



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

EFFECTO DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES SOBRE EL  
POLIMORFISMO CROMOSÓMICO EN UNA POBLACIÓN  
NATURAL DE *D. pseudoobscura* DE TULANCINGO, HIDALGO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A  
P R E S E N T A:

VERÓNICA NANCY GRANADOS FLORES



DIRECTORA DE TESIS:  
DRA. JUDITH ISABEL GUZMÁN RINCÓN  
2014



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 esta 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.

## AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi infinito agradecimiento:

A la Universidad Nacional Autónoma de México, a la Facultad de Ciencias, al Centro de Ciencias de la Atmósfera y al CONACyT, por acogerme dentro de sus instalaciones y brindarme de apoyo intelectual y económico, gracias a la beca de ayudante de investigación que se me otorgó, así como por hacer de mí una persona profesional.

A mis compañeros de clase, con quienes compartí el fascinante mundo de la Biología y del conocimiento, dentro y fuera del aula, pero más que eso, son ustedes para mí compañeros de vida, con quienes he vivido emocionantes experiencias: Ana Hernández, Yuridia Pérez, Diana Granados, Aketzalli González, Omar Regalado, Carlos Jair, Esmeralda Rodarte, Maribel Hernández, Sarahí Curiel y por supuesto a Israel Ayala, por compartir conmigo todas esas vivencias y ser cómplice de mis más profundos sueños y temores.

A todo el equipo de Ciencia Recreativa del museo de las ciencias "*Universum*", en especial a Luis Meza, Clarita, Nancy, Pao, Aliz, Janis, Fátima, Roma, Ariana, Luis A. y Pako. Ustedes me han enseñado la pasión por compartir el conocimiento, la importancia de la divulgación de la ciencia y del trabajo en equipo.

Al Dr. Rafael Villalobos, al Dr. Víctor Salceda y sobre todo a la Dra. Judith Guzmán, a quienes admiro profundamente por ser expertos genetistas con gran humildad y ser de una calidad humana incomparable, gracias por dirigirme, sepan que han sido pilares en mi formación académica.

A la M. en C. María Eugenia Heres, al Dr. Manuel Uribe y a la Dra. Judith Jiménez Guzmán por tomarse el tiempo y la dedicación de revisar mi trabajo, siempre estuvieron dispuestos a explicarme, ayudarme y a darme sus comentarios para mejorar el trabajo.

A el Ing. Eduardo Fernández Parriego, el Lic. Guillermo Jiménez Guzmán, a la Lic. Diana Guzmán Rincón, a Paulina y a Tayra, así como al Sr. Darío Ortega, a todos ustedes por hacer posibles mis viajes al campo, pero más que eso, por hacer de mis colectas una verdadera aventura inolvidable.

Al Ing. Alan Ortega, por ser mi amigo y porque siempre que ha bajado su mirada es para tender su mano y ayudarme a levantar. A Consuelo Lemus y Lucía Cortés, por mostrarme las cosas desde otra perspectiva y aclarar el agua turbia de mis pensamientos.

A mi familia, que han estado siempre a mi lado, apoyándome en todo momento, brindándome su ejemplo y su amor incondicional. Sepan que sobre todas las cosas les tengo gran respeto, admiración y cariño, les amo infinitamente. A ti Javier Granados Cruz valoro todo lo que sacrificaste para que yo tuviera una buena educación, no puede haber tenido un padre más sobresaliente; a ti Ma. Del Refugio Flores Zaragoza reconozco que eres la madre más amorosa y fuerte que conozco, has soportado tantas cosas por verme feliz y porque siga adelante, no pude haber tenido una mejor madre. Con ustedes comparto la misma sangre y los mismos valores, de ti Angélica Haydeé Granados Flores agradezco tus palabras, te admiro por representar para mi coraje y voluntad. De ti Claudia Ivette Granados Flores agradezco que con tu ejemplo me hayas enseñado a luchar por lo que quiero y no rendirme jamás. Y de ti, la más pequeña, Lucero Anahy Granados Flores, eres una luz que siempre me recuerda ser humilde y amar al prójimo como a uno mismo. A Marisa Hinojosa, por arrebatarme sonrisas.

Por último, agradezco a Dios por presentarme a las personas precisas justo en el lugar y en el momento exacto.

**A mi madre y a mi padre**

**María y Javier**

# ÍNDICE

<b>ABREVIATURAS</b>	<b>8</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>10</b>
2.1 LA ESPECIE <i>Drosophila pseudoobscura</i>	10
2.2 TAXONOMÍA	10
2.3 CICLO VITAL GENERAL DE <i>Drosophila</i>	14
2.3.1 Estados y duración	14
2.3.2 Huevo	16
2.3.3 Estadios larvarios	17
2.3.4 Pupación	18
2.3.5 Reconocimiento del sexo de la mosca adulta	19
2.4 ÁREA DE DISTRIBUCIÓN Y HÁBITAT	20
2.5 CROMOSOMAS POLITÉNICOS	22
2.5.1 Inversiones Cromosómicas	25
<b>ANTECEDENTES</b>	<b>30</b>

3.1 CICLO DE VIDA	30
3.2 CARÁCTER ADAPTATIVO DE LAS INVERSIONES CROMOSÓMICAS	30
3.3 FILOGENIA Y EVOLUCIÓN	31
3.4 VARIACIÓN EN LAS FRECUENCIAS LAS FORMAS POLIMÓRFICAS CROMOSÓMICAS DE <i>Drosophila</i>	32
3.5 EFECTO DEL CAMBIO AMBIENTAL SOBRE LAS ESPECIES	34
<b>OBJETIVOS</b>	<b>37</b>
4.1 GENERALES	37
4.2 PARTICULARES	37
<b>MATERIAL Y MÉTODO</b>	<b>39</b>
5.1 CICLO DE VIDA DE <i>Drosophila pseudoobscura</i>	39
5.1.1 Cronología del desarrollo	39
5.1.2 Viabilidad huevo-adulto	39
5.1.3 Longevidad	40
5.2 POLIMORFISMO CROMOSÓMICO	41
5.2.1 Zona de muestreo	41
5.2.2 Colecta de material biológico	43
5.2.3 Identificación y siembra	45
5.2.4 Disección de larva y obtención de cromosomas	46

