

Contribución a la citogenética del olivo

por

RAMÓN PARÉS FARRÁS

Laboratorio de Histología de la Facultad de Ciencias
(Universidad de Barcelona)

FRANCISCO J. RIERA

Jefe del Servicio de Fruticultura y Elaiotecnica (Diputación de Barcelona)
y Miembro del Instituto de Biología Aplicada (Sección Genética Agrícola)

I. — INTRODUCCIÓN¹

El impulso alcanzado por los trabajos citogenéticos en todos los países demuestra la importancia del análisis cariológico, particularmente para llegar a una sólida sistematización filogenética de los diversos grupos de plantas.

Si éstas son cultivadas, el conocimiento de sus estructuras cariológicas es doblemente interesante: por una parte, permite completar las clasificaciones taxonómicas establecidas dentro de la simplicidad del criterio puramente morfológico, y, por otra, interpretar los problemas de autoesterilidad e interesterilidad, a consecuencia de lo que resulta posible emprender su mejora genética, controlar y mejorar su rendimiento, etcétera.

Los resultados logrados en este sentido en el campo de la Cereali-cultura y Horticultura demuestran claramente el valor de estos trabajos. Bastaría recordar los inmensos beneficios que los estudios citogenéticos, aplicados al cultivo de los frutales han reportado a la producción frutícola para justificar su planteamiento en el olivo.

Clases frutales magníficas, pero autoestériles o interestériles, afectadas de esterilidad morfológica o citológicamente condicionada, logran actualmente excelentes producciones después de haber restaurado su fertilidad o haber conseguido determinar las combinaciones interfértiles con otras clases frutales buenas polinizadoras que se han intercalado en el cultivo.

Al análisis citogenético está reservado poner de manifiesto el origen híbrido de muchas de las clases de olivo y, de modo parecido a lo que ocurre en los frutales, poder considerar las numerosas estirpes cultivadas como formas de una serie poliploide, cuya productividad depende

1. Texto de la comunicación al XIII Congreso Internacional de Oleicultura celebrado en Madrid-Sevilla (año 1950) y publicado en volumen I de *Actas de Oleicultura*.

tanto de la ausencia o presencia de comunes factores de esterilidad como de las condiciones culturales y ecológicas.

II. — MATERIAL

El material estudiado procede de las colecciones experimentales del Servicio de Fruticultura y Elaiotecnica, en donde se reúnen un buen número de estirpes españolas y algunas portuguesas e italianas.

Se han fijado algunas células meristemáticas de los ápices radiculares a título de comparación. Dado que este material procede de plántulas obtenidas de semilla, es de desarrollo muy lento y posiblemente heterocigótico. Normalmente, el material fijado es de células madres de polen.

El fracaso durante los primeros años en la elección de buen material nos decidió a practicar una exploración previa de las jóvenes inflorescencias por aplastamiento de la antera sobre un porta y tinción por carmín acético.

Dada la rapidez de las mitosis en el olivo, se han fijado para cada estirpe tres muestras, que comprenden desde la diferenciación de los elementos goniales muy visibles hasta la aparición de las primeras tetrasporas, al objeto de fijar el máximo posible de metafases y anafases.

La selección de estos estadios ha ofrecido algunas dificultades, por no corresponder a un determinado tamaño de las inflorescencias y por su diversa visibilidad. Así, por ejemplo, las estirpes «Péndula», «Manzanilla», «San Agustino», «Santa Catalina», «Farga», «Morruda», etc., ofrecen mitosis perfectamente determinables por el método seguido de exploración. Por el contrario, en «Arbequina», «Empeltre», «Serrana», «Blanqueta», «Meña», «Nevadillo», «Xanglot», etc., la práctica nos ha aconsejado fijarlas durante varios días consecutivos hasta la aparición de las tetrasporas, para luego elegir las correspondientes a los dos días anteriores.

III. — TÉCNICA

En un estudio sobre material, tan extenso como el por nosotros tratado, se hace absolutamente necesario poder conservarlo, después de tomado del campo, por lo menos durante algunos meses. Por este motivo, resultan desapropiados los tratamientos de fijación y tinción simultáneas

en un estudio detenido. Sólo accidentalmente se ha hecho uso del carmín acético, y aun sobre material previamente fijado, lo que, por otra parte, no es muy aconsejable.

