

# **PAPEL DE LOS CROMOSOMAS B EN LA EVOLUCIÓN DE LOS SISTEMAS GENÉTICOS EUCARIÓTICOS**

Juan Pedro M. Camacho  
Departamento de Genética  
Universidad de Granada

## **1. INTRODUCCIÓN**

Los sistemas genéticos eucarióticos están constituidos no sólo por los genes incluidos en los cromosomas normales (cromosomas A) sino también por miríadas de elementos genéticos egoístas cuya presencia está garantizada porque juegan con ventaja durante la transmisión sin obedecer las leyes mendelianas de la herencia. Entre éstos cabe destacar los transposones, los distorsionadores de la segregación, muchos factores citoplásmicos y los cromosomas B. Estos últimos fueron realmente los primeros elementos genéticos egoístas en ser descubiertos (Wilson, 1907), pero su naturaleza parasítica (Östergren, 1945) y egoísta (Jones, 1985) sólo fue reconocida muchos años después.

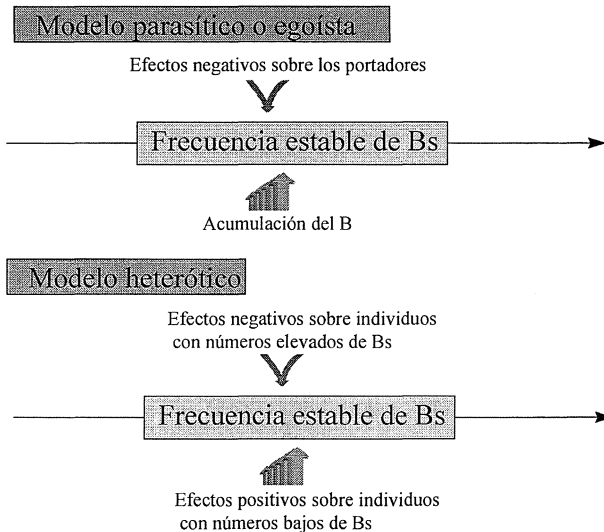
Los cromosomas B, también denominados cromosomas supernumerarios o accesorios, son cromosomas adicionales cuya presencia en el genoma es totalmente prescindible y que no recombinan con los cromosomas A, por lo que siguen su propio camino evolutivo. Además, y esta es la característica que les hace egoístas, los cromosomas B muestran comportamientos mitóticos y/o meióticos irregulares que suelen constituir la base de su acumulación en la línea germinal determinando modos de herencia no mendelianos que implican tasas de transmisión superiores a la de los cromosomas normales (0.5).

Aunque la mayoría de los cromosomas B muestran acumulación de una u otra forma (Jones, 1991), existen algunos Bs excepcionales que se transmiten a tasas próximas a la mendeliana y que, por tanto, no pueden adscribirse a la categoría de egoístas. Es el caso, por ejemplo, de los Bs de la cebolleta *Allium schoenoprasum* (Bougourd and Parker, 1979) y del saltamontes *Eyprepocnemis plorans* (López-León y col., 1992a), cuyo estudio ha proporcionado, como

veremos después, nuevas perspectivas sobre la evolución y significado biológico de estos enigmáticos cromosomas.

## 2. NATURALEZA Y COMPOSICIÓN DE LOS CROMOSOMAS B

La mayoría de los cromosomas B son heterocromáticos, lo que ha conducido a la idea general de que estos cromosomas son genéticamente inertes. De hecho, los análisis de actividad transcripcional general con uridina tritiada han confirmado esta idea (Fox y col., 1974; Ishak y col., 1991). No obstante, existen algunos cromosomas B que muestran actividad transcripcional en el estado plumoso en la rana *Leiopelma hochstetteri* (Green, 1988) o en el estado politénico en el mosquito *Simulium juxtacrenobium* (Brockhouse y col., 1989). Además, se han encontrado numerosos cromosomas B portadores de genes ribosómicos (para revisión, ver Green, 1990, Beukeboom, 1994a y Jones, 1995), e incluso uno portador de un gen que confiere resistencia a un antibiótico, producido por la planta hospedadora, en el hongo *Nectria haematococca*, favoreciendo así su patogenicidad (Miao y col., 1991a,b). Esto indica que no todos los Bs son genéticamente inactivos.



**Figura1.-** Modelos que asumen el equilibrio en la frecuencia de Bs.

### 3. ORIGEN

La teoría más ampliamente aceptada sostiene que los cromosomas B se originan a partir de los A (Jones y Rees, 1982). Bajo este prisma, podríamos considerar el origen de los Bs como un simple subproducto de la evolución del cariotipo estándar: por ejemplo, los Bs podrían derivar de cromosomas A polisómicos, de fragmentos céntricos resultantes de fusiones céntricas entre cromosomas A, o de la amplificación de la región paracentromérica de un A fragmentado.

La primera evidencia clara en favor de esta hipótesis fue obtenida por Keyl y Hägele (1971) al demostrar que el patrón de bandas politénicas en el B de *Chironomus plumosus* era semejante al observado en las cercanías del centrómero del cromosoma IV.

La existencia del mismo ADN repetitivo en los cromosomas A y B proporciona un apoyo más reciente a la idea del posible origen de los B a partir de los A. Por ejemplo, todas las secuencias de ADN repetitivo aisladas por microdissección del B en *Crepis capillaris* están también presentes en los cromosomas A, aunque no ha sido posible identificar qué cromosoma fue el ancestral del B (Jamilena y col., 1994, 1995). Esto sí ha sido posible en el caso del cromosoma B<sub>2</sub> del saltamontes *Eyprepocnemis plorans*, donde la ordenación de dos secuencias de ADN (un repetitivo de 180 pb y ADN ribosómico) respecto al centrómero sólo coincide con la del cromosoma X (López-León y col., 1994), por lo que cabe pensar que, en esta especie, los cromosomas B derivan de la región paracentromérica del X y la posterior amplificación de los dos tipos de secuencia allí contenidos. De hecho, el cromosoma X ya había sido sugerido como fuente de cromosomas B por su mayor tolerancia a los estados de polisomía (Hewitt, 1979).