5.3 VARIABLES HIDRO-CLIMÁTICAS	47
5.4 ANALISIS ESTADÍSTICO	48
<b>RESULTADOS</b>	<b>50</b>
6.1 CICLO DE VIDA DE <i>Drosophila pseudoobscura</i>	50
6.1.1 Cronología del desarrollo	50
6.1.2 Viabilidad huevo-adulto	51
6.1.3 Longevidad	52
6.2 POLIMORFISMO CROMOSÓMICO Y CAMBIO AMBIENTAL	54
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>62</b>
7.1 CICLO DE VIDA DE <i>D. pseudoobscura</i>	62
7.2 POLIMORFISMO CROMOSÓMICO Y CAMBIO AMBIENTAL	62
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>65</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>66</b>

# ABREVIATURAS

CCG: Cambio Climático Global

CH: Chiricahua

CU: Cuernavaca

EMA: Estación Meteorológica Automática

EP: Estes Park

ESIME: Estación Sinóptica Meteorológica

EVP: Evaporación

HI: Hidalgo

OA: Oaxaca

OL: Olympic

PCP: Precipitación

PO: Popocatépetl

PP: Pikes Peak

ST: Standard

SC: Santa Cruz

TA: Tarasco

Tmax: Temperatura máxima

Tmin: Temperatura mínima

TL: Tree-Line



# INTRODUCCIÓN

## 2.1 LA ESPECIE *Drosophila pseudoobscura*

Los drosofilidos son dípteros que se han especializado en obtener el alimento a partir de productos vegetales en descomposición, su fuente principal de alimentación son las levaduras y las bacterias que fermentan estos materiales (Arboleda, 2008).

Las características de las especies del género *Drosophila* las han convertido en un sistema biológico modelo. La facilidad de captura, manejo en el laboratorio, corto tiempo de generación y elevado número de descendientes así como el bajo costo de su mantenimiento han permitido realizar gran cantidad de estudios en los que se han utilizado especies de este género abarcando campos muy variados como la Sistemática, la Ecología, la Genética de Poblaciones, la Genética Toxicológica y la Biología Molecular entre otros (Arboleda, 2008).

## 2.2 TAXONOMÍA

La familia Drosophilidae incluye más de 3,000 especies, de las que alrededor de 2000 pertenecen al género *Drosophila*. Este género se divide en tres subgéneros: *Idiomya*, *Sophophora* y *Drosophila*.

El grupo *obscura* de *Drosophila*, uno de los 7 subgrupos de Sophopora, se originó en África y posteriormente colonizó las regiones templadas del norte, tanto de las zonas paleártica como neártica, en donde actualmente se encuentran gran número de representantes. Datos moleculares (Goddard *et al.*, 1990) indican que la separación entre las especies paleárticas y neárticas es más reciente de lo que anteriormente se consideraba y que posiblemente las especies de América del Norte se originaron a partir de la migración de una población del Viejo Mundo a través del estrecho de Bering. El grupo *obscura* está formado por cuatro subgrupos: *obscura*, *pseudoobscura*, *affinis* y *microlabis*, el grupo incluye aproximadamente 35 especies. El subgrupo *obscura* lo integran las especies del Viejo Continente, mientras que los subgrupos *pseudoobscura* y *affinis* reúnen a las especies del Nuevo Mundo. El subgrupo *microlabis* está formado por especies africanas.

Sturtevant (1942) inicialmente dividió el grupo *obscura* en dos subgrupos (*obscura* y *affinis*) basándose en el número de agujas de las quetas acrosticales, el número de las púas de los peines tarsales de los machos y la forma de los testículos.

Posteriormente, Lakovaara y Saura (1982) y Beckenbach *et al.* (1993) consideraron que había suficientes diferencias entre los miembros neárticos y los paleárticos del subgrupo *obscura* como para dividirlos en dos subgrupos diferentes: así, propusieron una clasificación que organiza a las especies del grupo *obscura* en 3 subgrupos: *pseudoobscura*, formado por 6 especies del oeste de Norteamérica; *obscura*, constituida por unas 17 especies paleárticas y *affinis*, que engloba especies neárticas junto con la especie paleártica *D. helvética*. La única especie del grupo presente en el África tropical, *D. microlabis*, se mantuvo en un principio dentro del subgrupo *obscura*. Sin embargo, se descubrieron

posteriormente en esta región 3 nuevas especies del grupo (Tsacas *et al.*, 1985; Cariou *et al.*, 1988) y se propuso así la formación del subgrupo *microlabis* para incluir las 4 especies de África tropical del grupo.

Una de las últimas divisiones en subgrupos la propuso Barrio *et al.* (1994) que excluye 3 especies del subgrupo *obscura* (*Drosophila subobscura*, *D. maderensis* y *D. guanche*) para formar el nuevo subgrupo *subobscura*. De esta manera, el grupo *obscura* quedaría dividido en 5 subgrupos: *affinis* y *pseudoobscura*, con especies típicas de Norteamérica *obscura* y *subobscura*, típicas de Europa y *microlabis*, típico de África (Figura 1).

