

8
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"

CARACTERIZACION CITOGENETICA DE *Conocephalus ictus* (Orthoptera: Tettigoniidae: Conocephalinae)

T E S I S

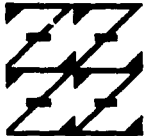
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

MARIO CORTES RAMIREZ

DIRECTORA: ROSALIA TORRES BEZAURY
ASESOR: CARLOS BAUTISTA REYES



LO HUBIERO EJE
DE NUESTRA REFLEXION

MEXICO, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1994



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedico esta tesis con todo mi amor

A mis padres : quienes me obsequiaron el mayor de los tesoros * educación*

Gracias

A mis hijos : Uri, Ugo, y Dea, porque este logro es realmente para ustedes

¡Me hacen muy feliz!

A mi esposa : "Pelusita" No puedo expresarte en este espacio todo lo que significas para mi, a partir de ti, la loza ancestral que arrastro se ha ido desapareciendo y mi visión de la vida a cambiado, gracias por estar junto a mi.

Te amo

*Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Genética
"Antonio Hernández Corzo" del Departamento de
Zoología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas,
bajo la dirección de la Biol. Rosalía Torres Bezaury*

AGRADECIMIENTOS

Quiero manifestar mi más profundo agradecimiento a quienes de alguna manera intervinieron en el desarrollo del presente trabajo, resaltando que la conclusión del mismo no se hubiera logrado de no haber contado con su apoyo.

A mi directora de tesis, Biol. Rosalía Torres Bezaury, quien me brindó la oportunidad de trabajar bajo su acertada dirección por su paciencia, y sobre todo, su apoyo que fue mucho más allá de lo profesional en los momentos difíciles.

Al M. en C. Carlos Bautista por haber aceptado participar en la asesoría del presente trabajo con sus atinados comentarios, valiosas aportaciones y sus palabras de estímulo.

Así mismo quiero externar mi gratitud a la M. en C. Mifagos Gómez Nieto por todo el tiempo que dedicó a la revisión crítica del manuscrito, por sus importantes sugerencias y consejos en el mejoramiento de la presente tesis.

Al M. en C. Enrique Mariño por su apoyo en la determinación taxonómica del organismo estudiado.

Al M. en C. Hugo Fernandez Aguila, quien con sus valiosas críticas para el mejoramiento del trabajo e incondicional apoyo siempre estuvo presente.

A las autoridades de la Dirección General de Epidemiología, en especial a la Lic. Patricia Cravioto, al Dr. Arturo Revuelta, y al Ing. César Marín por todo el apoyo técnico que me brindaron, facilitándome los recursos materiales necesarios para la realización de este trabajo, así como sus palabras de estímulo.

CONTENIDO

RESUMEN

INTRODUCCION

ANTECEDENTES

MATERIAL Y METODOS

I. COLECTA Y FIJACION DEL MATERIAL

II. DISECCION DE LOS EJEMPLARES

III. OBTENCION DE LAS PREPARACIONES

IV. MONTAJE PERMANENTE

RESULTADOS

1.- DESCRIPCION DE LA MEIOSIS

2.- DESCRIPCION DE LA MITOSIS ESPERMATOGONIAL

3.- ELABORACION DEL IDIOGRAMA

DISCUSION Y CONCLUSIONES

ANEXO DE FIGURAS

BIBLIOGRAFIA

RESUMEN.

Los trabajos citogenéticos y más específicamente los citotaxonomicos tienen como finalidad dilucidar las relaciones inter e intraespecificas, asi como las relaciones filogenéticas tanto de aspectos taxonómicos como evolutivos.

Para el estudio cromosómico de la especie Conocephalus ictus se utilizaron ejemplares colectados entre los meses de Agosto y Septiembre de 1987 en los alrededores del centro vacacional del I.M.S.S. en Oaxtepec, estado de Morelos.

Los machos se fijaron antes de su disección en liquido de Farmer y después se transfirieron a una mezcla de alcohol de 70 %. en donde permanecieron hasta su disección. Para el estudio cromosómico se obtuvieron las masas testiculares de los machos adultos y se les aplicó la técnica de macerado y prensado o "squash" en carmín acético, propuesta por Belling. Para obtener preparaciones fijadas se aplicó la técnica de Burnham .

Del estudio cromosómico se puede concluir que el C. ictus tiene cromosomas telocéntricos. Las dos divisiones, meiosis y mitosis transcurren de forma normal; en las espermatogoniales, el número cromosómico es de 33 cromosomas en los machos ($2n=34$ en las hembras), la fórmula cromosómica gamética es de 16 pares de autosomas, más el cromosoma sexual X, el mecanismo de determinación sexual es XO en los machos y se infiere que es XX para las hembras.

Para los datos obtenidos de las figuras somáticas se elaboró el idiograma para la especie de Conocephalus ictus.

INTRODUCCION:

Desde hace mucho tiempo el hombre ha sentido la necesidad de conocer los fenómenos, los organismos y los demás elementos que le rodean con el fin de ordenarlos y ubicarlos en un contexto, para así, aprovecharlos e influir de alguna manera en su desarrollo.

En esta búsqueda de conocimientos se hizo evidente la gran diversidad de caracteres de los seres vivos, como: tamaño, forma, color, fisiología, etc., así como la necesidad de ordenarlos para su estudio, con lo que surgió la alternativa de la Sistemática para la organización de estos conocimientos.

La sistematización de los seres vivos pasó por diversas etapas, desde los intentos empíricos de los griegos hasta la obra *Systema Nature* de Karl Von Linné del siglo XVIII en la que estableció las bases de la clasificación y nomenclatura modernas (Miel, 1951).

Este sistema de clasificación puso en evidencia cómo algunas especies se parecen mucho a otras y ciertos grupos muestran estructuras tan comunes entre sí, que aparentan un tipo de semejanza familiar; la funcionalidad del sistema se basa en un arreglo jerárquico de los grupos, que reúne a las especies en géneros, a los géneros en familias, a las familias en órdenes, a los órdenes en clases etc. y por último constituye al reino como nivel máximo de jerarquía.

Hasta hace poco tiempo la comparación entre poblaciones diferentes (razas o especies), sólo era posible hacerla en términos de caracteres morfológicos y fisiológicos de los taxa, por lo que la taxonomía tradicional basada en caracteres estructurales, ha conducido a que la mayoría de las especies de plantas y animales descritas actualmente, se puedan considerar únicamente como morfoespecies. En los últimos años dicha taxonomía tradicional se ha acompañado de técnicas sofisticadas, como es el análisis multivariado de caracteres estructurales, pero es evidente que ni así se logran eliminar las limitaciones básicas de comparar sólo datos o caracteres morfológicos (White, 1978).