Aunque existen ciertas razones en su favor, tampoco creemos oportunos los métodos clásicos de inclusión en parafina.¹ Por lo menos, tienen el inconveniente de ser excesivamente lentos.

En resumen, se hace preciso elegir un método que, adaptándose por un lado a la naturaleza del material, sea, por otro, lo suficientemente rápido como para hacer posible el observar gran número de preparaciones en un tiempo razonable. El esquema del tratamiento seguido, con este propósito, es el siguiente:

I. Fijación.

(Darlington y La Cour, 1947)

Lavado.

Karpechenko 1 hora.

Lavado 5 minutos.

Alcohol de 70 % Hasta 3 meses.

II. Tinción.

Método 1.º (Darlington y La Cour, 1947)

Lavado.

Violeta cristalizada (sol. acu., 0,5 %) 3-10 min.

Lavado.

Lugol (1,1 %, IK, 1 % en alcohol de 80 %) 30-45 seg.

Alcohol de 95 % (lavado rápido).

Alcohol absoluto (deshidratación) 4-10 seg.

Aceite de clavos (diferenciación) 30 seg.

Xilol, Bálsamo neutro.

Las diferenciaciones y coloraciones más rápidas son las más recomendables.

Método 2.º (La Cour, 1937)

Lavado.

Violeta cristalizada 10 min.

Lavado.

Alcohol absoluto 2 seg.

Lugol 2 min.

Alcohol absoluto 2 seg.

Ácido crómico (sol. acu., 1 %) 15 seg.

1. La verdad de esta afirmación nos fué previamente conocida gracias a la labor verificada en este sentido por el doctor Vallmitjana, quien precisamente nos indicó la conveniencia de salir fuera del campo de las referidas técnicas.

Alcohol absoluto	5 seg.
Ácido crómico	15 seg.
Alcohol absoluto	10-15 seg.
Aceite de clavos	30 seg.
Xilol (cambiándolo 3 veces)	10 min.
Bálsamo neutro.	

Este segundo método proporciona quizá la mayor especificidad (exclusivamente cromosomas y nucleolo) y contraste.

La composición del líquido de Karpechenko es:

Ácido crómico, 2 %	100 cc.
Ácido acético, 20 %	67 cc.
Agua destilada	300 cc.
Formaldehido, 40 %	11 cc.

Darlington y La Cour (1947) lo recomiendan especialmente para fijación de células madres del polen.

De las jóvenes inflorescencias fijadas y conservadas en alcohol de 70 por 100, se separan una o dos yemas orales, que, después de lavadas en agua corriente, se disecarán cuidadosamente sobre un porta bien limpio. Con unas agujas se eliminan todos los fragmentos apreciables, de modo que sobre el porta sólo quede una extensión casi imperceptible de células, en su mayor parte, del tejido de las anteras. Después de un breve secado al aire (cinco o seis minutos) se puede empezar la tinción.

Resulta imprescindible trabajar exclusivamente con el objetivo de inmersión. Es muy eficaz, sobre todo cuando no se tiene muy acostumbrado el ojo a los contajes difíciles, el utilizar una cuadrícula micrométrica. En posesión de una copia de la misma, trazada sobre un papel, resulta posible recomenzar y repasar una enumeración tantas veces como se desee, puesto que la posición de cada cromosoma queda fijada por sus coordenadas aproximadas.

IV. — TAMAÑO, FORMA Y NÚMERO DE CROMOSOMAS

Los cromosomas de las células madres del polen son muy pequeños; su longitud en la metafase oscila entre 0,25 y 1 μ , y su anchura media, alrededor de 0,25 μ . Entre estos límites existe una gran diversidad de términos intermedios. Los cromosomas más pequeños se muestran, en estas condiciones, casi puntiformes. Los mayores son más bien alargados.

pero siempre más gruesos por el centro. Al principio de la profase ordinaria, y especialmente durante la profase meiótica, los cromosomas tienen un aspecto mucho más filamentoso. Resulta entonces extremadamente difícil individualizarlos por observación directa, debido tanto a su crecido número como al exiguo tamaño del núcleo. Esto último es probablemente la causa de que los cromosomas profásicos se fijen aquí de un modo muy deficiente, puesto que parece probarse que el volumen del jugo nuclear tenga decisiva influencia en la fijabilidad (White, 1942). En todo caso, las observaciones que se acaban de señalar conducirán a estimar, con algunas reservas, las imágenes profásicas de las células madres del polen en el olivo.