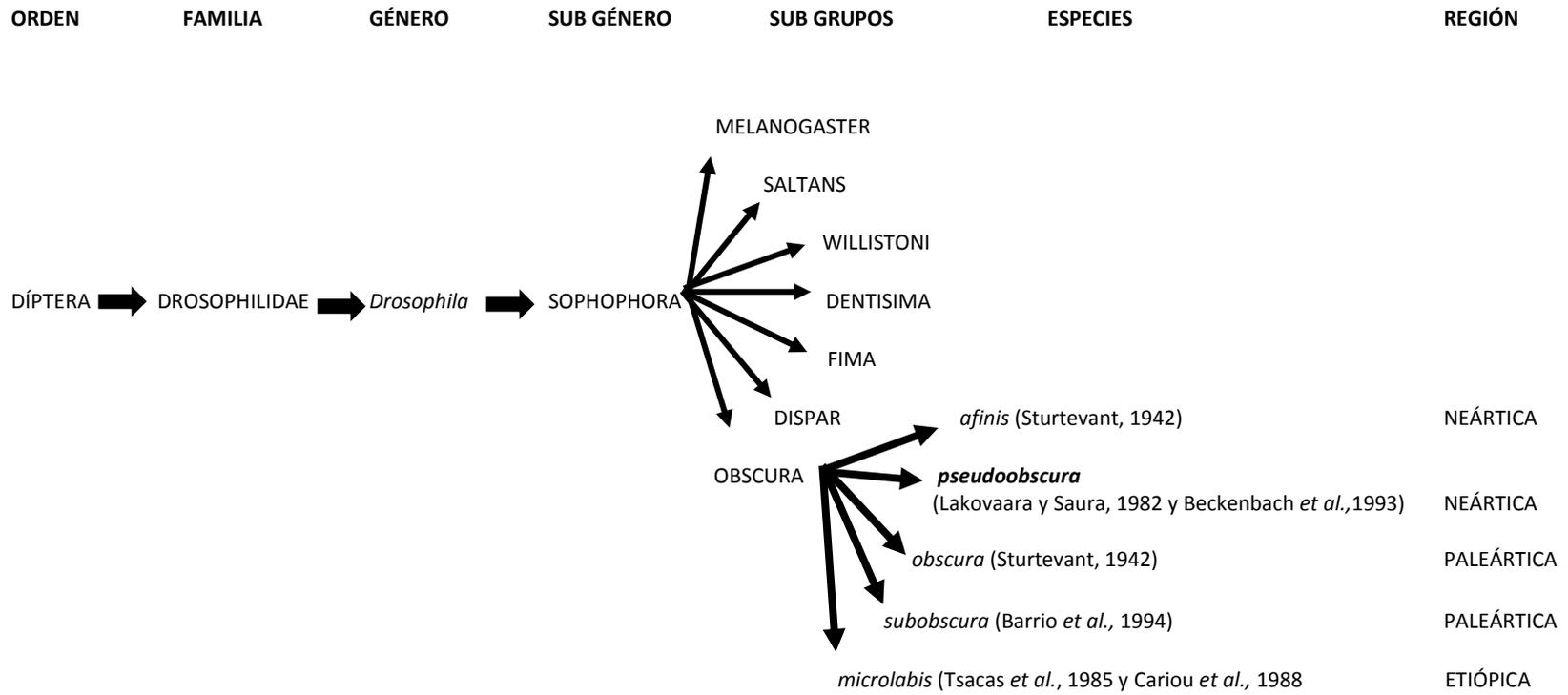


Figura 1. Clasificación del grupo *obscura* (modificado de Céspedes, 2006).

## 2.3 CICLO VITAL GENERAL DE *Drosophila*

Las etapas del ciclo de vida en el género *Drosophila* son muy semejantes y dado que el más documentado es el de *D. melanogaster*, la descripción general del ciclo de vida se basa en los datos obtenidos para esta especie. Como parte de este trabajo, se investigará más sobre aspectos biológicos de *D. pseudoobscura* y se definirá la duración de las etapas de su ciclo.

### 2.3.1 Estados y duración

El desarrollo embrionario a partir de la fertilización y formación del cigoto, tiene lugar dentro de las membranas del huevo. El huevecillo produce una larva que al alimentarse y crecer se transforma en pupa, que a su vez, se transforma en “imago” o adulto (Figura 2). La duración del ciclo varía con la temperatura. Los cultivos de *Drosophila* deben conservarse en un lugar donde la temperatura no baje a 20°C ni sea mayor de 25°C. La exposición continua de los cultivos a temperaturas superiores a 30°C, puede causar la esterilidad o muerte de las moscas; a temperaturas bajas, la viabilidad se reduce y el ciclo se alarga notablemente. La temperatura dentro del frasco puede ser ligeramente superior a la del aire ambiental, debido al calor procedente de la fermentación del medio de cultivo (Kaufman, 1962).