En los últimos años está cobrando fuerza una segunda hipótesis sobre el origen de los cromosomas B, concretamente que algunos cromosomas B podrían haber derivado de los cromosomas A de especies afines como resultado de hibridación interespecífica (Sapre y Deshpande, 1987). La existencia de secuencias de ADN específicas de los cromosomas B de una especie, que se encuentran en una especie afín, proporciona la mejor evidencia en favor de esta hipótesis. Este podría ser el caso de los Bs de *Brachycome dichromosomatica* (John y col., 1991) y *Nasonia vitripennis* (Eickbush y col., 1992). Una posible evidencia directa del origen de algunos cromosomas B mediante hibridación interespecífica se ha obtenido recientemente en el pez ginogenético *Poecilia formosa*, una especie híbrida entre *P. mexicana* y *P. latipinna* de la que sólo existen hembras cuya reproducción necesita de la inseminación por un macho de una de las especies parentales, tras de lo cual los genes paternos son generalmente eliminados (Dawley, 1989). En cruces de laboratorio entre individuos de *P. formosa* y machos de una cepa de color negro, ambos carentes de cromosomas B, se obtuvieron algunos descendientes (frecuencia 10<sup>-3</sup>) con manchas negras debido a la existencia de genes de pigmentación, localizados en cromosomas B originados *de novo*, procedentes de la especie parental (Schartl y col., 1995).

#### 4. FRECUENCIA

Los cromosomas B se han descrito en más de 1300 especies de plantas, en casi 500 especies de animales (para revisión, ver Jones y Rees, 1982, Jones y Puertas, 1993 y Jones, 1995) y en varias especies de hongos (Mills y McCluskey, 1990; Miao y col., 1991a,b; Tzeng y col., 1992; Geiser y col., 1996). Son predominantemente frecuentes en ciertos grupos taxonómicos debido, probablemente, a la intensidad con que cada grupo se ha estudiado y a la facilidad técnica de cada material. No es sorprendente, por tanto, que se hayan descrito frecuentemente en Gramíneas, Liliáceas y Ortópteros, donde se unen ambas condiciones. De hecho, el descubrimiento de los Bs en hongos sólo ha sido posible tras el desarrollo de la técnica de electroforesis de campo pulsátil para el cariotipado de estos organismos. Por tanto, es probable que la mayoría de las especies posean cromosomas B si se analizaran con la suficiente intensidad.

La frecuencia de los cromosomas B en las poblaciones naturales puede llegar a ser muy elevada, dependiendo del grado de tolerancia de cada especie en particular a la presencia de estos elementos adicionales y de la potencia de los mecanismos de acumulación (si los hay) del B. Suele ser normal encontrar una frecuencia de Bs estable durante varios años en una misma población, deduciéndose a continuación que el polimorfismo se encuentra en equilibrio y que la frecuencia es el resultado de la acción de dos fuerzas contrapuestas, a saber, la acumulación del B (que tiende a incrementar la frecuencia del B) y los efectos perjudiciales sobre la fitness de los individuos portadores del B (que tienden a disminuirla). Sin embargo, como veremos después, los polimorfismos para Bs se interpretan mejor como un sistema dinámico en el que la frecuencia fluctúa continuamente, debido a la carrera de armamentos entre los cromosomas A y B.

Por otra parte, las diferencias entre poblaciones para la frecuencia de un B dependen de factores *selectivos* (relacionados con la tolerancia ecológica de los individuos portadores en función de la bondad de las condiciones ambientales de cada población particular), factores *históricos* (relacionados con la mayor o menor proximidad al lugar donde se originaron los cromosomas B), factores *no-fenotípicos* (relacionados con la existencia de diferencias en la intensidad de la acumulación del B entre poblaciones) y de factores aleatorios (relacionados con la actuación de la deriva genética en poblaciones de tamaño finito). Frecuentemente, los cuatro tipos de factores inciden simultáneamente y es muy difícil evaluar la importancia relativa de cada uno de ellos aún a pesar de estudios intensivos.

El número máximo de Bs que las especies son capaces de tolerar, medido por el número máximo de Bs encontrados en individuos adultos es muy variado, aunque depende de la intensidad de los cuatro tipos de factores mencionados en el párrafo anterior. Es fácil comprender que en el maíz se hayan encontrado plantas con 34 Bs (lo que supone un incremento del 155% en la cantidad de ADN) (Jones y Rees, 1982) puesto que es una planta cultivada y las condiciones de cultivo son indudablemente más benignas que las de la naturaleza. En plantas salvajes, como por ejemplo *Lolium perenne* (Jones y Rees, 1982) y *Brachycome dichromosomatica* (Carter, 1978), sin embargo, no se han encontrado individuos

con más de tres Bs. En el saltamontes *Eyprepocnemis plorans*, igualmente, es muy raro encontrar individuos con más de tres Bs en las poblaciones naturales (Camacho y col., enviado).

## 5. EFECTOS

Existen numerosas evidencias de que los cromosomas B pueden afectar, tanto en plantas como en animales, a multitud de procesos celulares y fisiológicos. Los efectos raramente son apreciables en el fenotipo externo, excepción hecha de *Haplopappus gracilis*, donde la presencia de un B cambia el color de los achenios (Jackson y Newmark, 1960) y el maíz, donde las plantas con B muestran las hojas rayadas (Staub, 1987). Más frecuente es observar efectos de los Bs sobre procesos o caracteres relacionados con el vigor, la fertilidad y la fecundidad. Jones y Rees (1982) resumen todo un cúmulo de efectos, en su mayoría deletéreos, de los cromosomas B de numerosas especies de plantas y animales. Estos efectos negativos sobre caracteres relacionados con la eficacia biológica de los individuos portadores sugieren la naturaleza parasítica de los cromosomas B. No obstante, también existen algunos cromosomas B cuya presencia en bajo número produce efectos beneficiosos sobre los portadores, cuyo significado biológico podría ser, como veremos después, diferente. Por ejemplo, los cromosomas B de varias especies de plantas incrementan el vigor o la velocidad de germinación de las semillas (ver Tabla 4.2 de Jones y Rees, 1982).

Los efectos de los Bs pueden derivar simplemente de su presencia o de la actividad de ciertos genes contenidos en ellos. Por ejemplo, los Bs de las plantas *Scilla autumnalis* (Ruíz-Rejón y col., 1980; Oliver y col., 1982) y *Allium schoenoprasum* (Plowman y Bougourd, 1994) influyen en la expresión de genes de los cromosomas A que codifican para una esterasa y una proteína endospérmica, respectivamente. La presencia de los Bs también puede provocar una mayor tasa de expresión a nivel de las regiones organizadoras nucleolares (NORs) de los cromosomas A, como en el caso del saltamontes *Eyprepocnemis plorans* (Cabreró y col., 1987). Como mencionamos anteriormente, muchos Bs contienen genes ribosómicos, la actividad de los cuales puede proporcionar a la célula niveles superiores de ribosomas. Sería, por tanto, interesante estudiar el posible efecto de cromosomas B que posean NORs activas sobre la tasa de crecimiento celular y corporal.

Algunos efectos de los Bs pueden ser adscribibles directamente a los productos de genes presentes en ellos. Es el caso de los genes para la resistencia a la roya presentes en los Bs de *Avena sativa* (Dherawattana y Sadanaga, 1973) y los genes para resistencia a antibióticos en los Bs del hongo *Nectria haematococca* (Miao y col., 1991a,b), mencionados anteriormente.