No es difícil darse cuenta, después de lo dicho, de que la posesión del centrómero en los distintos cromosomas resulte necesariamente difícil de fijar. Los datos que más tarde se darán en este sentido deben tomarse como el resultado de observaciones que han permitido ocasionalmente una interpretación concreta.

Dos parejas de cromosomas del juego somático destacan de un modo particular por su tamaño y, probablemente, también por su heteroploidia positiva. La nucleinización es muy variable y en ningún caso ha sido posible hallar un juego absolutamente homogéneo en tal aspecto. Como luego veremos, este hecho no está desprovisto de interés, sino que guarda íntima relación con ciertas alteraciones de la meiosis.

Los cromosomas de una de las parejas aludidas parecen poseer un satélite. Es notable la constancia con la que es posible evidenciar dicha estructura.

Sax y Abbe (1932) encontraron para el olivo el número haploide 23, número que Darlington (1945) considera básico para el género *Olea*. Sin embargo Almeida (1940) señaló para las variedades Gallega y Zambujo (salvaje) el número 24. Nosotros, en una serie extensa de variedades, hemos hallado algunos casos de poliploidismo y polisomía, excepción de los cuales el número gamético ha resultado regularmente de 23.¹ Es posible que Almeida no diese el número 24 como definitivo, sobre todo teniendo en cuenta que él mismo sugirió una revisión. También puede tratarse de una reduplicación particular de un cromosoma, fenómeno de ningún modo inverosímil. Quizá es más probable, teniendo en cuenta que el «Zambujo» es una clase salvaje, la pérdida de un cromosoma, en la dotación 24, por traslocación total del material genéticamente activo a otro cromosoma. Procesos de esta naturaleza han sido comproba-

1. El resultado de Almeida concuerda con el hallado anteriormente por Anderson (1931). Sin embargo, otras investigaciones recientes vuelven a la dotación 23. (Taylor, 1945.)

dos directamente en muchos casos (Sáez, 1931; White, 1940). De todos modos, sólo un minucioso examen citológico sobre el particular podrá dar una solución definitiva.