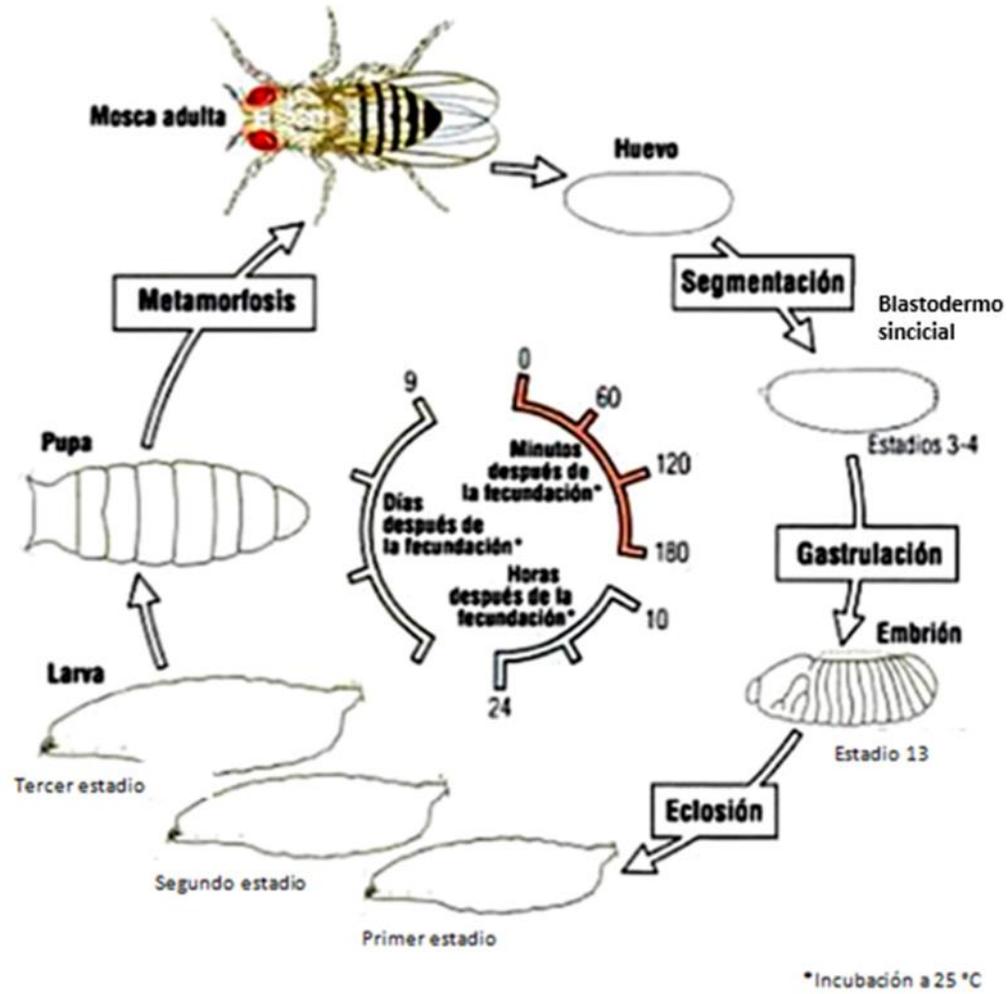


Figura 2. Ciclo de vida de *Drosophila melanogaster* (Tomado de Lewis, 2010).

### 2.3.2 Huevo

El huevo tiene aproximadamente medio milímetro de longitud. El lado dorsal es más aplanado que la superficie ventral ligeramente curva. La membrana externa o corión, es opaca y tiene hexágonos “dibujados” en la superficie. El par de filamentos que se extienden en la región anterodorsal, evitan que se hunda el huevo en la superficie blanda del alimento donde es depositado (Figura 3). La penetración del espermatozoide tiene lugar a través de una pequeña abertura o micrópilo en la saliente cónica del extremo anterior, durante el recorrido que hace el huevecillo dentro del útero. Muchos espermatozoides pueden penetrar en el huevo, aunque normalmente sólo uno interviene en la fecundación. Los espermatozoides quedan almacenados en la hembra después de la cópula. Las divisiones meióticas se realizan inmediatamente después de la penetración del espermatozoide, integrándose el núcleo del óvulo (pronúcleo femenino). Posteriormente el núcleo del espermatozoide y el del óvulo se unen para formar el núcleo del cigoto, que se divide para dar los dos primeros núcleos de segmentación, lo que representa el estado inicial del desarrollo del embrión. La madre deposita los huevecillos poco tiempo después de que el esperma penetró en ellos o bien los retiene en el útero durante los estadios más tempranos del desarrollo embrionario (Kaufman, 1962).

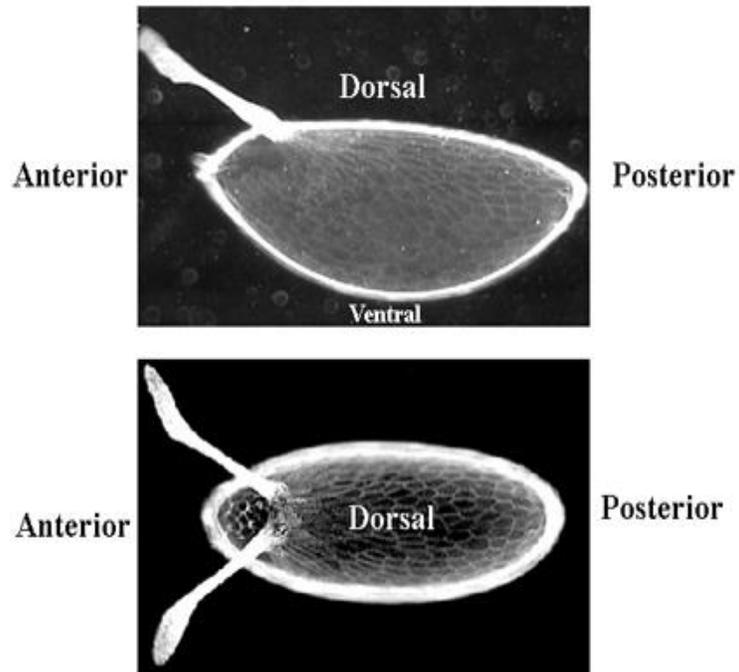


Figura 3. Microfotografía de huevecillos de *Drosophila*. Arriba vista lateral, abajo vista dorsal que muestran el córion. En la vista lateral es notable el contraste entre la superficie dorsal aplanada y la superficie ventral redondeada (tomado de: [http://www.zoology.ubc.ca/~bio463/lecture\\_13.htm](http://www.zoology.ubc.ca/~bio463/lecture_13.htm)).

### 2.3.3 Estadios larvarios

La larva, después de salir del huevo sufre dos mudas, de modo que el periodo larvario consta de tres estadios (*instars*). En el último o tercer estadio, alcanza una longitud de 4.5 milímetros aproximadamente (Figura 4). Las larvas son tan activas y voraces, que el medio de cultivo en el que viven, pronto se ve recorrido por surcos y canales. Cabe mencionar que, para el estudio de cromosomas en división, las mejores células proceden del ganglio de la larva y las glándulas salivales de la larva en su tercer estadio que contienen cromosomas gigantes en los que se pueden reconocer diversas alteraciones o rearrreglos cromosómicos (Kaufman, 1962).



Figura 4. Microfotografía de barrido de la larva de *Drosophila melanogaster* en el segundo estadio, a una escala de 0.1 mm (Tomado de Lewis, 2010).

#### 2.3.4 Pupación

Cuando la larva se está preparando para pupar se retira del medio de cultivo fijándose a la superficie relativamente seca de la pared del frasco. *Drosophila* pupa dentro de la última cubierta larvaria que es al principio suave y blanquecina, pero lentamente se hace dura y se oscurece. La transformación culmina en el desarrollo de un individuo que ya tiene la forma del cuerpo y órganos del imago (Figura 5). Cuando la metamorfosis llega a su fin, emerge el adulto rompiendo el extremo anterior de la envoltura puparia. La mosca es muy larga al principio, con las alas aún sin extender. En poco tiempo las alas se extienden, y el cuerpo gradualmente toma la forma definitiva (Kaufman, 1962).