En la actualidad la investigación taxonómica se realiza en varios niveles, Mayr (1969) y White (1970), proponen los niveles Alfa, Beta, y Gamma, que se definen de la siguiente manera:

Alfa, es la descripción de nuevas especies de acuerdo con sus caracteres morfológicos y su clasificación en géneros adecuados. Beta, es el análisis de una determinada especie, tomando en cuenta sus relaciones con especies emparentadas, el nivel Gamma estudia las causas de la variación intraespecífica y de la diversidad orgánica.

Ambos autores opinan que en grupos donde hay abundancia de especies hermanas y complejos de especies (en insectos por ejemplo), los niveles Beta y Gamma son los que aportan mejores pruebas para tomar decisiones. De acuerdo con esto, en los estudios cromosómicos se pueden utilizar el número y la morfología de los cromosomas como cualquier otra estructura morfológica para identificar una especie, o bien, en ciertos casos, estudiar

los arreglos cromosómicos que pueden generar adaptación y especiación.

Las investigaciones citogenéticas llevadas a cabo en este siglo, demuestran que los cromosomas contribuyen a los cambios evolutivos de los organismos que pueden seguir líneas filogenéticas independientes, lo que en poblaciones naturales puede ocurrir espontáneamente (White, 1969). Los rearrreglos cromosómicos de toda índole, pudieron ser de gran importancia en la promoción de la diversificación y evolución de las especies (Dobzhansky et. al. 1980). Algunos autores lo han confirmado en diferentes organismos, y concluyen que los cromosomas al reorganizar y diversificar el cariotipo, dan lugar a evolución si surgen ciertos cambios que resulten en características favorables para los individuos; es importante enfatizar que los cambios cariotípicos pueden resultar en alteraciones de las características fenotípicas de un organismo.

Es aún discutible si los cambios cromosómicos provocan directamente evolución o especiación -los únicos tipos de cambios que no están en tela de juicio al respecto, son las poliploidías- pero, de acuerdo con White (1969), existen dos causas que llevan a concluir que probablemente la evolución es un proceso citogenético: por una parte el polimorfismo cromosómico presente en los taxa mayores, que además poseen distintos tipos de sistemas genéticos que los diferencian, cuya expresión es el número, tamaño y configuración de los cromosomas característico de cada taxón y diferente para cada población. Como segunda causa, considera que el polimorfismo da origen a las diferencias citotaxonómicas a través de los rearrreglos cromosómicos; los cuales se entienden como procesos que

originan nuevos cromosomas, ya que éstos surgen del rompimiento y la reunión del material cromosómico ya existente.

Los estudios citogenéticos a nivel práctico, tienen aplicación agrícola, ganadera, forestal, médica, etc. son además, de particular interés para taxónomos, ecólogos, evolucionistas, y genetistas. No obstante, los datos cromosómicos no son muy abundantes; el número de especies animales estudiadas es muy escaso y, aunque los datos sobre insectos son los más abundantes, hay muchas familias en que sólo se han estudiado unos cuantos representantes .

Dentro de los insectos, el Orden más estudiado es el de los ortópteros, que proporcionan material valioso, ya que hay cierta facilidad para las disecciones, tienen un número cromosómico relativamente pequeño, y los cromosomas son grandes, por lo que resulta fácil trabajarlos para la observación de la estructura y comportamiento cromosómicos, tanto de autosomas como de cromosomas sexuales.

ANTECEDENTES

El orden Orthoptera es numeroso y se encuentra distribuido en todo el mundo, tiene más de 20,000 especies, se divide en tres subordenes: Grylloblatinea, Ensifera y Caelifera, que a su vez se dividen en cerca de 27 familias. La característica más obvia del orden, es su habilidad para saltar, de ahí el nombre de «saltatoria», el cual fue aplicado en algunos tiempos a este grupo para distinguirlo de taxas relacionados tales como Plasmoidea, Mantoidea y Blastoidea. Muchos ortópteros son también notorios por su habilidad para producir sonidos (estridular), frotando algunas partes de su cuerpo, otras características que distinguen al Orden son:

- Ojos compuestos y bien desarrollados.
- Antenas filiformes, que pueden ser cortas o largas (incluso mayores que el cuerpo).
- Abdomen, con 9 o 10 uritos bien definidos, ciertas especies presentan en las hembras el ovipositor largo como una lanza o en forma de sable.
- Organos reproductores característicos de los insectos. El sistema reproductor masculino está compuesto por un par de testículos que desembocan a dos conductos laterales que se reúnen para terminar en un pene que se localiza en la parte ventral y se relaciona con el octavo

segmento abdominal (fig. 1), cada testículo contiene dos tubos espermáticos con espermatoцитos en diversos grados de desarrollo. (Burseil, 1974).

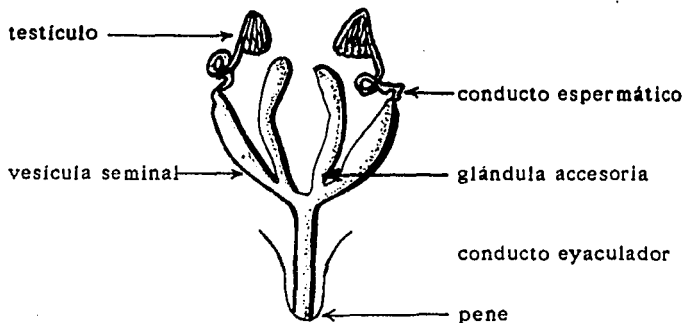


FIGURA 1. SISTEMA REPRODUCTOR MASCULINO
(según Snodgrass)

Otros aspectos que han hecho de éste Orden uno de los grupos más estudiados dentro de la clase Insecta, es su estabilidad citotaxonomica, ya que la mayoría de especies que componen este Orden y más específicamente en la familia Tettigonioides tienen un número cromosómico que varía de 16 que es el número más bajo encontrado, hasta 33, 31 y 29 que son los más comunes, generalmente acrocéntricos, y el cromosoma X es de mayor tamaño que los autosomas con un mecanismo de determinación sexual de XO en machos y XX en hembras, sin excluir que en algunos ejemplares se

ha encontrado un sistema de determinación sexual $neoXY$ en los machos y $neoXX$ en las hembras (Hewitt, 1979).

Los extensos trabajos citogenéticos sobre poblaciones naturales del orden Orthoptera, han provisto de muchos ejemplos de variación cromosómica dentro y entre las especies. Los tipos mayores de variantes cromosómicas que se han presentado son: inversiones, translocaciones, fusiones y fisiones céntricas, rearrreglos cromosómicos sexuales y segmentos supernumerarios.