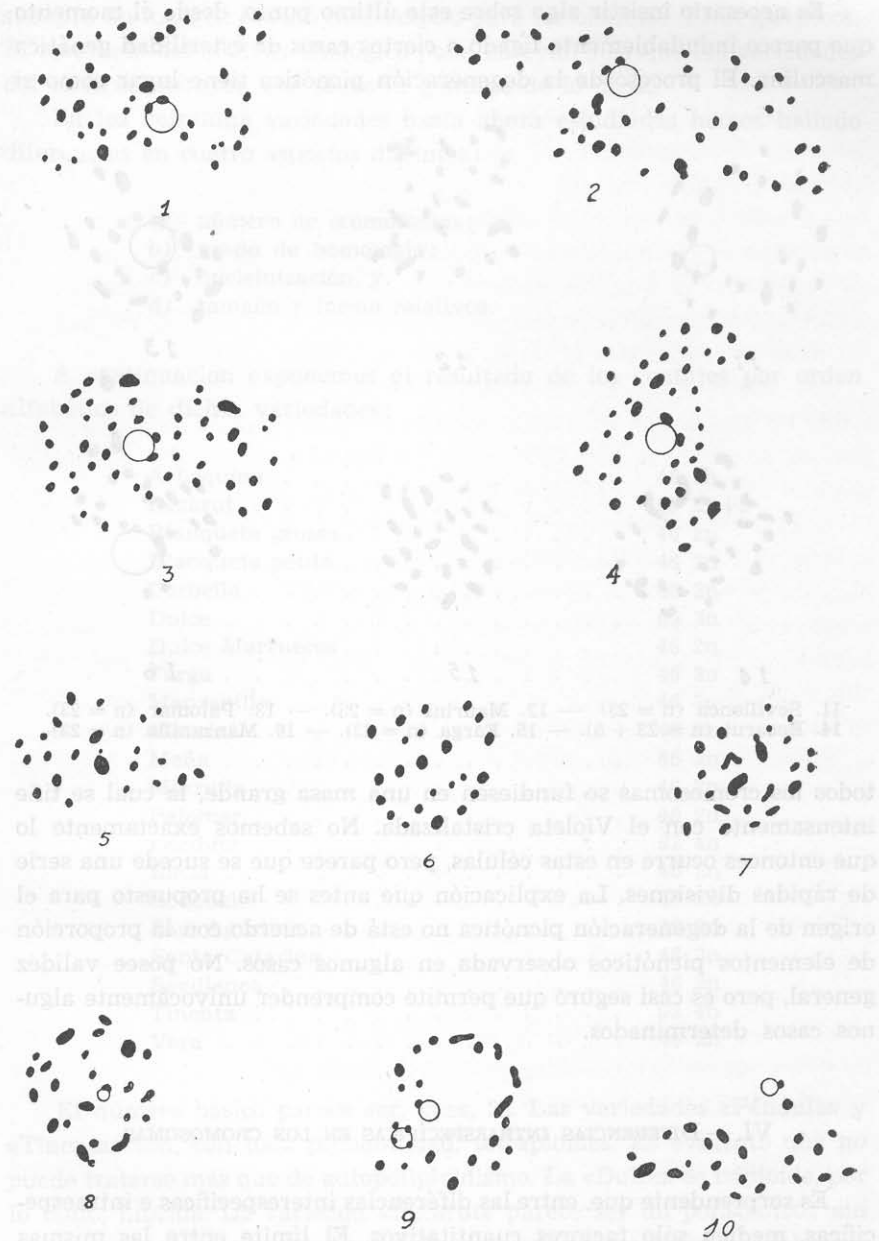
Aunque no creemos que sea éste el caso, es conveniente señalar aquí que, en circunstancias excepcionales, nosotros hemos hallado también una dotación $n = 24$. En la variedad San Agustino se hallan números haploides de 22, 23 y 24, aproximadamente, en la proporción 1:2:1. A través de lo que más adelante se expone, es perfectamente posible interpretar este hecho en el supuesto de que los cromosomas portadores de los organizadores nucleolares se comporten como univalentes. En este caso tienen una probabilidad de 0'25 de hallarse los dos en una misma célula después de la reducción. Apoya esta opinión el hecho de que en las citadas células ($n = 24$) existan dos nucleolos (véase ideograma 9).

V. — LOS ORGANIZADORES NUCLEOLARES Y EL NÚMERO DE NUCLEOLOS

Cada núcleo en reposo posee ordinariamente un nucleolo único. Al empezar la actividad divisional va perdiendo paulatinamente su clorabilidad, hasta el punto de desaparecer totalmente durante la prometáfase. En pequeña proporción, existen núcleos con dos nucleolos notablemente más pequeños que el anterior.

En las células diploides se presentan dos cromosomas en contacto con el nucleolo, visibles desde la profase media. Estos dos cromosomas son probablemente homólogos, puesto que en las células reducidas y en aquellas condiciones, sólo uno se hace normalmente visible. Parece verosímil el hecho de que los organizadores nucleolares de estos dos cromosomas puedan dar lugar ocasionalmente a dos nucleolos distintos.

Almeida (1940) señaló la presencia de los dos cromosomas aludidos, en la diacinesis. Es probable que existan en ellos porciones diferenciales extensas, hasta el punto de malograr el apareamiento en el zigoteno. Accidentalmente (teóricamente, con una probabilidad de 0'25), podrían ir al mismo polo en la anafase. En realidad, esto debe ocurrir en la proporción establecida, en los casos en que ambos cromosomas se comporten como univalentes. Es muy fácil que, por otra parte, estas células resulten totalmente inviables como granos de polen. Pero es más, quizá podrían dar razón de los núcleos picnóticos de ciertas células pequeñas, que parecen ser microsporos abortivos. Estas últimas se hacen particularmente aparentes en las variedades «Palomar», «Vera» y «Dulce».