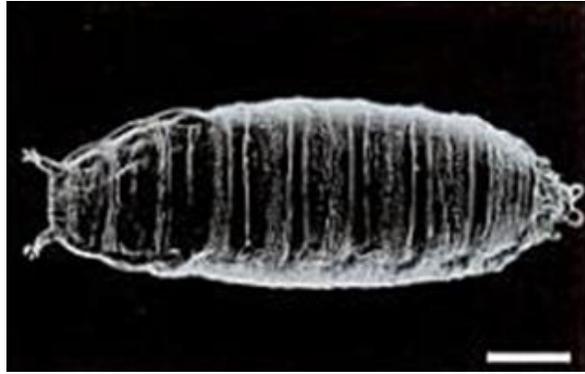


Figura 5. Microfotografía de barrido de una pupa de *Drosophila* a una escala de 0.1 mm (Tomado de Lewis, 2010).

### 2.3.5 Reconocimiento del sexo de la mosca adulta

En *D. pseudoobscura* las hembras y los machos pueden distinguirse entre sí por diversas vías. El extremo del abdomen es alargado en la hembra y algo redondeado en el macho. A medida que la hembra crece y el abdomen aumenta de volumen por los huevecillos maduros que contiene se hace fácil la distinción del sexo por dicha característica a simple vista. El abdomen de la hembra tiene siete segmentos que son fácilmente visibles con bajo aumento, mientras que el abdomen del macho tiene solamente cinco. Los machos tienen peines sexuales que consisten en una fila de aproximadamente diez cerdas gruesas en la superficie distal del segmento tarsal basal (superior) de la pata anterior. En la hembra faltan tales cerdas (Kaufmann, 1962). El macho es ligeramente de menor tamaño que la hembra y el abdomen de la hembra es blanco mientras que el del macho es más bien rojo (Figura 6).



Figura 6. Fotografía de *Drosophila pseudoobscura*. A la izquierda la hembra, se puede notar el abdomen blanco y la forma alargada del oviducto. A la derecha se observa al macho, que es de menor tamaño, con el abdomen rojo y redondeado.

## 2.4 ÁREA DE DISTRIBUCIÓN Y HÁBITAT

Su distribución geográfica abarca la Columbia Británica en Canadá, el oeste de EUA, México y Guatemala (Figura 7) y habita en sitios de clima templado, de preferencia en bosques mesófilos de pino-encino (Figura 8), en zonas no habitadas por el humano. Posiblemente debido a las condiciones geográficas y climatológicas no se encuentra en América Central, pero reaparece nuevamente en el altiplano colombiano, como otra subespecie que pudo haberse establecido hace aproximadamente 155,000 a 230,000 años (Schaffer y Miller, 1991; Wang *et al.*, 1997; Machado *et al.*, 2002; Machado y Hey, 2003).

Figura 7. Área de distribución de *Drosophila pseudoobscura*.