Es necesario remarcar que los efectos de los Bs dependen de las condiciones ambientales de la población y que, como estas, pueden cambiar espacial y temporalmente. Por tanto, es muy arriesgado extrapolar los efectos detectados en una población a todo el rango de distribución de una especie y, mucho más, a otras especies. Cada caso debe ser analizado por completo en

todas sus vertientes y en varias poblaciones diferentes. Por supuesto, siempre deberían estudiarse los efectos en las condiciones lo más naturales posible y no en condiciones de laboratorio como en la mayor parte de los estudios realizados hasta ahora.

## 6. TRANSMISIÓN

Puesto que los cromosomas B no van siempre por parejas, no constituyen un sistema mendeliano. Lo más mendeliano que pueden ser es comportándose aleatoriamente durante la transmisión de forma que su tasa media de transmisión sea próxima a 0.5 (Camacho y col., 1996). Como consecuencia de su inestabilidad mitótica y/o meiótica, muchos cromosomas B muestran tasas de transmisión netamente superiores a 0.5, es decir, poseen acumulación, la cual constituye la propiedad más importante de los cromosomas B egoístas. La acumulación puede tener lugar antes de la meiosis, durante o después de ésta y Jones (1991) revisó exhaustivamente los principales mecanismos citológicos que la causan. Como mecanismo pre-meiótico, baste citar el caso de la acumulación derivada de la inestabilidad mitótica de los Bs durante el desarrollo de la línea germinal masculina en la langosta *Locusta migratoria*. La acumulación meiótica se ha descrito para el caso de la meiosis femenina de varias especies de plantas y animales, y se basa en la asimetría inherente a la producción de sólo un óvulo a partir de cada oogonia; el B migra preferentemente al oocito secundario en vez de al primer corpúsculo polar. En el insecto *Pseudococcus affinis* los cromosomas B se acumulan durante la meiosis masculina debido a que suelen escapar a la heterocromatinización y eliminación de un juego cromosómico que normalmente ocurre durante la espermatogénesis en esta especie (Nur, 1962). La acumulación post-meiótica es frecuente en plantas, donde la formación del grano de polen implica dos divisiones mitóticas post-meióticas que dan lugar a los núcleos generativo y vegetativo; la no-disyunción del B en esa mitosis y la migración preferencial de las dos cromátidas B al núcleo generativo son los fenómenos responsables de la acumulación del B. Un ejemplo de acumulación postmeiótica de un B en animales se ha descrito en la avispa parasitoide *Nasonia vitripennis* (Werren, 1991); en este caso, el B presente en los espermatozoides causa la condensación y pérdida de los cromosomas paternos que le acompañan, determinando así que un cigoto diploide, que estaba destinado a ser hembra, pase a ser haploide y, por tanto, macho portador del B. Se consiguen así tasas de transmisión cercanas a 1 y, por ello, este B es considerado como uno de los más egoístas.

Pero no todos los cromosomas B muestran acumulación. Es el caso de los descritos en las plantas *Poa alpina* (Håkansson, 1954), *Poa trivialis* (Bosemark, 1957), *Centaurea scabiosa* (Fröst, 1958), *Ranunculus acris* (Fröst, 1969), *Allium schoenoprasum* (Bougourd y Parker, 1979) y *Guizotia scabra* (Hiremath y Murthy, 1986). En animales, el caso más notable es el del saltamontes *Eyprepocnemis plorans*, donde los tres tipos de B más frecuentes carecen de acumulación (López-León y col., 1992a). Éstos ejemplos sugieren otros modelos de evolución de los Bs, además del egoísta, tal como veremos a continuación.

## 7. EVOLUCIÓN

Los cromosomas B, al nacer como tales, necesitan tener acumulación o, en su defecto, causar efectos beneficiosos sobre los individuos que los portan. Esa es la única forma en que pueden aumentar en frecuencia y llegar a establecer polimorfismos en las poblaciones naturales. Un B que fuese neutral en su nacimiento, es decir, que no mostrase ninguna de las dos propiedades anteriores, sería eliminado rápidamente porque, al no ir siempre por parejas y por su comportamiento meiótico irregular, nunca podría llegar a fijarse por deriva genética. A diferencia de los cromosomas A, y de los genes contenidos en ellos, que normalmente siguen las leyes mendelianas de la herencia, el único destino posible al que las fuerzas aleatorias pueden conducir a los cromosomas B es su extinción. Si fuese perjudicial para los individuos portadores, el nuevo B sólo podría subsistir en el caso de que poseyera una acumulación suficiente para sobrepasar los efectos negativos sobre sus portadores. Así es como han debido nacer la mayoría de los Bs egoístas que hoy podemos observar en multitud de especies.

Los dos modelos sobre la evolución de los cromosomas B que se han venido discutiendo hasta ahora, el modelo *parasítico* (Östergren, 1945) o *egoísta* (Jones, 1985; Shaw y Hewitt, 1990) y el modelo *heterótico* (White, 1973), asumen que la frecuencia de los cromosomas B está en equilibrio en las poblaciones actuales (Figura 1). Por tanto, estos modelos intentan encontrar aquellas fuerzas contrapuestas que son responsables del equilibrio. Para el modelo egoísta, el equilibrio es el resultado de la acción de la acumulación del B (que afecta positivamente a su frecuencia) y de sus efectos perjudiciales sobre la eficacia biológica de los individuos portadores (que afectan negativamente a la frecuencia del B). El modelo heterótico supone que éste es el resultado de su efecto positivo de los Bs (que carecen de acumulación) cuando están en bajo número y de su efecto negativo cuando están en números elevados.

La gran mayoría de los sistemas de cromosomas B que se han analizado hasta ahora en profundidad son compatibles con el modelo egoísta (ver Nur, 1977; Nur y Brett, 1985; Jones, 1985; Ruiz-Rejón y col., 1987; Shaw y Hewitt, 1990; Jones, 1995). La existencia de acumulación del B es una condición necesaria y suficiente para que éste sea considerado egoísta, pero sus efectos perjudiciales no; tan sólo ayudan a determinar la frecuencia de un B egoísta en la población. Por ejemplo, el cromosoma B más egoísta descrito hasta ahora, el que determina el carácter PSR (paternal sex ratio) en *Nasonia vitripennis* (ver más arriba), que muestra unas tasas de transmisión cercanas a 1 (Werren, 1991) produce efectos tan pequeños sobre diversos caracteres relacionados con la eficacia biológica de los portadores, que se ha propuesto que éstos desempeñan un papel menor en la determinación de las frecuencias del B en las poblaciones naturales (Beukeboom, 1994b).