1 y 2. Blanqueta grossa ($2n = 46$).

3 y 4. Blanqueta petita ($2n = 46$).

5. Santa Caterina ($n = 23$). — 6. Vera ($n = 23$). — 7. Arbequina ($n = 23$).

8. Morruda ($n = 23$). — 9. San Agustino ($n = 23$). — 10. Meña ($n = 23$).

Es necesario insistir algo sobre este último punto, desde el momento que parece indudablemente ligado a ciertos casos de esterilidad genética masculina. El proceso de la degeneración picnótica tiene lugar como si



11. Sevilla (n = 23). — 12. Maurini (n = 23). — 13. Palomar (n = 23).
14. Becarut (n = 23 + 5). — 15. Farga (n = 23). — 16. Manzanilla (n = 23).

todos los cromosomas se fundiesen en una masa grande, la cual se tiñe intensamente con el Violeta cristalizada. No sabemos exactamente lo que entonces ocurre en estas células, pero parece que se sucede una serie de rápidas divisiones. La explicación que antes se ha propuesto para el origen de la degeneración picnótica no está de acuerdo con la proporción de elementos picnóticos observada en algunos casos. No posee validez general, pero es casi seguro que permite comprender unívocamente algunos casos determinados.

VI. — DIFERENCIAS INTRAESPECÍFICAS EN LOS CROMOSOMAS

Es sorprendente que, entre las diferencias interespecíficas e intraespecíficas, medien sólo factores cuantitativos. El límite entre las mismas parece determinado por la capacidad de originar un mecanismo de aislamiento genético. Mientras que en la mayor parte de organismos animales esto se consigue con relativa facilidad, en las plantas superiores queda

siempre un margen mucho más amplio para los cambios intraespecíficos. El resultado del análisis citológico pone en evidencia que las variedades del olivo constituyen una muestra genuina de lo dicho.

En las veintiuna variedades hasta ahora estudiadas hemos hallado diferencias en cuatro aspectos distintos:

- a) número de cromosomas;
- b) grado de homología;
- c) nucleinización, y
- d) tamaño y forma relativos.

A continuación exponemos el resultado de los contajes por orden alfabético de dichas variedades:

Arbequina	46 2n
Becarut	55 2n+9
Blanqueta grossa	46 2n
Blanqueta petita	46 2n
Corbella	46 2n
Dulce	69 3n
Dulce Marruecos	46 2n
Farga	46 2n
Manzanilla	46 2n
Maurini	46 2n
Meña	46 2n
Morruda	46 2n
Palomar	46 2n
Péndula	92 4n
Racci	46 2n
Rodonella	46 2n
San Agustino	46 2n
Santa Catarina	46 2n
Sevillena	46 2n
Tinenta	92 4n
Vera	46 2n

El número básico parece ser, pues, 23. Las variedades «Péndula» y «Tinenta» son, con toda probabilidad, tetraploides. Es evidente que no puede tratarse más que de autoploidismo. La «Dulce» es triploide, por lo tanto, híbrida. La variedad «Becarut» parece ser un polisómico; sin embargo, es preciso constatar que la enumeración es insegura, debido a una gran variabilidad en los resultados obtenidos. Las demás poseen la dotación diploide normal. Más tarde volveremos a insistir sobre el alcance de estas variaciones en el número de cromosomas.