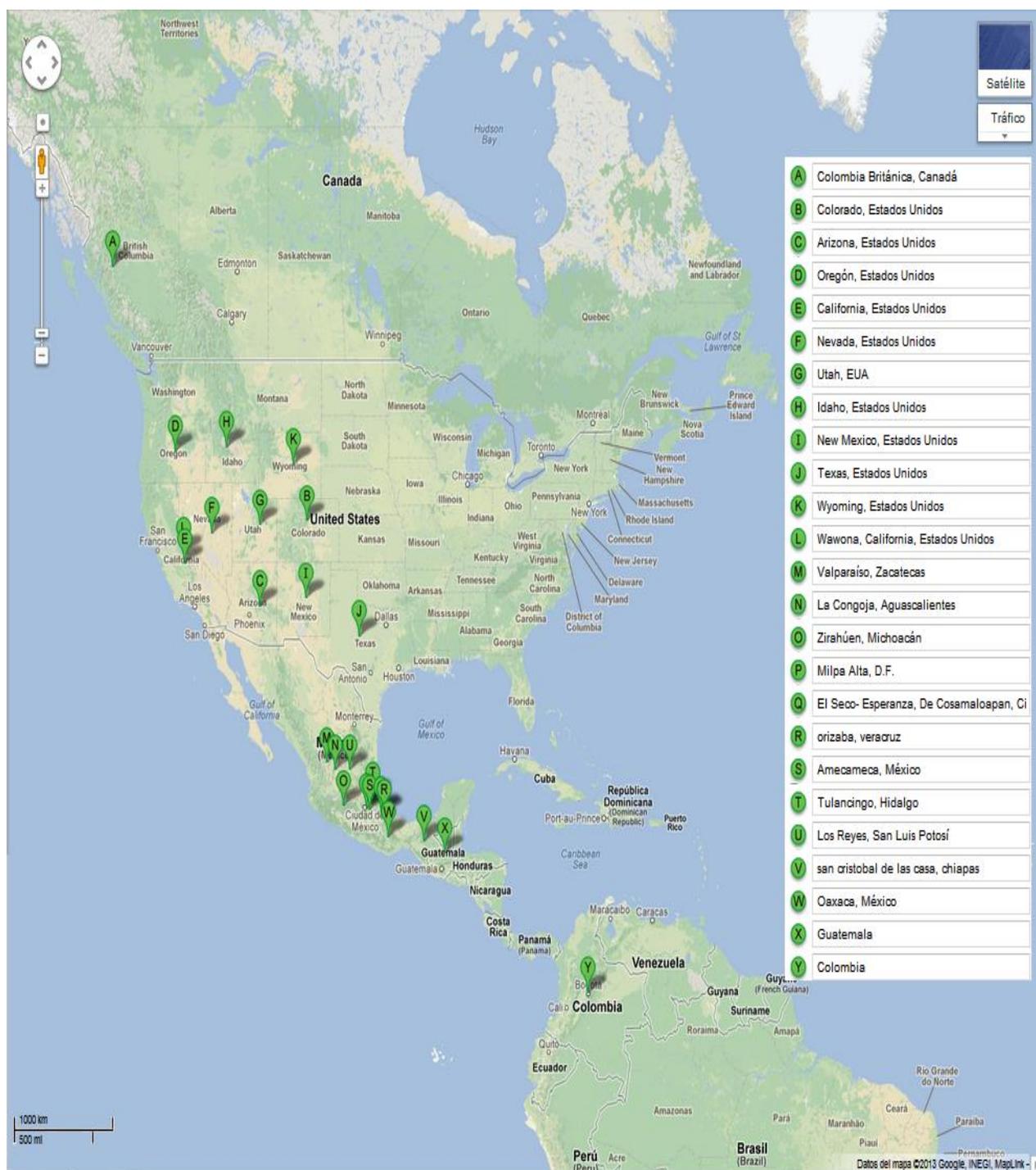




Figura 8. Bosque de encino ubicado en Tulancingo, Hidalgo y que es característico del tipo de hábitat en el que se encuentra *Drosophila pseudoobscura*.

## 2.5 CROMOSOMAS POLITÉNICOS

En 1881, E. G. Balbiani encontró estructuras peculiares en los núcleos de ciertas células secretoras de los dípteros (Tamarin, 1996). Sin embargo, éstas no fueron reconocidas como cromosomas sino hasta 1933 cuando T. Painter, E. Heitz y H. Bauer los redescubrieron y analizaron la constancia que presentan en el arreglo y densidad relativa las diferentes bandas o discos de que se componen (Painter, 1934); entonces establecieron que dichas estructuras eran realmente cromosomas y las denominaron cromosomas politénicos (Figura 9). Se ha descrito la presencia de este tipo de cromosomas en tejidos

secretores como túbulos de Malpighi, recto, intestino y glándulas salivales de dípteros (Ramos y Guzmán, 2011).

La politenia es una forma especial de poliploidía. Los cromosomas politénicos se originan durante el ciclo celular atípico al inicio de la fase larvaria. El inicio de la politenia queda señalado por el estrecho acercamiento de los cromosomas homólogos en una forma que recuerda a la asociación de los cromosomas en la profase meiótica. Una vez alcanzado este arreglo las células entran al proceso de endomitosis, en el cual el ciclo celular tiene únicamente por una fase G y una fase S sucesivas, sin mitosis, de manera que en cada ciclo, el material genético se duplica sin que se lleve a cabo la segregación de los cromosomas replicados.

De esta manera, en las glándulas salivales de las larvas de *Drosophila* se presentan cromosomas politénicos (o cromosomas gigantes) que se forman por la unión de 1,024 moléculas de DNA resultado de la unión entre los homólogos y que permanecen integrados en una sola estructura, lo que hace evidente la presencia de bandas de diferente espesor y afinidad cromática en patrones característicos a cada cromosoma (Figura 10), y en consecuencia, propias de cada especie de *Drosophila* (Ramos y Guzmán, 2011) y los cuales se ha demostrado que son una herramienta útil en el estudio de la genética (Guzmán *et al.*, 2006).

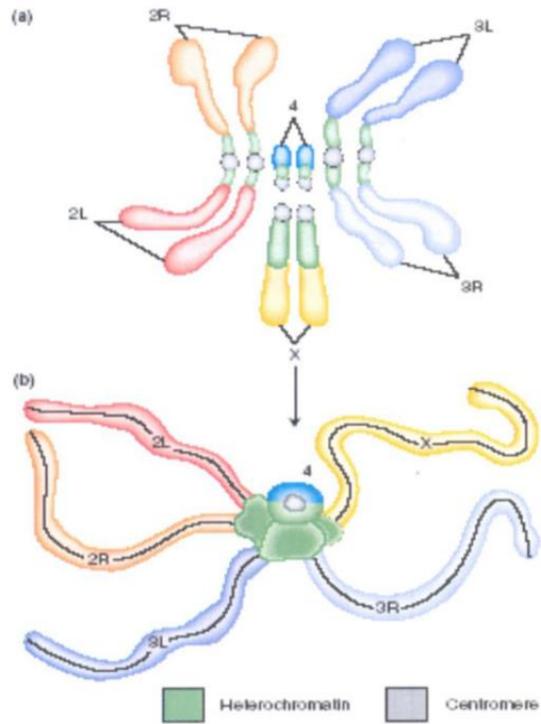


Figura. 9 Esquema de los cromosomas politénicos ( Tomado de Ramos y Guzmán, 2011)

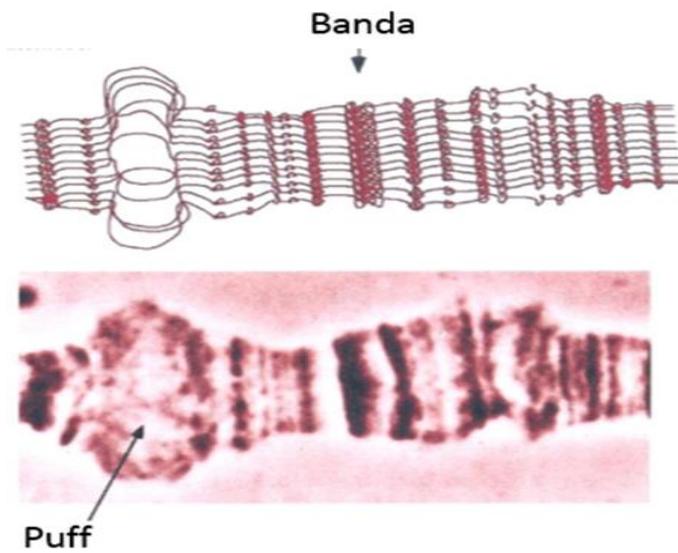


Figura 10. Acercamiento de los cromosomas politénicos para la observación de bandas y “puffs”

(Tomado de Ramos y Guzmán, 2011)

### 2.5.1 Inversiones Cromosómicas

Las inversiones se generan por dos rupturas, independientes y simultáneas en el mismo cromosoma, acompañadas de un giro de 180°, con la posterior reunión de las regiones involucradas y son eventos de origen único. Una inversión se perpetúa por herencia y es susceptible de sufrir eventos similares en los segmentos invertidos (Salceda, 2008).