La existencia de efectos beneficiosos sobre la eficacia biológica de los individuos portadores es una condición necesaria para que un B pueda ser considerado heterótico, pero no es una condición suficiente porque, si el B mostrase además acumulación, también sería egoísta. Hasta ahora no se ha encontrado ningún B con estas dos propiedades, pero si alguna vez hubiera

existido un B de este tipo habría invadido las poblaciones naturales de forma fulminante incrementando rápidamente su frecuencia y llegando probablemente a constituirse en una carga para el genoma A (con lo que dejaría de ser beneficioso) que, por tanto, se vería empujado a tratar de suprimir la acumulación del B. No obstante, sería interesante investigar la existencia de acumulación en Bs con efectos beneficiosos sobre los portadores, como los de *Avena sativa* y *Nectria haematococca*, mencionados anteriormente.

El único cromosoma B que, por ahora, parece un firme candidato a ser heterótico es el de la cebolleta *Allium schoenoprasum*. Como hemos comentado anteriormente, este cromosoma B no muestra acumulación, pero se ha demostrado que las plantas con B sobreviven mejor en el hábitat natural que las plantas sin B en el desarrollo de semilla a plántula (Holmes y Bougourd, 1989) debido a que los Bs aceleran la tasa de germinación y la capacidad de germinación en condiciones de sequía (Plowman y Bougourd, 1994).

La ausencia de acumulación no indica necesariamente que un B es heterótico. Los Bs egoístas, sobre todo los perjudiciales, suponen una carga genética para las poblaciones portadoras que favorece la evolución de cualesquiera variantes en genes de los cromosomas A que tiendan a reducirla, ya sea eliminando la acumulación del B o bien suavizando sus efectos deletéreos. Mientras que no se han obtenido evidencias de la amortiguación de los efectos del B, la existencia de algún tipo de control genético de los cromosomas A sobre la acumulación de los Bs se ha demostrado en *Secale cereale* (Müntzing, 1954; Romera y col., 1991; Jiménez y col., 1995), *Festuca pratensis* (Bosemark, 1954), *Zea mays* (Carlson, 1969; Rosato y col., 1996), *Hypochoeris maculata* (Parker y col., 1982), *Myrmeleotettix maculatus* (Shaw y Hewitt, 1985; Shaw y col., 1985), *Pseudococcus affinis* (Nur y Brett, 1985, 1987, 1988), *Aegilops speltoides* (Cebriá y col., 1994) y *Eyprepocnemis plorans* (Herrera y col., 1996). La evidencia ha derivado, principalmente, de la existencia de variación entre individuos para las tasas de transmisión, del éxito de la selección artificial para obtener líneas de alta y baja tasas de transmisión, y de los diferentes resultados obtenidos en cruces intra- e inter-poblacionales.

Los Bs egoístas que han perdido la acumulación están condenados a desaparecer, a menos que durante el largo proceso hacia la extinción aleatoria se conviertan en heteróticos o bien recuperen la acumulación transformándose en un nuevo tipo de B egoísta. En función de la magnitud de los efectos negativos que ejerzan los Bs en el momento de perder la acumulación, así desaparecerán rápido (efectos grandes), lento (efectos pequeños) o muy lento (efectos imperceptibles) de la población. En este último caso se puede considerar que los Bs son *casi-neutrales*, un tipo de B que no se encuentra en equilibrio sino que, como veremos más adelante, constituye una etapa transitoria hacia la desaparición o hacia la regeneración del polimorfismo.

La única prueba de la existencia de cromosomas B casi-neutrales, es decir, que han perdido la acumulación y producen efectos insignificantes sobre la eficacia biológica de los portadores, la proporcionan, por el momento, los cromosomas B del saltamontes *Eyprepocnemis plorans*, que han constituido el tema principal de las investigaciones de mi grupo en los últimos 16 años. Este



polimorfismo está muy ampliamente distribuido a lo largo de las regiones costeras mediterráneas y suratlánticas de la Península Ibérica (Henriques-Gil y col., 1984), norte de África (Henriques-Gil, 1984) e Italia (López-Fernández y col., 1992). Sus características más importantes son: 1) La existencia de una elevada mutabilidad de estos cromosomas, como lo demuestran el elevado número de tipos de B diferentes descritos hasta ahora (en base a su tamaño, morfología y reacción a la técnica de bandedo C; Henriques-Gil y col., 1984; Henriques-Gil y Arana, 1990; López-León y col., 1993) y la aparición de nuevos tipos de B entre la progenie de cruces controlados donde ninguno de los progenitores llevaba ese tipo de B (López-León y col., 1993). El B más ampliamente distribuido, denominado B<sub>1</sub>, se considera el B ancestral a partir del cual han ido apareciendo los demás (Henriques-Gil y col., 1984) mediante procesos de sustitución (Henriques-Gil y Arana, 1990); 2) Los tres tipos más frecuentes, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> y B<sub>5</sub>, carecen de acumulación (López-León y col., 1992a) y de efectos significativos sobre diversos caracteres relacionados con la eficacia biológica de los portadores ((López-León y col., 1992b; Camacho y col., 1996; en preparación); 3) El B<sub>2</sub> es capaz de acumularse en hembras cruzadas con un macho de una población donde no hay Bs, pero no cuando las mismas hembras son cruzadas con un macho de su misma población (Herrera y col., 1996). Esto sugiere que los Bs tenían acumulación originalmente pero la han perdido debido a la evolución de genes supresores en los cromosomas A que, lógicamente, no se encuentran en los machos de la población que carece de Bs.

Mientras que en *E. plorans* las tasas de transmisión del B suelen ser muy próximas a 0.5 en la mayoría de los individuos (López-León y col., 1992a), en muchas especies con Bs egoístas se ha observado que éstas varían mucho entre individuos, a pesar de lo cual los Bs conservan la acumulación en promedio (Müntzing, 1954; Bosemark, 1954; Parker y col., 1982; Shaw y Hewitt, 1985; Shaw y col., 1985; Nur y Brett, 1985, 1987, 1988; Romera y col., 1991; Cebriá y col., 199; Jiménez y col., 1995). Esto podría deberse a que la supresión de la acumulación del B lleva aparejada efectos pleiotrópicos negativos de los genes implicados, lo cual impide que aumenten mucho en frecuencia y la acumulación del B pueda ser suprimida totalmente. En *E. plorans*, por el contrario, los genes supresores podrían tener un menor efecto y la supresión es prácticamente completa.

Pero el sistema de cromosomas B de *E. plorans* no sólo ilustra la existencia de cromosomas egoístas neutralizados por el genoma A, que es lo que son realmente los Bs casi-neutrales. Va más allá proporcionándonos evidencias de uno de los pocos caminos evolutivos que le queda a uno de estos Bs (aparte de desaparecer, pero eso no tiene mucho interés evolutivo). Se trata de la regeneración del polimorfismo mediante la aparición de una nueva variante egoísta que inicia de nuevo el ciclo (Figura 2).