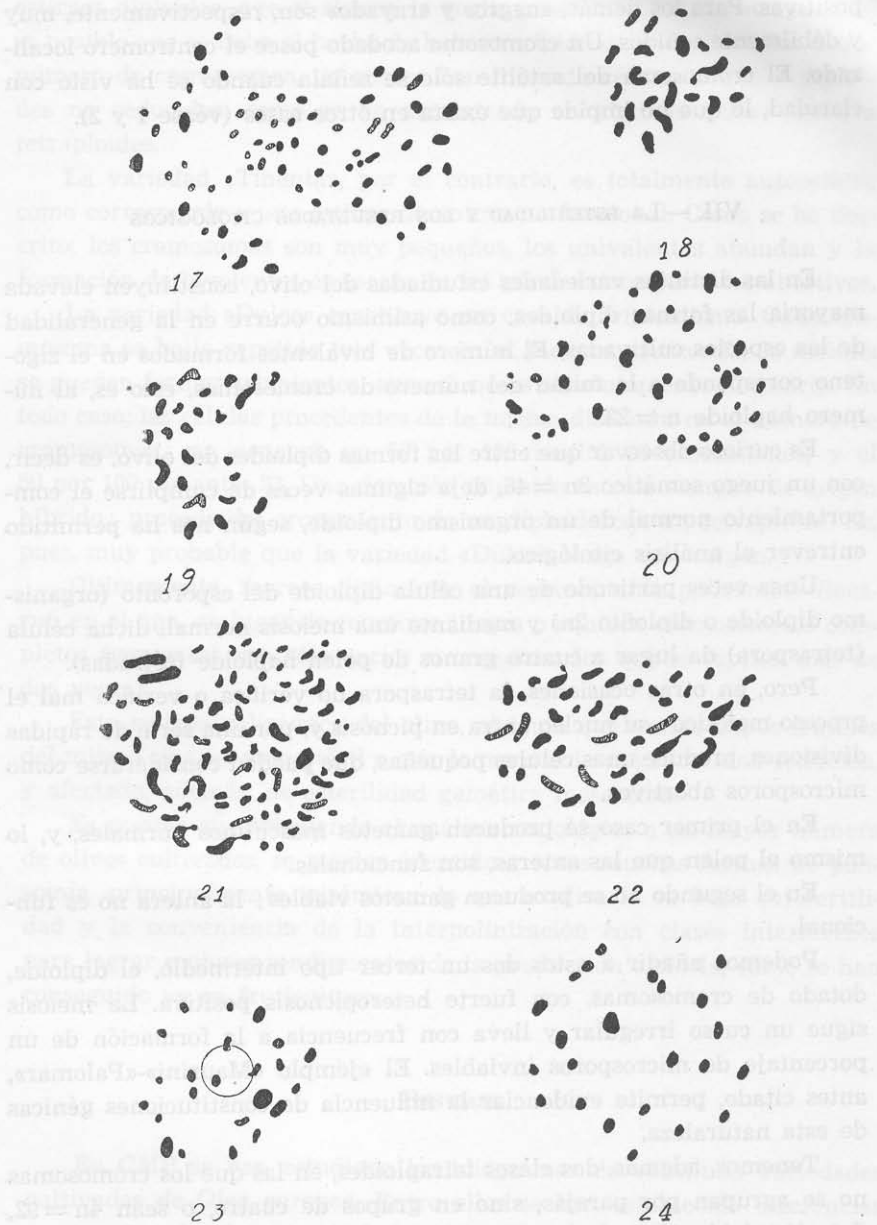
En el zigoteno se aparean los cromosomas homólogos y, en el diplo-teno, se forman algunos quiasmas (Almeida, 1940). No obstante, esto no es en el olivo absolutamente general. Lo normal es que se formen muchos univalentes, los cuales, o no se aparean, o si lo hacen, no forman ningún quiasma. Evidentemente, el grado de homología entre los dos juegos haploides, aunque variable, es en todo caso deficiente. No parece que esto se refiera únicamente a ciertas variedades cultivadas, Almeida (1940), en el «Zambujo», que, como ya sabemos, es salvaje, señaló la presencia de retardatarios, que, sin duda, deben interpretarse como univalentes. Nosotros los hemos observado en número de dos, y a veces de tres, de un modo particularmente claro, en la variedad «Morruda».