La existencia de segmentos invertidos en los cromosomas de *Drosophila* fue detectada por primera vez por Sturtevant (1917). Posteriormente, Sturtevant y Dobzhansky (1936) descubrieron que diferentes poblaciones de *Drosophila pseudoobscura* mantienen inversiones múltiples peculiares.

Las inversiones paracéntricas (Figura 11) son las más frecuentes y las de mayor importancia en estudios de polimorfismos cromosómicos (Salceda, 2008). Pueden ser de varios tipos (Dobzhansky y Sturtevant, 1938): independientes, inversiones modificadas por recombinación en su interior; incluyentes, con ambos rompimientos dentro de una inversión más larga; traslapadas cuando uno de los dos rompimientos de una inversión se encuentra entre ambos rompimientos de otra inversión, es decir, un rompimiento está fuera y el otro está dentro (traslapado) de la región de una segunda inversión (Figura 12).

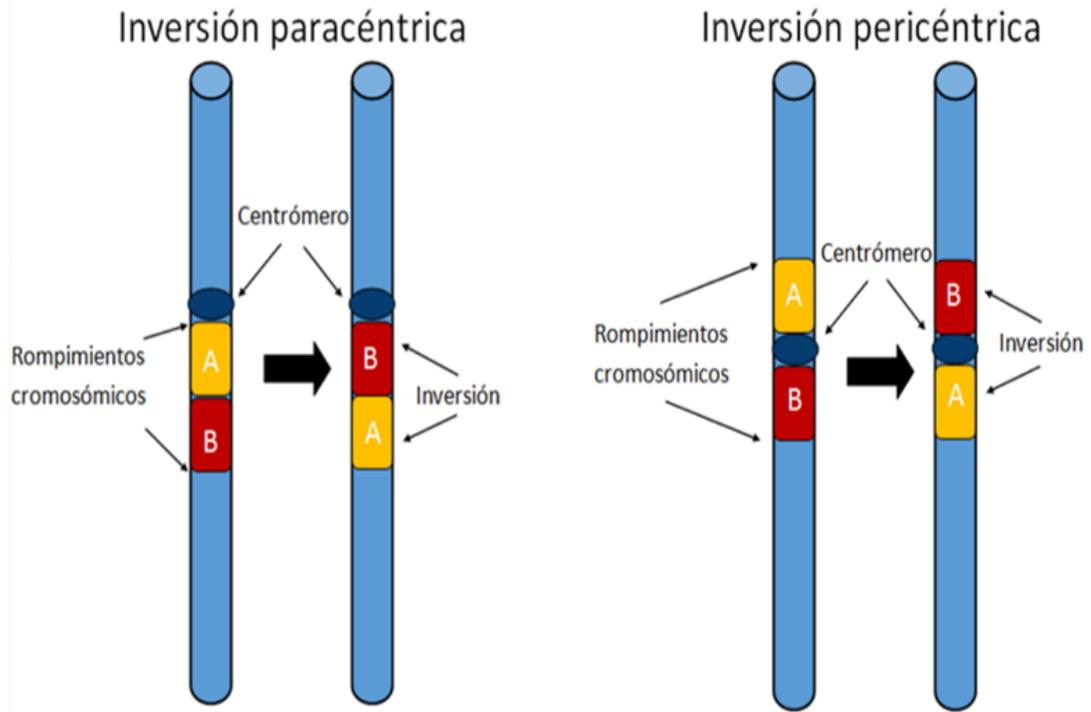


Figura 11. Representación esquemática de diferentes pares de cromosomas en inversión paracéntrica (izquierda) y pericéntrica (derecha).

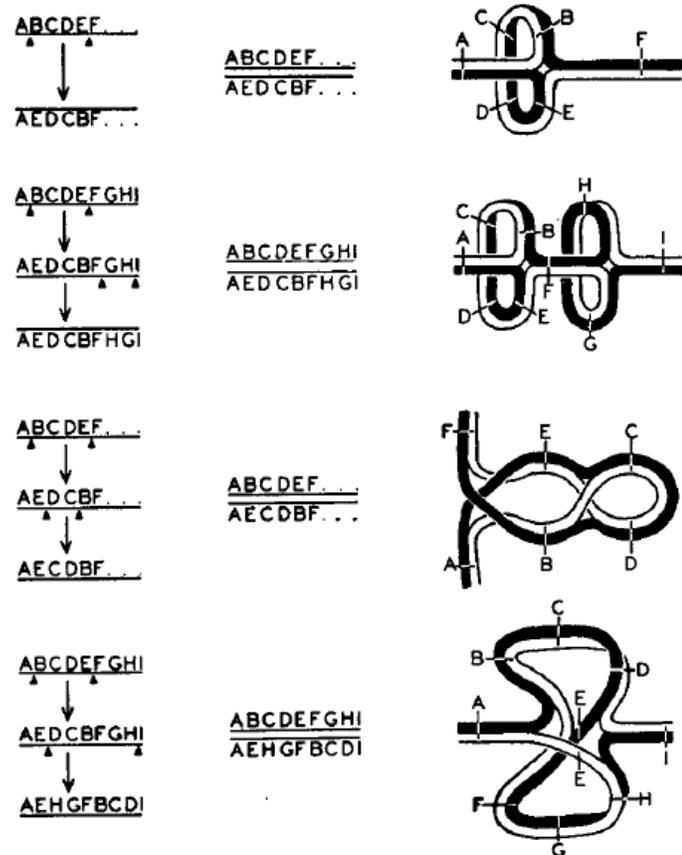


Figura 12. Representación esquemática de las figuras meióticas de diferentes pares de cromosomas con inversión simple o doble. La primera (de arriba a abajo) -una inversión simple; la segunda -dos inversiones independientes; la tercera – dos inversiones incluidas; la cuarta-dos inversiones traslapadas. Tomado de Dobzhansky y Sturtevant (1938).