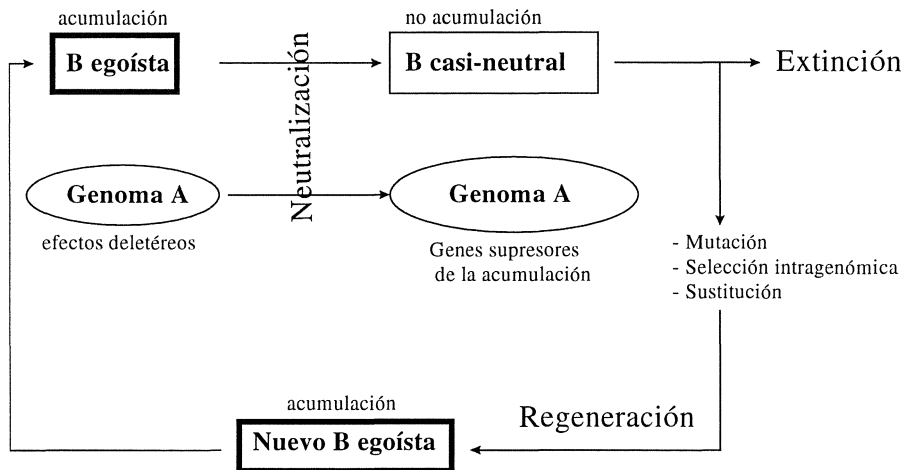


Figura 2.- Modelo dinámico de la evolución de los Bs egoístas

En la población de *E. plorans* capturada en 1984 cerca de Torrox (Málaga), Henriques-Gil y Arana (1990) advirtieron la presencia mayoritaria de un tipo de B (con un número medio de Bs de 0.344), que denominaron B<sub>24</sub> por ser diferente al que predominaba en las poblaciones colindantes (B<sub>2</sub>). Este nuevo B es como el B<sub>2</sub> pero con la banda proximal duplicada, lo que redonda en una mayor cantidad del ADN repetitivo de 180pb que lo posee B<sub>2</sub>, y una menor cantidad de ADN ribosómico (Zurita y col., en preparación). Al encontrar también B<sub>2</sub>, aunque con una frecuencia muy baja, Henriques-Gil y Arana (1990) propusieron que en esta población estaba aconteciendo la sustitución de B<sub>2</sub> por B<sub>24</sub>. En 1992, nosotros capturamos especímenes en esta misma localidad que mostraron una frecuencia de Bs (0.975) enormemente superior a la que había en 1984, e hicimos una serie de cruzamientos controlados que indicaron que B<sub>24</sub> muestra una elevada tendencia a la acumulación por las hembras, siendo su tasa media de transmisión (0.696) significativamente superior a la mendeliana. No encontramos, sin embargo, trazas de la existencia de B<sub>2</sub> en la muestra analizada en 1992. Esto sugiere que en los últimos años hemos asistido en Torrox a la sustitución aparentemente completa de B<sub>2</sub>, que es un B neutralizado incapaz de acumularse, por B<sub>24</sub>, una nueva variante egoísta que sí muestra acumulación. En 1994, una nueva muestra de individuos reveló que la frecuencia de B<sub>24</sub> había continuado aumentando, llegando a alcanzar el valor más alto jamás observado en una población natural de *E. plorans* (1.533) y que B<sub>2</sub> no estaba presente. Parece, por tanto, que la regeneración del polimorfismo ya se ha completado en esta población. Si nuestra teoría de la evolución dinámica de los polimorfismos para cromosomas B no es falsa, B<sub>24</sub> debería ser neutralizado los próximos años; de hecho ya han aparecido los primeros síntomas de la presencia de genes supresores de su acumulación: una pequeña proporción de los cruces realizados mostraron una tasa de transmisión de B<sub>24</sub> cercana a la mendeliana, e incluso

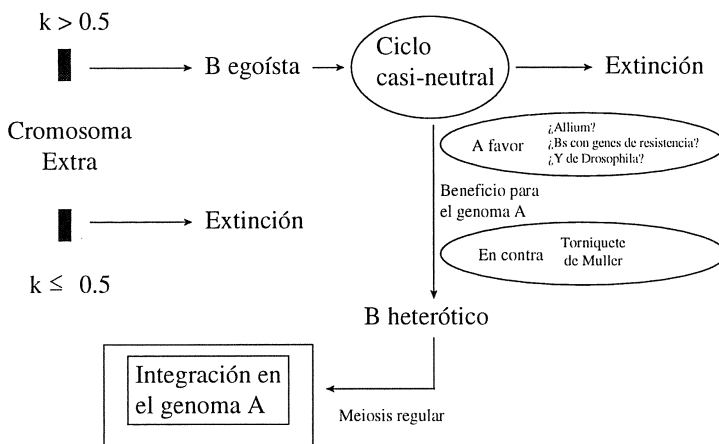
hubo una hembra con 1B que transmitió éste a sólo el 15.2% de su descendencia (Zurita y col., en preparación)..

En conjunto, podemos concluir que el polimorfismo para cromosomas B de *E. plorans* se ha regenerado al menos en tres ocasiones en la Península Ibérica (asumiendo que B<sub>1</sub> era el tipo ancestral, lo cual es lógico porque es el predominante en la inmensa mayoría de las poblaciones analizadas): 1) cuando B<sub>1</sub> fue sustituido por B<sub>2</sub> en la provincia de Granada y la parte oriental de la de Málaga; 2) cuando B<sub>1</sub> fue sustituido por B<sub>5</sub> en la zona de Fuengirola (Málaga), y 3) cuando B<sub>2</sub> ha sido sustituido por B<sub>24</sub> en Torrox. Sin duda, este es el polimorfismo que alumbró en mayor plenitud los avatares evolutivos de los cromosomas B egoístas, demostrando que los polimorfismos para cromosomas B deben entenderse, no necesariamente como un sistema en equilibrio, sino como una sucesión dinámica de diferentes estadios por los que el mismo polimorfismo puede pasar cambiando de egoísta a casi-neutral y a egoísta nuevamente, prolongándose así su existencia al resistir los embates del genoma A tendentes a hacerle desaparecer.

No es posible saber, por el momento, cuantos sistemas de Bs podrían ser similares al de *E. plorans*, pero un análisis profundo de aquellos que no muestran acumulación, o que la muestran en unas poblaciones pero no en otras, a buen seguro proporcionará casos similares en años próximos.