El origen de estos univalentes puede ser muy diverso y sólo adivinable en algunos casos. Puede tratarse de inversiones o traslocaciones, que en cromosomas pequeños serán suficientes para impedir el apareamiento. También es plausible la existencia de mutaciones génicas que interfieran en la formación de quiasmas, como sucede en *Nicotiana*, *Zea* y otras plantas (White, 1946). Sin embargo, la causa más extendida en el olivo parece radicar en la nucleinización. Por excesiva heteropicnosis positiva, el apareamiento puede ser impedido, incluso entre regiones homólogas; si logran aparearse no se forman quiasmas (Wilson, 1932; White, 1933). En las dotaciones diploides señaladas se observan 10 cromosomas con fuerte heteropicnosis, de las cuales cuatro destacan, muy singularmente. En la variedad «Maurini» no hay más que uno, mientras que en la variedad «Palomar» hay 16. En los dos casos de tetraploidismo se pueden formar univalentes, bivalentes, trivalentes y cuadrivalentes. La frecuencia de cada uno de ellos debe ser muy variable. Sin embargo, como los cromosomas son muy pequeños, la formación de multivalentes será siempre escasa. Efectivamente, los univalentes abundan en «Péndula» y «Tinenta», pese a que no ha sido posible el determinarlo cuantitativamente.

Existen una porción de diferencias en cuanto a la forma y tamaño relativos, entre los cromosomas de las distintas variedades. Sería prolijo describirlas, siendo más eficaz, a fin de hacerse cargo de ellas, los dibujos que se acompañan, los cuales están hechos aproximadamente a una misma escala. Hay que hacer notar que todos ellos son algo esquemáticos y, algunos, composición de varios originales directos.

El círculo en blanco representa el nucleolo. Su radio no es arbitrario, sino que corresponde, aproximadamente, a una misma escala en todos los casos.

Los cromosomas mayores siempre deben verse con heteropicnosis



17. Dulce ($3n = 69$). — 18. Rodonella ($n = 23$). — 19. Racci ($n = 23$).
 20. Tinenta ($n = 46$).
 21 y 22. Péndula ($2n = 92$; $n = 46$). — 23. Corbella ($n = 23$). — 24. Dulce
 de Marruecos ($n = 23$).

positivas. Para los demás, «negro» y «rayado» son, respectivamente, muy y débilmente teñidos. Un cromosoma acodado posee el centromero localizado. El cromosoma del satélite sólo se señala cuando se ha visto con claridad, lo que no impide que exista en otros casos (véase 1 y 2).

VII. — LA ESTERILIDAD Y LOS RESULTADOS CITOLÓGICOS

En las distintas variedades estudiadas del olivo, constituyen elevada mayoría las formas diploides, como asimismo ocurre en la generalidad de las especies cultivadas. El número de bivalentes formados en el zigoteno corresponde a la mitad del número de cromosomas, esto es, al número haploide $n = 23$.

Es curioso observar que entre las formas diploides del olivo, es decir, con un juego somático $2n = 46$, deja algunas veces de cumplirse el comportamiento normal de un organismo diploide, según nos ha permitido entrever el análisis citológico.

Unas veces partiendo de una célula diploide del esporofito (organismo diploide o diplofito $2n$) y mediante una meiosis normal, dicha célula (tetraspora) da lugar a cuatro granos de polen haploide (tétradas).

Pero, en otras ocasiones, la tetraspora no verifica o verifica mal el proceso meiótico; su núcleo entra en picnosis y, por una serie de rápidas divisiones, produce unas células pequeñas, que pueden considerarse como microsporos abortivos.

En el primer caso se producen gametos masculinos normales, y, lo mismo el polen que las anteras, son funcionales.

En el segundo no se producen gametos viables; la antera no es funcional.

Podemos añadir a estos dos un tercer tipo intermedio, el diploide, dotado de cromosomas, con fuerte heteropicnosis positiva. La meiosis sigue un curso irregular y lleva con frecuencia a la formación de un porcentaje de microsporos inviables. El ejemplo «Maurini»-«Palomar», antes citado, permite evidenciar la influencia de constituciones génicas de esta naturaleza.

Tenemos, además, dos clases tetraploides, en las que los cromosomas no se agrupan por parejas, sino en grupos de cuatro, o sean $4n = 92$, dotación doble de la de las formas diploides.

En estas dos stirpes, «Péndula» y «Tinenta», existe un hecho notable a consignar.

La primera acusa un mayor grado de autofertilidad que muchas

estirpes diploides, que si siguen la regla general de los alotetraploides, es posible que se deba al hecho de haber recibido de sus parentales doble número de cromosomas, ya que se han formado células sexuales diploides no reducidas, como se ha demostrado en algunas clases frutales tetraploides.

