heredity* 54: 385-390.
- White, M. J. D. 1973. **Animal Cytology and Evolution**. 3rd Edition, Cambridge University Press, London.

BIBLIOGRAFIA

- Miranda, Rafael A. **Historia de la Medicina**. Ciudad Trujillo. 1960.
- Jonsen, Sebert R. **La Etica en la Práctica de la Medicina**. **Medicina Interna**. Cecil Loeb. 10a. edición.
- Lugo, Elena. **Etica Médica**. Puerto Rico.
- Rahner, Aver, Bockle y Congar. **Etica y Medicina**. Ediciones Guadarrama. Madrid, 1972.