En términos generales cuando una alteración cromosómica ocurre puede seguir uno de tres cursos:

- a) Se presenta con una baja frecuencia y desaparece de la población.
- b) Se difunde y reemplaza al cariotipo original de esa población y subsecuentemente, en algunos casos, la de la especie.
- c) Forma un polimorfismo, donde los cromosomas originales y los mutantes establecen un estado de equilibrio dentro del cual ambos tipos permanecen en la población.

Ninguna de estas tres categorías es absoluta. El equilibrio polimórfico puede ser destruido si las condiciones cambian y la mutación es, por supuesto, un fenómeno recurrente. Aun así, la pérdida o fijación de estos rearrreglos se espera sean más definitivos que el polimorfismo (Hewitt, 1979)

Los estudios citogenéticos de las especies de este orden, datan de principios de siglo, cuando Mc Clung (1905) realizó un estudio cromosómico de

espermatocitos de ortópteros; y en 1914 estudió la cariología en la espermatogénesis de diversos ortópteros, observándose desde entonces que los números cromosómicos mayores más comunes para este Orden en ejemplares machos son $2N= 33$, 31 , y 29 , y el número menor $2N= 16$. Ferreira (1969), utilizó ejemplares australianos y fue uno de los primeros en plantear un nuevo mecanismo de determinación sexual para este grupo. Mesa (1956), (1970), investiga acerca de los cromosomas en diversos géneros de ortópteros y en 1970 hizo una recopilación de este tipo de estudios para integrantes del orden, Bullini y Bullini (1972), presentaron un extenso trabajo de cariología en relación con la sistemática entomológica, con especial referencia a la familia Tettigonioidea. Dentro de los conocephalinos el número cromosómico mayor más común es 33 lo que hace cuestionable lo reportado por Chén (1933), que reportó un número de $2N= 35$; éstos sólo son algunos ejemplos de la enorme lista de estudios cromosómicos en ortópteros.

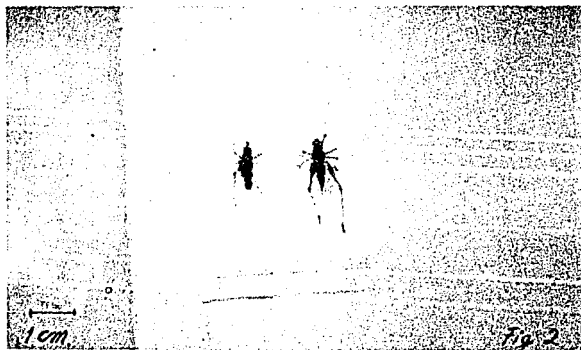
Durante los últimos años, en el Laboratorio de Genética «Antonio Hernández Corzo» del Departamento de Zoología, de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del I.P.N., las investigadoras Torres Bezaury y Gómez Nieto han desarrollado un proyecto de cariología de insectos cuyo objetivo es aportar datos sobre ortópteros mexicanos, con el propósito de contribuir al acoplo de datos de esta naturaleza, a la postre, un mejor esquema de la evolución cromosómica que apoye el esclarecimiento de la filogenia y la taxonomía de este grupo de insectos.

Objetivo General

Obtener la caracterización citogenética de Conocephalus ictus (fig. 2) ortóptero tettigonido de la subfamilia Conocephalinae.

Objetivos específicos:

- a) Contribuir al conocimiento del número y la morfología cromosómica de esta especie
- b) Conocer los patrones de la conducta cromosómica durante el ciclo meiótico, para saber si son los usuales o presentan particularidades que pudieran resultar de interés.
- c) Determinar el mecanismo cromosómico de determinación sexual para esta especie.



Conocephalus ictus
(Orthoptera: Tettigoniodea: Conocephalinae)

MATERIAL Y METODOS.

I. COLECTA Y FIJACION DEL MATERIAL.

De acuerdo con los lineamientos del proyecto cariológico, la zona de colecta comprende diferentes localidades del Estado de Morelos: Yautepec, Oaxtepec y Cocoyoc (fig. 3), en las cuales se han llevado a cabo colectas de ortópteros; los organismos colectados se determinaron taxonómicamente, y se estudiaron desde un punto de vista citogenético, aportando datos para ayudar a comprender las relaciones intra e interespecificas, así como las tendencias filogenéticas que pudieran tener proyección en aspectos taxonómicos y evolutivos de los ortópteros. Uno de estos organismos, del cual no se tienen antecedentes de estudios cromosómicos y que tiene una amplia distribución en dicha zona es Conocephalus ictus; es por ello que se considera importante realizar un estudio citogenético, con el fin de aportar datos necesarios como complemento al proyecto global.

Ya que los registros que se tienen de Conocephalus ictus, indican que se encuentra distribuido con mayor abundancia en los alrededores de Oaxtepec, las colectas se llevaron a cabo principalmente en los pastizales aledaños al centro vacacional perteneciente al I.M.S.S. durante los meses de julio a septiembre de 1987.

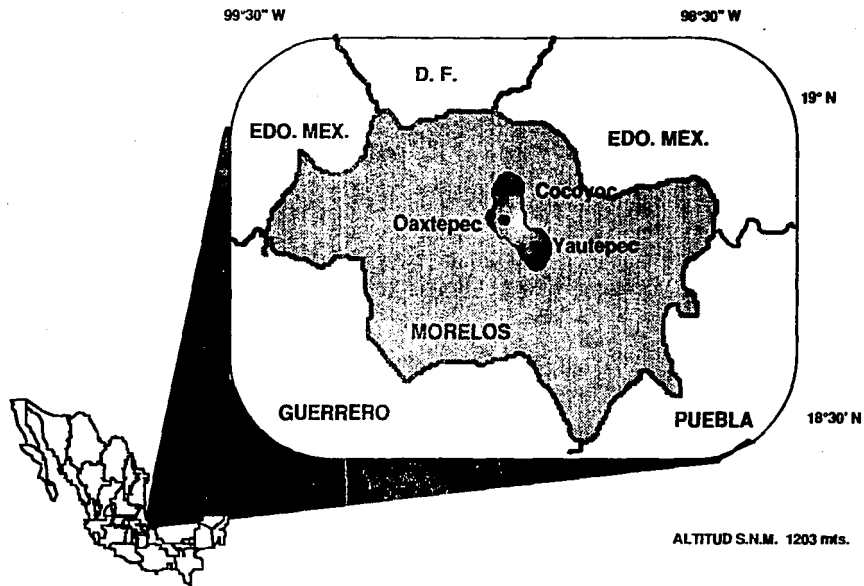


Figura 3 : LOCALIZACION DE LA ZONA DE COLECTA

Las zonas de colecta se abarcaron mediante recorridos verticales paralelos. Para capturar los insectos se utilizaron redes entomológicas de diferentes diámetros; los ejemplares se transportaron vivos al laboratorio en cajas de acrílico.