## 8. PAPEL

El papel de los cromosomas B en la evolución de los genomas eucarióticos parece, a priori, bastante superfluo. Dado que su presencia no es necesaria para la supervivencia o reproducción de los individuos, la primera idea que surge es que simplemente son “chatarra genómica”, un producto de desecho de la evolución de los genomas eucariotas. No obstante, dado que los cromosomas B no pueden nacer siendo ya una chatarra (es decir, neutrales o, a lo sumo, ligeramente deletéreos) sino que lo más probable es que nazcan siendo egoístas (porque si no tienen acumulación no pueden aumentar en frecuencia), lo más plausible es que de todos los cromosomas extra que se van produciendo en la evolución de los genomas de la mayoría de los organismos, sólo los que son egoístas tienen posibilidades de convertirse en cromosomas B. Una vez establecido el polimorfismo, los Bs pueden seguir varios caminos diferentes, algunos de los cuales ya han sido comentados anteriormente y otros se muestran en la Figura 3.



**Figura 3.-**Posible papel de los cromosomas B en la evolución de los sistemas genéticos eucarióticos.  $k$ =Tasa de transmisión

Ya hemos hablado suficientemente de la neutralización de los cromosomas B egoístas, pero ¿podría un B neutralizado convertirse en heterótico? La idea de que un B egoísta pueda transformarse en heterótico fue propuesta primero por Kimura y Kayano (1961) y ha sido defendida también por Ruíz-Rejón y col. (1987). El principal problema de esta posibilidad es que si los genes de los Bs están generalmente inactivos y por tanto pueden acumular una gran cantidad de mutaciones potencialmente deletéreas, ¿cómo podrían entonces los Bs evolucionar una característica beneficiosa para los individuos portadores superando el llamado torniquete de Muller (ver Green, 1990)? Existen varias posibilidades: 1) Como vimos anteriormente, algunos genes de los cromosomas B están activos, conservando así su requerimiento funcional, por lo que cabe suponer que, en ciertas circunstancias, esos genes puedan llegar a adquirir una importancia capital para el conjunto del genoma. 2) Los cromosomas B pueden captar genes del genoma A que resulten imprescindibles para el hospedador. Es el caso ya mencionado del gen presente en un cromosoma B del hongo *Nectria haematococca* que le confiere resistencia a la pisatina, un antibiótico producido por la planta hospedadora, el guisante (Miao y col., 1991a,b). La adquisición de funciones importantes por parte de los cromosomas B sería concebiblemente similar a la de los orgánulos celulares eucarióticos, a la luz de la teoría endosimbionte: al igual que ciertos genes de los organismos procarióticos precursores de las mitocondrias y los cloroplastos han migrado al genoma nuclear del hospedador (Palmer, 1995), los cromosomas B podrían captar algunos genes esenciales de los cromosomas A.

En este sentido, se ha propuesto recientemente que el cromosoma Y de *Drosophila* podría haber evolucionado a partir de un cromosoma supernumerario

con las características de un cromosoma B (Hackstein y col., 1996). Los principales argumentos en favor de esta hipótesis son, entre otros, i) la ausencia de homología entre los cromosomas X e Y, ii) la escasa actividad génica de los cromosomas Y de la mayoría de las especies, iii) su naturaleza heterocromática, y iv) su dispensabilidad en algunas especies donde los machos XO son fértiles. Estos autores proponen que la evolución del Y a partir de un cromosoma B pudo ocurrir en tres pasos: 1) el nacimiento de un cromosoma B egoísta a partir de la pareja puntual mediante no disyunción, 2) la adquisición de una segregación regular, incluyendo la supresión de la acumulación del B, y 3) adquisición de la función determinante del sexo o bien de la fertilidad masculina.

Esta idea sugiere una de las formas en que un cromosoma B puede acabar integrándose en el genoma A, lo cual sólo tiene sentido cuando el B aporta funciones más o menos esenciales y consigue que su meiosis sea regular. También es concebible que los Bs puedan integrarse en el genoma mediante translocaciones. Realmente se han observado translocaciones espontáneas entre los cromosomas A y B en *E. plorans* (Henriques-Gil y col., 1983; Cabrero y col., 1987), pero la posibilidad de que pasen a constituir un elemento esencial del genoma A (aún formando parte de alguno de los cromosomas de éste) es bastante remota; tan sólo pasarían a formar parte del conjunto de heterocromatina de esa especie y su esencialidad seguiría dependiendo de la evolución futura de sus secuencias de ADN.

## AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que han integrado mi grupo de investigación y han participado en el estudio de los cromosomas B, y muy en especial a Josefa Cabrero Hurtado, M<sup>a</sup> Dolores López-León, M<sup>a</sup> Cruz Pardo Justicia y Michael W. Shaw, sin cuyo concurso habríamos avanzado muy poco en el desenmarañamiento de este enigma. También quiero dar las gracias a Josefa Cabrero Hurtado, M<sup>a</sup> Dolores López-León, José Oliver, Manuel Ruíz Rejón, Juan Luis Santos y Michael W. Shaw por la lectura del manuscrito y sus fructíferas discusiones sobre la evolución de los cromosomas B. Nuestras investigaciones no hubieran sido posibles sin la financiación concedida por la Dirección General de Investigación Científica y Técnica y por la Junta de Andalucía, organismos que no nos han fallado aún tratándose de investigación básica, por lo que les estoy enormemente agradecido.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- Beukeboom, L.W. (1994a). Bewildering Bs: an impression of the 1st B-Chromosome Conference. *Heredity*, 73: 328-336.
- Beukeboom, L.W. (1994b). Phenotypic fitness effects of the selfish B chromosome, paternal sex ratio (PSR) in the parasitic wasp *Nasonia vitripennis*. *Evol. Ecol.*, 8: 1-24.