La variedad «Tinenta», por el contrario, es totalmente autoestéril, como corresponde a una estirpe de antera no funcional. Como se ha descrito, los cromosomas son muy pequeños, los univalentes abundan y la formación de bivalentes es escasa en los pocos microsporos no abortivos.

La variedad «Dulce» constituye un caso de triploidismo. Cada cromosoma se halla repetido tres veces en el juego somático. En la meiosis se pueden formar trivalentes, aunque no es absolutamente necesario. En todo caso, las células procedentes de la misma diferirán en el número de cromosomas; en general, un 50 por 100 tendrá 46 cromosomas, y el 50 por 100 restante, 23. Una dotación triploide es casi siempre de origen híbrido; procede del cruzamiento de un diploide con un tetraploide. Es, pues, muy probable que la variedad «Dulce» tenga este origen.

Últimamente, merece destacarse el representante polisómico Becarut, en el que, en lugar de repetirse juegos o equipos cromosómicos completos (genomas), son sólo varios cromosomas los que se repiten más de dos veces.

Esta estirpe polisómica del olivo, al igual que en las clases frutales del mismo tipo, es autoestéril o, por lo menos, de autofertilidad reducida, y afectada, además, de esterilidad gamética masculina.

Es posible que ampliando el análisis cariológico a un mayor número de olivos cultivados, se puedan identificar otras muchas formas de polisomía, principalmente trisómicas, lo que explicaría su baja autofertilidad y la conveniencia de la interpolinización con clases interfértiles para lograr mejores rendimientos de la producción oleícola, como se han conseguido ya en fruticultura.

RESUMEN

En CMP se han estudiado los idiogramas de veintiuna variedades cultivadas de *Olea europea*. Entre ellos se han establecido diferencias en cuanto al número, grado de homología, nucleinización, forma y tamaño de los cromosomas. El número básico ha resultado ser 23. Se ha sugerido la existencia de siete sistemas genéticos intraespecíficos: diploides típicos (fértiles), diploides afectados de involución picnótica

(esterilidad microspórica), alotetraploides (fértils), tetraploides (esterilidad microspórica), diploides con cromosomas heteroploicnóticos (parcialmente estériles), triploides (estériles) y polisómicos (estériles). Se expone el comportamiento de los cromosomas observado en cada uno de estos casos.

LITERATURA CITADA

1. ALMEIDA, F. J. — 1940. — *Safra e contra safra na oliveira*. Ministerio de Agricultura. Lisboa.
2. ANDERSON, A. — 1931. — *Studien uber die Embryologie der Familien lastraceae Oleaceae und Apocynaceae*. Lunds Universitets Arsskrift.
3. DARLINGTON, C. D., and JANAKI AMMAL, E. K. — 1945. — *Chromosome Atlas of Cultivated Plants*. Allen and Unwin. London.
4. DARLINGTON, C. D., and LA COUR, L. F. — 1947. — *The Handling of Chromosomes*. Second Edition. Allen and Unwin. London.
5. LA COUR, L. F. — 1937. — *Improvements in plant cytological technique*. Bot. Rev., 5, 241.
6. SÁEZ, F. A. — 1931. — *Cromosomas múltiples en Aleuas vitticollis*. Rev. d. Mus. d. La Plata, 33, 189.
7. SAX, K., and ABBE, E. C. — 1932. — *Chromosome numbers and the anatomy of the secundari xylem in the Oleaceae*. Jour. Arnold Arboretum, 13 (1), 37.
8. TAYLOR, H. — 1945. — *Cyto-tasonomy and philogeny of the Oleaceae*. Brittonia, 5, 337.
9. WHITE, M. J. D. — 1933. — *Tetraploid spermatocytes in a Locust, Schistocerca gregaria*. Cytologia, 5, 135.
10. WHITE, M. J. D. — 1940. — *A translocation in a wild population of Grasshoppers*, Jour. Hered., 31, 137.
11. 1942. — *Nucleus, Chromosomes and Genes*. (Chapter VI of Cytology and Cell Physiology. Oxford University Press.)
12. 1942. — *The Chromosomes*. London.
13. WILSON, E. B. — 1932. — *Polyploidy and metaphase patterns*. Jour. Morph., 53, 443.