Durante las colectas se logró capturar un total de 64 organismos, de los cuales 6 ejemplares (3 machos y 3 hembras), se utilizaron para la determinación taxonómica que se llevó a cabo en el Instituto de Biología de la U.N.A.M., bajo la responsabilidad del M. en C. Enrique Mariño. A 48 se les hicieron estudios citogenéticos, el resto de los organismos murió antes de ser fijado, por lo que se desechó.

Una vez en el laboratorio los organismos se fijaron en líquido de Farmer (etanol absoluto y ácido acético glacial 3 : 1) durante 24 hrs.; después de este tiempo se cambiaron a una solución de alcohol etílico al 70 % hasta que se disectaron.

II. DISECCION DE LOS EJEMPLARES.

Para analizar la morfología, número y comportamiento cromosómicos de los organismos, se requirió de células meióticas provenientes de las gónadas de los machos.

Para hacer el estudio meiótico de Conocephalus ictus, los organismos se disectaron con el fin de obtener los órganos reproductores.

Obtención de los tejidos.

Se hizo un corte longitudinal en la parte posterior del abdomen, abarcando

aproximadamente los últimos 5 segmentos o uritos, es decir, las zonas genital y postgenital del abdomen (Coronado, 1985). Se separaron con agujas de disección ambos lados del corte, para facilitar la identificación de los testículos (fig. 4). Las gónadas, se extrajeron y se colocaron, sobre un portaobjetos excavado, con unas gotas de ácido acético al 30 % con el fin de mantener la humedad o evitar la deshidratación del tejido.

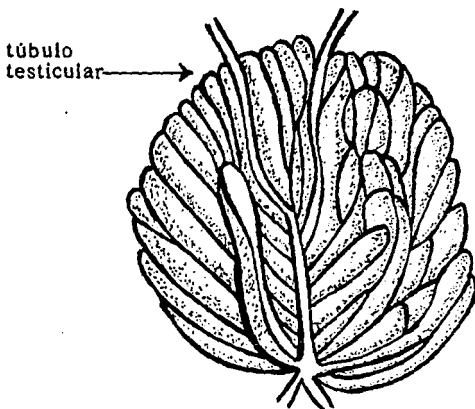


FIGURA 4. TESTICULO (según Snodgrass)

III. OBTENCION DE LAS PREPARACIONES.

A los túbulos testiculares se les aplicó la técnica de macerado y prensado o «squash» en carmín acético, original de Schneider, con las modificaciones de Belling (1926). Se tomaron de dos a tres túbulos testiculares, y se colocaron sobre un portaobjetos limpio con una gota de ácido acético al

30 %, se maceró homogéneamente con una barra de vidrio y se retiraron los restos de mayor tamaño. Al macerado se le adicionó una gota de carmín acético. Una vez teñido se le colocó un portaobjetos limpio, se invirtió la preparación sobre un papel filtro, se cubrió también con papel filtro y se presionó el centro de la preparación con la yema del dedo pulgar de manera firme y uniforme con el fin de lograr la separación entre las células y los cromosomas contenidos en estas, para facilitar la observación microscópica. Las preparaciones se revisaron en un microscopio de contraste de fases, para buscar y seleccionar figuras representativas para el estudio cromosómico. Las preparaciones que contenían figuras de interés se colocaron dentro de una cámara húmeda (una caja de Petri con el fondo cubierto de papel filtro humedecido con ácido acético al 30 %), y se mantuvieron en ella hasta que se hicieron permanentes.

IV MONTAJE PERMANENTE.

El montaje permanente se llevó a cabo mediante la técnica propuesta por Burnham (1951).

La preparación se sumergió dentro en un frasco de Coplin con una mezcla de alcohol etílico absoluto y ácido acético glacial (1:1 v/v), y se mantuvo dentro hasta que el cubreobjetos se desprendiera del portaobjetos. Una vez separados, ambos se pasaron, con la ayuda de pinzas a otros dos frascos de Coplin, cuyo contenido fue una mezcla de alcohol y ácido acético, pero en diferentes proporciones (3:1, 9:1) y por último se pasaron a un frasco con alcohol etílico absoluto para concluir la deshidratación; el tiempo de

permanencia en cada uno de los tres frascos fue de 30 segundos. Al sacar la preparación del cuarto frasco, el cubreobjetos se colocó en un portaobjetos limpio, con una gota de bálsamo del Canadá, se invirtió la preparación sobre un papel filtro humedecido con Xilol para quitar el exceso de bálsamo. Al portaobjetos se le puso también una gota de bálsamo y se repitió la misma operación; por lo que se obtuvieron dos preparaciones permanentes de cada preparación temporal. Para evitar la rehidratación debido a la humedad ambiental, esta técnica se desarrolló cerca de mecheros encendidos.

Las preparaciones obtenidas se colocaron en una estufa a una temperatura de 30° C. y se dejaron secar por varios días, para después limpiarlas y etiquetarlas debidamente.

Las preparaciones permanentes fueron revisadas en un microscopio de contraste de fases marca Carl Zeiss, utilizando objetivos de 10X, 40X, y 100X. Los mejores campos fueron fotografiados con un fotomicroscopio marca Reichert Jung, el revelado e impresión de la película obtenida se hicieron mediante las técnicas convencionales.

RESULTADOS.

1.-DESCRIPCION DE LA MEIOSIS.

En esta especie se encontró que la meiosis espermatogénica transcurre de manera normal, es decir, según lo descrito en la literatura.

Se observaron todas las fases de la primera y segunda divisiones meióticas, aunque las de la meiosis II fueron escasas y no muy claras, por lo que su descripción se realizó directamente de la observación microscópica por ello no se ilustran en el trabajo. A continuación se hace una descripción sucinta de cada una de las fases meióticas observadas.

PROFASE I. Es el estadio más abundante porque tiene mayor duración que las demás fases, cabe mencionar que por tratarse de un proceso continuo es difícil establecer los límites precisos de los cinco estadios de la primera Profase meiótica.

Leptoteno. Los cromosomas se encontraron muy desespiralizados, se observaron como filamentos simples, largos y delgados. fue evidente el cromosoma sexual X, que mostró alopiclia y heteropicnosis, muy condensado y teñido, en contraste con los autosomas.