- Bosemark, N.O. (1954). On accessory chromosomes in *Festuca pratensis*. II. Inheritance of the standard type of accessory chromosome. *Hereditas*, 40: 425-437.
- Bosemark, N.O. (1957). Further studies on accessory chromosomes in grasses. *Hereditas*, 43: 236-297.
- Bougourd, S.M. & J.S. Parker (1979). The B chromosome system of *Allium schoenoprasum*. II. Stability, inheritance and phenotypic effects. *Chromosoma*, 75: 369-383.
- Brockhouse, C.; J.A.B. Bas, R.M. Fereday & N.A. Strauss (1989). Supernumerary chromosomes evolution in the *Simulium venum* group (Diptera:Simuliidae). *Genome*, 32: 516-521.
- Cabrero, J.; J.D. Alché & J.P.M. Camacho (1987). Effects of B chromosomes of the grasshopper *Eyprepocnemis plorans* on nucleolar organiser regions activity. Activation of a latent NOR on a B chromosome fused to an autosome. *Genome*, 29: 116-121.
- Camacho, J.P.M.; J. Cabrero, M.D. López-León & M.W. Shaw (1996). Evolution of a near-neutral B chromosome. *Chromosomes Today* 12 (en prensa).
- Carlson, W. (1969). Factors affecting preferential fertilization in maize. *Genetics*, 62: 543-554.
- Carter, C.R. (1978). The cytology of *Brachycome*. 8. The inheritance, frequency and distribution of B chromosomes in *B. dichromosomatica* (n= 2), formerly in *B. lineariloba*. *Chromosoma*, 67: 109-121.
- Cebria, A.; M.L. Navarro & M.J. Puertas (1994). Genetic control of B chromosome transmission in *Aegilops speltoides* (Poaceae). *Am. J. Bot.*, 81: 1502-1507.
- Dawley, R.M. (1989). An introduction to unisexual vertebrates. En: *Evolution and ecology of unisexual vertebrates*. Museum Bulletin 466, (ed. R.M. Dawley and J.P. Bogart). University of the State of New York, New York.
- Dherawattana, A. & K. Sadanaga (1973). Cytogenetics of a crown rust-resistant hexaploid oat with 42+2 fragment chromosomes. *Crop Sci.*, 13: 591:594.
- Eickbush, D.G.; T.H. Eickbush & J.H. Werren (1992). Molecular characterization of repetitive DNA sequences from a B chromosome. *Chromosoma*, 101: 575-583.
- Fox, D.P.; G.M. Hewitt & D.J. Hall (1974). DNA replication and RNA transcription of euchromatic and heterochromatic chromosome regions during grasshopper meiosis. *Chromosoma*, 45: 43-62.

- Fröst, S. (1958). Studies of the genetical effects of accessory chromosomes in *Centaurea scabiosa*. *Hereditas*, 44: 112-122.
- Fröst, S. (1969). The inheritance of accessory chromosomes in plants, especially in *Ranunculus acris* and *Phleum nodosum*. *Hereditas*, 61: 317-326.
- Geiser, D.M.; M.L. Arnold & W.E. Timberlake (1996). Wild chromosomal variants in *Aspergillus nidulans*. *Current Genetics*, 29: 293-300.
- Green, D.M. (1988). Cytogenetics of the endemic New Zealand frog, *Leiopelma hochstetteri*: extraordinary supernumerary chromosome variation and a unique sex-chromosome system. *Chromosoma*, 97: 55-70.
- Green, D.M. (1990). Muller's Ratchet and the evolution of supernumerary chromosomes. *Genome*, 33: 818-824.
- Hackstein, J.H.P.; R. Hochstenbach, E. Hauschteck-Jungen & L.W. Beukeboom (1996). Is the Y chromosome of *Drosophila* an evolved supernumerary chromosome? *BioEssays*, 18: 317-323.
- Håkansson, A. (1954). Transmission of accessory chromosomes in *Poa alpina*. *Hereditas*, 40: 523-526.
- Henriques-Gil, N. (1984). *El sistema de cromosomas accesorios de Eyprepocnemis plorans (Acrididae: Orthoptera)*. Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid.
- Henriques-Gil, N. & P. Arana (1990). Origin and substitution of B chromosomes in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Evolution*, 44: 747-753.
- Henriques-Gil, N.; P. Arana & J.L. Santos (1983). Spontaneous translocations between B chromosomes and the normal complement in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Chromosoma*, 88: 145-148.
- Henriques-Gil, N.; J.L. Santos & P. Arana (1984). Evolution of a complex polymorphism in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Chromosoma*, 89: 290-293.
- Herrera, J.A.; M.D. López-León, J. Cabrero, M.W. Shaw & J.P.M. Camacho (1996). Evidence for B chromosome drive suppression in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Heredity*, 76: 633-639.
- Hewitt, G.M. (1979). *Grasshopper and crickets. Animal cytogenetics*, vol. 3: *Insecta I Orthoptera*. Gebruder Borntraeger, Berlin Stuttgart, p.170.
- Hiremath, S.C. & H.N. Murthy (1986). The structure, stability and meiotic behaviour of B chromosomes in *Guizotia scabra* (vis.) Chiov. Ssp. *Scabra* (Compositae). *Caryologia*, 39: 397-402.

- Holmes, D.S. & S.M. Bougourd (1989). B-chromosome selection in *Allium schoenoprasum* II. Natural populations. *Heredity*, 63: 83-87.
- Ishak, B.; H. Jaafar, J.L. Maetz & Y. Rumpler (1991). Absence of transcriptional activity of the B-chromosomes of *Apodemus peninsulae* during pachytene. *Chromosoma*, 100: 278-281.
- Jackson, R.C. & K.P. Newmark (1960). Effects of supernumerary chromosomes on production of pigment in *Haplopappus gracilis*. *Science*, 132: 1316-1317.
- Jamilena, M.; C. Ruiz-Rejón & M. Ruiz-Rejón (1994). A molecular analysis of the origin of the *Crepis capillaris* B chromosome. *J. Cell Sci.*, 107: 703-708.
- Jamilena, M.; M. Garrido-Ramos, M. Ruiz-Rejón, C. Ruiz-Rejón & J.S. Parker (1995). Characterisation of repeated sequences from microdissected B chromosomes of *Crepis capillaris*. *Chromosoma*, 104: 113-120.
- Jiménez, M.M.; F. Romera, A. Gallego & M.J. Puertas (1995). Genetic control of the rate of transmission of rye B chromosomes. II. 0B x 2B crosses. *Heredity*, 74: 518-523.
- John, U.P.; C.R. Leach & J.N. Timmis (1991). A sequence specific to B chromosomes of *Brachycome dichromosomatica*. *Genome*, 34: 739-744.
- Jones, R.N. (1985). Are B chromosomes selfish? En: *The Evolution of Genome Size* (ed. T. Cavalier-Smith),. Wiley, London, UK, pp. 397-425.
- Jones, R.N. (1991). B-chromosome drive. *Am. Nat.*, 137: 430-442.
- Jones, R.N. (1995). Tansley review no. 85 B chromosomes in plants. *New Phytol.*, 131: 411-434.
- Jones, R.N. & M.J. Puertas (1993). The B-chromosomes of rye (*Secale cereale* L.). En: *Frontiers in Plant Science Research* (eds. K.K. Dhir and T.S. Sareen), Bhagwati Enterprises, Delhi (India), pp. 81-112.
- Jones, R.N. & H. Rees (1982). *B chromosomes*. Academic Press, N.Y., USA.
- Keyl, H.G. & K. Hägele (1971). B chromosomen bei *Chironomus*. *Chromosoma* 35: 403-417.
- Kimura, M. & H. Kayano (1961). The maintenance of supernumerary chromosomes in wild populations of *Lillium callosum* by preferential segregation. *Genetics*, 46: 1699-1712.
- López-Fernández, C.; R. Mezzanotte & J. Gosálvez (1992). Autosomal, sex and B chromosomes in *Eyrepocnemis plorans* (Orthoptera) viewed with restriction endonuclease *in situ* digestion. *Heredity*, 68: 365-372.