Zigoteno. Puede observarse en la figura 5 la sinapsis o apareamiento de

los cromosomas homólogos, que permanecen como bivalentes hasta el inicio de la Anafase I, los filamentos se observan más cortos y gruesos por la espiralización que procede durante toda la Profase; el cromosoma X muestra características semejantes a las del Leptoteno, pero su condensación aumenta y es posible definir su condición telocéntrica o subtelocéntrica.

Paquiteno. Los bivalentes por el acortamiento de los homólogos, muestran más claramente su naturaleza doble, la figura 6, corresponde a un meiocito primario en Paquiteno, algunos de los pares cromosómicos se ven separados, sobre todo los pares más pequeños y en algunos se inicia la terminalización y separación de los homólogos; el cromosoma sexual se mantiene condensado y más teñido que los autosomas.

Diploteno. En la figura 7, se observan los bivalentes, que continúan condensándose, se pueden contar con mayor precisión. Los homólogos se separan en casi toda su longitud, sólo se mantienen unidos por los quiasmas que inician la terminalización, es decir, se recorren hacia los extremos cromosómicos. El número de quiasmas varía de acuerdo con la longitud de los cromosoma. En esta figura, se observan los pares de autosomas con uno, dos o tres quiasmas. El cromosoma X, univalente, conserva las características de los estadios anteriores. En el espermatocito primario de esta figura se cuentan 16 pares autosómicos, más el cromosoma sexual X.

Diacinesis. En la figura 8, es evidente que la terminalización de los homólogos continúa durante esta fase, de tal manera que los quiasmas en la mayoría de los pares alcanzan los extremos cromosómicos, lo que

permite que los bivalentes adopten configuraciones de anillo, de cruz o for men una barra cuando sólo existe un quiasma terminal. En la figura se observan claramente los 16 pares de homólogos, de los cuales 5 tienen forma de anillo, 2 de cruz y los restantes adoptan forma de barra; el cromosoma sexual se observa claramente univalente.

METAFASE I. Durante esta etapa los bivalentes llegaron al máximo grado de condensación y se ubicaron en el ecuador de la célula. La figura 9, muestra una metafase I en vista polar; en ella se aprecian 2 pares grandes, 4 medianos, y 10 pequeños. El cromosoma sexual monovalente se observa telocéntrico.

ANAFASE I. En la figura 10 se observa como los pares cromosómicos disyuntan y los monovalentes se dirigen a los polos opuestos del meiocito, el cromosoma X se dirige a uno de ellos sin que se separen las cromátidas, además, se observan 16 monovalentes en un polo y en el otro 16 autosomas más el cromosoma sexual X, éste de mayor tamaño que aquéllos. En la figura también es evidente que todos los cromosomas son telocéntricos o subtelocéntricos, puesto que ninguno tiene brazos cortos.

La segregación de los cromosomas en esta fase permitió corroborar que los machos de esta especie tienen un mecanismo cromosómico de determinación sexual XO.

TELOFASE I. Los monovalentes se congregan en los polos del meiocito primario para formar los núcleos interfásicos, antes del inicio de la

meiosis II. En la figura 11, se observa la agrupación de los monovalentes, las fibras del huso y el comienzo de la citocinesis que representa el fin de la primera división meiótica.

Como se mencionó anteriormente, no se muestran imágenes de la meiosis II porque las fotografías de las figuras no fueron claras, de tal manera que la descripción se realizó a partir de la observación directa al microscopio

PROFASE II. En esta fase ocurrió nuevamente la desespiralización de los monovalentes y la membrana nuclear desapareció; en la mitad de los espermatocitos secundarios se observó el cromosoma X heteroploidico y la otra mitad carece de él.

METAFASE II. Los monovalentes que alcanzaron el mayor grado de condensación se arreglan en la placa ecuatorial; en esta fase se pudo contar los cromosomas, se observaron meiocitos con 17 cromosomas, cuando contenían al cromosoma sexual y meiocitos con 16 autosomas, sin el cromosoma X.

ANAFASE II. Durante esta fase se observó la segregación de las cromátidas que migran hacia los polos de la célula, por lo que en esta fase se efectúa sólo la división ecuatorial de los monovalentes.

TELOFASE II. Las cromátidas se reúnen en los polos de la célula y se inicia la citocinesis con lo que concluye el proceso meiótico. Como resultado de la espermatogénesis se producen 4 células haploides o espermátidas, las cuales mediante el proceso de espermateliosis, dan lugar a los espermatozoides.

2.- DESCRIPCION DE LA MITOSIS ESPERMATOGONIAL.

La mitosis se inicia con la espiralización de la cromatina y la desaparición simultánea de la membrana nuclear. En la Profase temprana los cromosomas se observaron con los bordes irregulares y como filamentos largos y delgados, por lo que resultó difícil contarlos.

Al inicio de la Profase los cromosomas aún no concluían el proceso de espiralización por lo que no se mostraban sus perfiles lisos. En la figura 12 se diferencia al cromosoma sexual X sólo porque presenta mayor tamaño que el resto de la dotación, ya que no muestra espiralización o tinción diferenciales.

Durante la Metafase los cromosomas presentaron su mayor grado de condensación y se agruparon en el ecuador de la célula. La figura 13 muestra un grupo de Metafases en vista polar; en la del centro se cuentan con claridad los 32 cromosomas autosómicos y el cromosoma X, que se distingue de los autosomas porque es el mayor de la dotación y tiene las cromátides abiertas; también se observa que la mayoría de los cromosomas son telocéntricos. Con esta figura y otras semejantes se construyó el idiograma de la especie.

En la Anafase, las cromátides hermanas migraron hasta congregarse en los polos opuestos de la espermatogonia. La reaparición de la membrana nuclear y la citocinesis dieron lugar a la Telofase.

3.-ELABORACION DEL IDIOGRAMA.

Como se mencionó antes, con figuras de la Metafase mitótica se elaboró

el idiograma, el cual consiste en la representación gráfica y porcentual de los cromosomas. Para el presente trabajo se tomaron las medidas de cinco Metafasas, con los cromosomas separados para contarlos e identificarlos de forma apropiada.

Para lograr lo anterior, se seleccionaron Metafasas espermatogoniales, que se fotografiaron y amplificaron, después, con la ayuda del microscopio se homologó cada par de cromosomas; sobre la fotografía se midió cada miembro del par y se obtuvo un promedio, se sumaron los promedios de los 16 pares de autosomas más el cromosoma sexual y el resultado se hizo equivaler al 100% y para obtener las unidades relativas de cada par cromosómico y del monovalente sexual se obtuvieron los porcentajes que representa cada uno. Por último, se colocaron los autosomas en longitudes decrecientes y al final el cromosoma X figura 14.

DISCUSION Y CONCLUSIONES.

Las divisiones cromosómicas de Conocephalus ictus, como ya se mencionó, transcurren de manera normal; tanto en las divisiones gaméticas como en las espermatogoniales no se observan anomalías numéricas ni estructurales.

El número diploide de los machos de esta especie, $2N=33$, concuerda con el observado para la mitad de las especies de conocefalinos estudiados (Hewitt, 1979). El número gamético como era de esperarse corresponde a $16 II + XO$; la fórmula cromosómica de determinación sexual XO también concuerda con la que muestran todas las especies de conocefalinos que se conocen al respecto. En los casos en que se conoce el mecanismo de determinación sexual en la hembras, éste corresponde a XX , como es muy probable que sea el de las hembras de Conocephalus ictus.

El sistema de determinación sexual XO se considera más avanzado - evolutivamente hablando- que el sistema XX para las hembras y XY para los machos (Smith, 1960); según Hewitt (1979), la mayoría de las especies de Orthoptera poseen un mecanismo de determinación sexual del tipo XO para machos y XX para hembras.

A partir de las metafases espermatogoniales se pudo construir el idiograma para la especie, en el que se observa a X como el cromosoma más grande de la dotación y es telocéntrico, dato que concuerda con lo que comunica

Hewitt (1979) para los tetigónidos; en estas divisiones somáticas el cromosoma X no se observa diferencialmente condensado, es decir, no se distingue de los autosomas más que por su mayor tamaño. (Bella, et al, 1990).

Los pares cromosómicos somáticos pueden agruparse en dos pares grandes, tres pares medianos y once pares pequeños. Al igual que el cromosoma sexual, los 16 pares autosómicos son telocéntricos. Las opiniones acerca de este tipo de morfología cromosómica en ortópteros varían: según White (1969), los cromosomas generalmente son acrocéntricos, aunque él mismo (1957) dice que a veces pueden encontrarse otros tipos de cromosoma respecto a la posición del centrómero. La existencia de cromosomas telocéntricos fue muy discutida (John y Hewitt, 1966); sin embargo en la actualidad se acepta la existencia de telocéntricos como cromosomas estables.

En el caso de Conocephalus ictus se observa que los cromosomas no son acrocéntricos, ya que no poseen un brazo corto conspicuo y por lo menos los cinco pares de mayor tamaño son telocéntricos o subtelocéntricos, situación observada para otras especies de ortópteros (Giraldez y Santos, 1981; Arana et al, 1982; Lopez- Leon, et al, 1991)

En las figuras de Leptoteno que se observaron en los meiocitos primarios, los autosomas aún no mostraron sinapsis, lo cual se presenta comúnmente en las divisiones gaméticas de los animales en que se ha analizado la meiosis (John, 1976).

A partir del Zigoteno los autosomas se observaron apareados mediante la

sinapsis. Durante toda la profase I el cromosoma X se observó muy condensado y heteropicnótico; se ha sugerido que la inactivación de X en los machos heterogaméticos puede ser necesaria para la espermatogénesis normal (Hewitt, 1979).

En las Metafases I es notable que mientras los bivalentes permanecen en el ecuador del espermatocito primario, el cromosoma X se observa casi invariablemente en un polo de la célula; lo mismo se observa en las Anafases al iniciarse la disyunción de los homólogos. Cuando aún están cerca de la región ecuatorial, el cromosoma X se encuentra en la periferia de la célula.

La pequeña proporción de células en meiosis II hace suponer que el tiempo que dura la segunda división gamética es muy corta si se compara con la primera. Se ha comprobado en muchos organismos que, como dice John (1976), «todos los eventos de la meiosis están en alguna forma bajo control genético», por lo que es probable que la rapidéz de la meiosis II de C. jctus no escape a dicho control, sin embargo no se halló en la literatura más información al respecto.

En la familia Tettigonioidea, los machos tienen número cromosómico variable; van de 33, 31 y 29, para los casos de los números más comunes y mayores, hasta 16 que es el número más bajo (Hewitt, 1979).

Es importante resaltar que la subfamilia Conocephalinae tiene aproximadamente 1000 especies y sólo se ha estudiado, desde el punto de vista citogenético al 2% de ellas, lo que muestra la ausencia de este tipo de

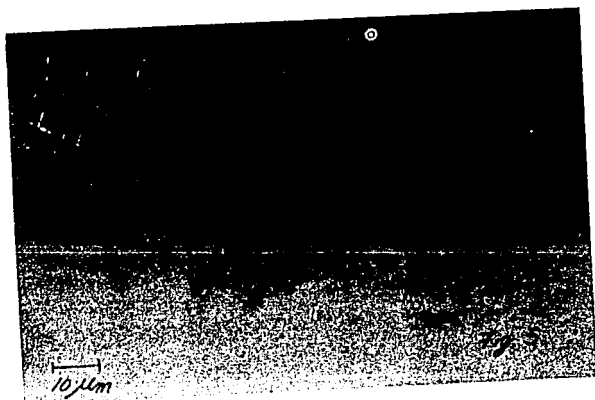
datos para el caso de la subfamilia. El número cromosómico diploide varía de 21 a 35 en los machos, siendo el de 33 el más común (Hewitt, 1979). Como se dijo al inicio de este capítulo, sin embargo, no es posible postularlo como el número básico por la escasa cantidad de especies que se conocen al respecto.

El complemento más encontrado de 33 cromosomas se observa tanto en ejemplares del Viejo como del Nuevo Mundo; hay 7 especies con $2N=35$ y 4 especies con $2N=21$ así como 2 especies que tienen números cromosómicos de 27 y 29. Para el caso de estos últimos tres números se postula que la reducción en el número cromosómico es producto de fusiones céntricas y no es posible decir nada al respecto acerca de las especies con 35 cromosomas (Hewitt, 1979).