- López-León, M.D.; J. Cabrero, J.P.M. Camacho, M.I. Cano & J.L. Santos (1992a). A widespread B chromosome polymorphism maintained without apparent drive. *Evolution*, 46: 529-539.
- López-León, M.D.; M.C. Pardo, J. Cabrero & J.P.M. Camacho (1992b). Random mating and absence of sexual selection for B chromosomes in two natural populations of the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Heredity*, 69: 558-561.
- López-León, M.D.; J. Cabrero, M.C. Pardo, E. Viseras, J.P.M. Camacho & J.L. Santos (1993). Generating high variability of B chromosomes in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Heredity*, 71: 352-362.
- López-León, M.D.; N. Neves, T. Schwarzacher, T.S. Heslop-Harrison, G.M. Hewitt & J.P.M. Camacho (1994). Possible origin of a B chromosome deduced from its DNA composition using double FISH technique. *Chromosome Research*, 2: 87-92.
- Miao, V.P.; S.F. Covert. & H.D. VanEtten (1991a). A fungal gene for antibiotic resistance on a dispensable ('B') chromosome. *Science*, 254: 1773-1776.
- Miao, V.P.W.; D.E. Matthews & H.D. VanEtten (1991b). Identification and chromosomal locations of a family of cytochrome P-450 genes for pisatin detoxification in the fungus *Nectria haematococca*. *Mol. Gen. Genet.*, 226: 214-223.
- Mills, D. & K. McCluskey (1990). Electrophoretic karyotypes of fungi: the new cytology. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 3: 351-357.
- Müntzing, A. (1954). Cytogenetics of accessory chromosomes (B-chromosomes). *Caryologia Supplement* 6: 282-301 (Proceedings of the 9<sup>th</sup> International Congress of Genetics).
- Nur, U. (1962). A supernumerary chromosome with an accumulation mechanism in the lecanoid genetic system. *Chromosoma*, 13: 249-271.
- Nur, U. (1977). Maintenance of a "parasitic" B chromosome in the grasshopper *Melanoplus femur-rubrum*. *Genetics*, 87: 499-512.
- Nur, U. & B.L.H. Brett (1985). Genotypes suppressing meiotic drive of a B chromosome in the mealy bug *Pseudococcus obscurus*. *Genetics*, 110: 73-92.
- Nur, U. & B.L.H. Brett (1987). Control of meiotic drive of B chromosomes in the mealy bug *Pseudococcus affinis (obscurus)*. *Genetics*, 115: 499-510.
- Nur, U. & B.L.H. Brett (1988). Genotypes affecting the condensation and transmission of heterochromatic B chromosomes in the mealy bug *Pseudococcus affinis*. *Chromosoma*, 96: 205-212.

- Oliver, J.L.; F. Posse, J.M. Martínez-Zapater, A.M. Enríquez & M. Ruíz Rejón (1982). B chromosomes and E1 isoenzyme activity in mosaic bulbs of *Scilla autumnalis*. *Chromosoma*, 85: 399-403.
- Östergren, G. (1945). Parasitic nature of extra fragment chromosomes. *Bot. Notiser*, 2: 157-163.
- Palmer, J.D. (1995). Rubisco rules fall - Gene transfer triumphs. *Bioessays*, 17: 1005-1008.
- Parker, J.S.; S. Taylor & C.C. Ainsworth (1982). The B chromosome system of *Hypochoeris maculata*. III: Variation in B-chromosome transmission rates. *Chromosoma*, 85: 229-310.
- Plowman, A.B. & S.M. Bougourd (1994). Selectively advantageous effects of B chromosomes on germination behaviour in *Allium schoenoprasum* L. *Heredity*, 72: 587-593.
- Romera, F.; M.M. Jiménez & M.J. Puertas (1991). Genetic control of the rate of transmission of rye B chromosomes. I. Effects in 2B x 0B crosses. *Heredity*, 66: 61-65.
- Rosato, M.; A.M. Chiavarino; C.A. Naranjo; M.J. Puertas & L. Poggio (1996). Genetic control of B chromosome transmission rate in *Zea mays* ssp. *Mays* (Poaceae). *Am. J. Bot.*, 83: 1107-1112.
- Ruiz-Rejón, M.; F. Posse & J.L. Oliver (1980). The B chromosome system of *Scilla autumnalis* (Liliaceae): Effects at the isozyme level. *Chromosoma*, 79: 341-348.
- Ruiz-Rejón, M.; C. Ruíz-Rejón & J.L. Oliver (1987). La evolución de los cromosomas B: Existen cromosomas egoistas? *Investigación y Ciencia*, 133: 92-101.
- Sapre, A.B. & D.S. Deshpande (1987). Origin of B chromosomes in *Coix* L. through spontaneous interspecific hybridization. *J. Hered.*, 78: 191-196.
- Schartl, M.; I. Nanda, I. Schlupp, B. Wilde, J.T. Epplen, M. Schmidt & J. Parzefall (1995). Incorporation of subgenomic amounts of DNA as compensation for mutational load in a gynogenetic fish. *Nature*, 373: 68-71.
- Shaw, M.W. & G.M. Hewitt (1985). The genetic control of meiotic drive acting on the B chromosome of *Myrmeleotettix maculatus* (Orthoptera: Acrididae). *Heredity*, 54: 259-268.
- Shaw, M.W. & G.M. Hewitt (1990). B chromosomes, selfish DNA and theoretical models: where next? En: *Oxford Surveys in Evolutionary Biology*, Vol.7 (ed. D. Futuyma and J. Antonovics ), pp. 197-223.

- Shaw, M. W.; G.M. Hewitt & D.A. Anderson (1985). Polymorphism in the rates of meiotic drive acting on the chromosome of *Myrmeleotettix maculatus*. *Heredity*, 55: 61-68.
- Staub, R.W. (1987). Leaf striping correlated with the presence of B chromosomes in maize. *J. Heredity*, 78: 71-74.
- Tzeng, T.H.; L.K. Lyngholm, C.F. Ford & C.R. Bronson (1992). A restriction fragment length polymorphism and electrophoretic karyotype of the fungal maize pathogen *Cochliobolus heterostrophus*. *Genetics*, 130: 81-96.
- Werren, J.H. (1991). The paternal-sex-ratio chromosome of *Nasonia*. *Am. Nat.*, 137: 392-402.
- White, M.J.D. (1973). *Animal Cytology and Evolution*. 3rd ed. Cambridge University Press, London, UK.
- Wilson, E.B. (1907). The supernumerary chromosomes of Hemiptera. *Science*, 26: 870-871.