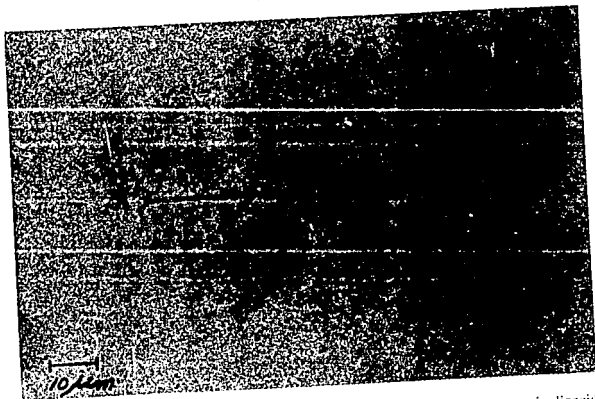
Puede apreciarse que con los datos disponibles todavía no es posible plantear un esquema filogenético de ancestría y derivación de especies a partir de los datos cromosómicos de conocefalinos. De aquí la importancia de contribuir al conocimiento cromosómico de un mayor número de especies de este grupo.

ANEXO DE FIGURAS

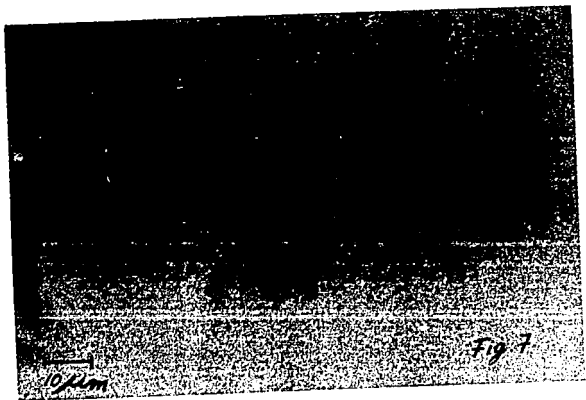
- FIGURA 5 ZIGOTENO
- FIGURA 6 PAQUITENO
- FIGURA 7 DIPLOTENO
- FIGURA 8 DIACINESIS
- FIGURA 9 METAFASE I
- FIGURA 10 ANAFASE I
- FIGURA 11 TELOFASE I
- FIGURA 12 PROFASE MITOTICA
- FIGURA 13 METAFASE MITOTICA
- FIGURA 14 IDIOGRAMA DE Conocephalus ictus



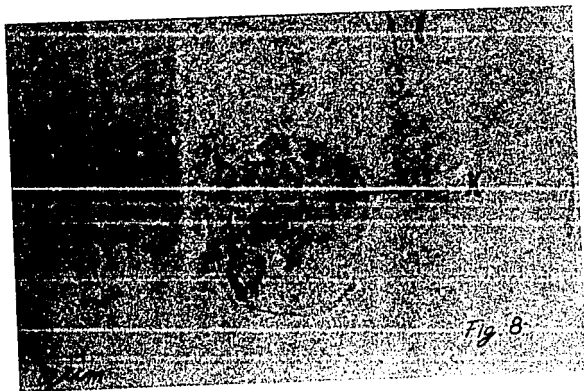
Zygoteno, se observan los filamentos que permanecen como bivalentes, la condensación de X aumenta.



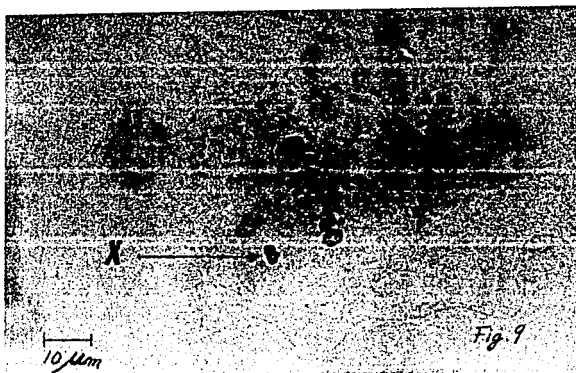
Paquiteno, la naturaleza doble es más evidente, en algunos pares se inicia la terminalización



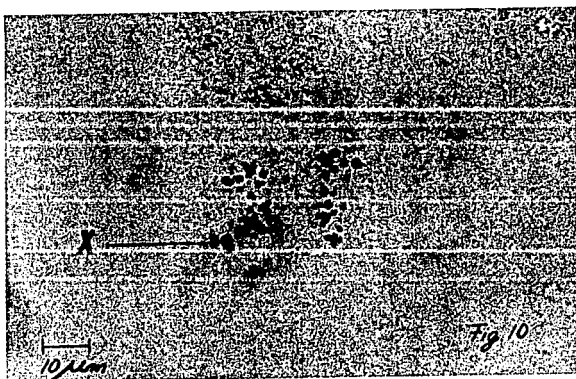
Diploteno. los pares de autosomas se observan con 1, 2, o 3 puntos de quiasma.



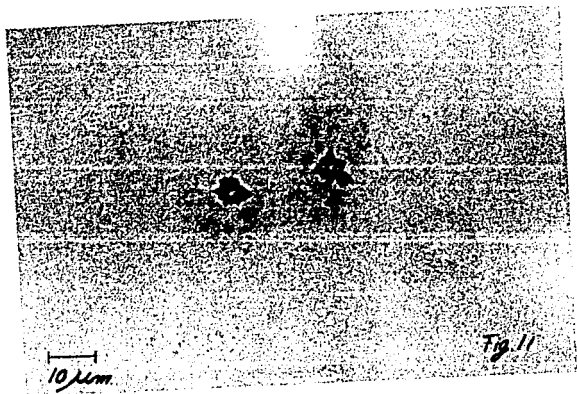
Diakinesis, continúa la terminalización, la mayoría de los pares alcanza los extremos. se observan figuras de anillo de cruz y de barra.



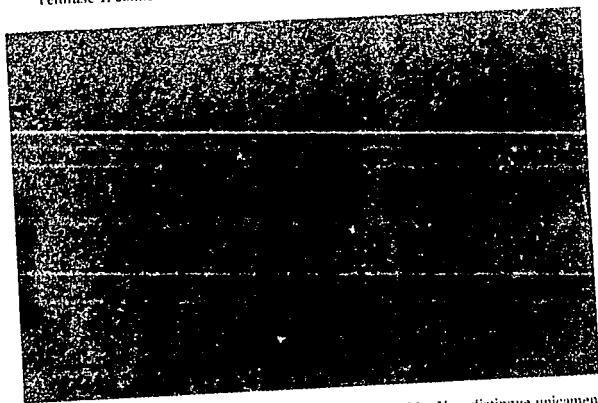
Metafase I, los bivalentes se ubican en el ecuador de la célula, mostrando su mayor grado de condensación.



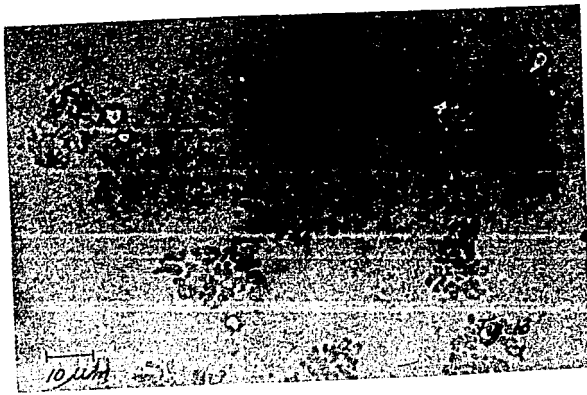
Anafase I, los pares cromosómicos disyuntan. X se dirige a un polo



Telofase I. comienza la citocinesis. se pueden observar las fibras del huso.



Profase mitótica. los cromosomas estan en proceso de espiralización. X se distingue unicamente por su mayor tamaño



Grupo de metafases, en la célula del centro, se cuentan 32 autosomas, y X se distingue por su tamaño y forma característica en esta especie.

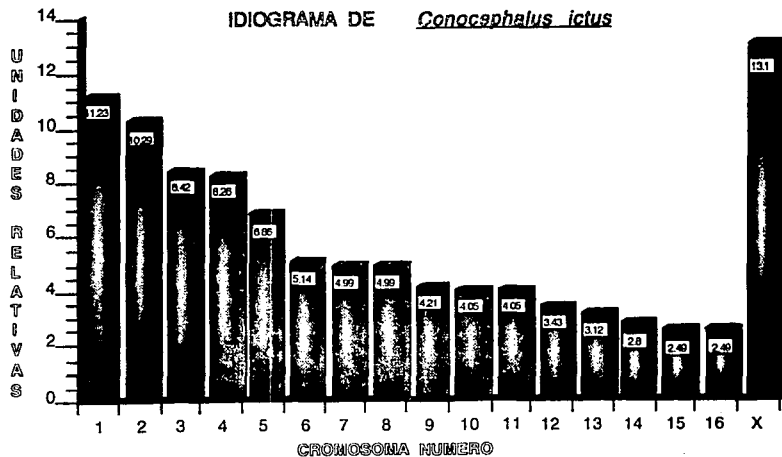


FIGURA : 14

BIBLIOGRAFIA

- Arana, P., J. L. Santos, N. Henriquez-Gil y R. Giraldez, 1982. Centromere coorientation in a spontaneous translocation heterozygote of Euchorthippus pulvinatus gallicus (Acrididae, Orthoptera). *Genetica* 58: 81-84.
- Bella J. L., Gonsalvez J, y Dela Torre J. 1990. Males vs female meiotic prophase in a grasshopper, Arcyptera microptera (Orthoptera: Acrididae). *Genetica* 82: 151-156.
- Belling, J., 1926. The iron aceto-carmin method of fixing and staining chromosomes. *Biol Bull* 50: 160-162.
- Bullini, L. y Bullini, P.B. 1972. La cariólogia nella sistematica entomologica citogenetica degli Efippigeridi (Orthoptera: Tettigonoidea). 9th. Congreso italiano de Entomologia. (Siena).
- Burham, Ch.R. 1951. *Cytogenetics*. University of Minnesota St. Paul U.S.A.
- Bursell, E. 1974. *Introducción a la fisiología de los insectos*. Ed. Alhambra. Madrid.
- Ch'en, S.T. 1933. The chromosomes of some Peiping Orthopterans Locustidae. *Peking Nat. Hist. Bull.* 7: 299-314.
- Coronado, R. 1985. *Principios de Entomología*. Ed. Interamericana, México: pp 216-235.

- Dobzhansky, T., J. F. Ayala, J. L. Stebbins. 1980. Evolución. Omega. Barcelona, pp 533-535.
- Ferreira, A. 1969. Chromosomes survey of some australian tettigoniids (Orthoptera: Tettigoniidae). Two species with new neo XY determining sex mechanism. Cytologia 34: pp 511-522
- Giraldez R., y L. L. Santos. 1981. Cytological evidence for preferences of identical over homologous but no identical meiotic pairing. Chromosoma (Berl) 82 : 447-451.
- Hewitt, G. M., John, B. 1979. Animal Cytogenetics. vol. III Insecta I. Gebruder Borntraeger, Berlin Stuttgart. 170 pp
- John, B. 1976. Myths and mechanisms of Meiosis; Chromosoma (Berl) 54, 295-325.
- John, B., y Hewitt, G.M. 1966. Kariotype stability and DNA variability in the Acrididae. Chromosoma. (Berl) 20: 155-172.
- López-León, M.D., J. Cabrero y J. P. M. Camacho. 1991. Distributive pairing in the grasshopper Chorthippus binotatus. Genome 34: 139-143.
- Mayr, E. 1969. Principles of systematic zoology. Mc Graw-Hill. New York.
- Mc Clung, C. E. 1905. The chromosome complex of Orthopteran spermatocytes. Biol. Bull. Woods Hole 9: 304-340
- Mesa, A. 1956. Los cromosomas de algunos Acridoideos uruguayos (Orthoptera: Caelifera: Acridoidea). Agros Montevideo. 141: 32-45.
- Mesa, A. 1970. The chromosomes of two species of the genus Australotettix richars (Gryllacridoidea: Macropathinae). J. Aust. Entomol. Soc. 9: 7-10.

- Mieli, 1951. Breve historia de la Biología. Colección Austral. Espasa-Calpe. Buenos Aires, Argentina: 12-25
- Smith, S. G. 1960. Cytogenetics of insects. *Ann Rev. Ent.* 5: 69-83.
- Snodgrass, R. E. 1935. Principles of insect morphology. New York: Mc Graw-Hill: 667 pp
- White, M. J. 1957. Cytogenetics and Systematic Entomology *Ann. Rev. Ent.* 2: 71-89.
- White, M. J. 1969. Chromosomal rearrangements and speciation in animals. *Ann. Rev. Gen.* 3: 75-97
- White, M. J. 1970. The value of cytology in taxonomic research on orthoptera. *Proc. Int. Study con. current and future Problems of Acridology.* session: Taxonomy pp: 27-33 London.
- White, M. J. 1978. Mode of speciation. W. H. Freeman San Francisco U.S.A. 455 pp.
- White, M. J. 1969. Chromosomal rearrangements and speciation in animals. *Ann. Rev. Gen.* 3: 75-97
- White, M. J. 1970. The value of cytology in taxonomic research on Orthoptera. *Proc. Int. Study con. current and future Problems of Acridology.* session: Taxonomy pp: 27-33 London.
- White, M. J. 1978. Mode of speciation. W. H. Freeman San Francisco U.S.A. 455 pp.