Para el análisis cromosómico se utilizan las fotografías y los esquemas publicados en Kastritsis y Crumacker (1966 y 1967) y Olvera *et al.* (1979).

Sturtevant y Dobzhansky (1936) demostraron que particularmente el cromosoma tres de las cepas silvestres de *Drosophila pseudoobscura* no solamente tiene secciones invertidas, sino también que hay muchas inversiones diferentes, es decir, que presenta inversiones cromosómicas que se mantienen formando polimorfismos cromosómicos, con una extraordinaria diversidad (Figura 13), con mayor información histórica que las

mutaciones génicas, ya que las primeras son eventos muy raros y únicos que ocurren una sola vez en un grupo evolutivo, y por lo que se considera tienen un mismo origen que se remonta al evento de la inversión, mientras que las segundas pueden ser recientes (Olvera *et al.*, 1979; Wallace *et al.*, 2011). Además, las inversiones cromosómicas están presentes en poblaciones silvestres de diferentes regiones geográficas.

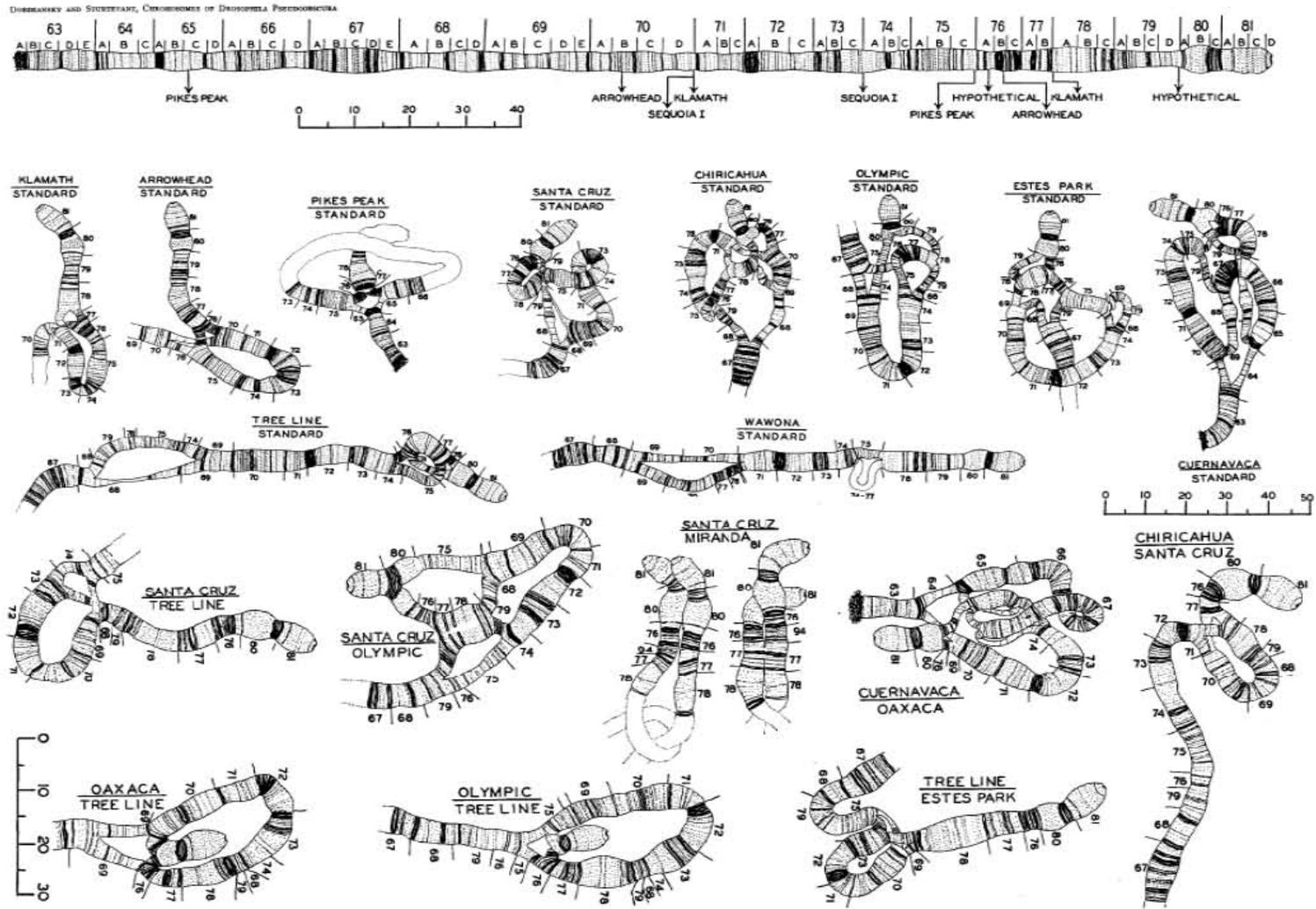


Figura 13. Esquemas del polimorfismo del cromosoma 3 de *Drosophila pseudoobscura*. (Tomado de Dobzhansky y Sturtevant, 1938).

# ANTECEDENTES

## 3.1 CICLO DE VIDA

*Drosophila pseudoobscura* ha sido muy estudiada desde la década de los 30 del siglo pasado por Dobzhansky y sus discípulos, quienes utilizaron los polimorfismos cromosómicos del cromosoma tres de la especie *pseudoobscura* (Guzmán *et al.*, 2006) como herramienta para investigar su distribución geográfica, el comportamiento cíclico, así como la filogenia de la especie, todos estos estudios son posibles gracias al corto ciclo de vida de *Drosophila* (Guzmán *et al.*, 2006).

Sin embargo, como el ciclo de vida de *Drosophila* más documentado es el de *melanogaster* (como ya se mencionó en el capítulo de Introducción) éste estudio se basa en la descripción general del ciclo de vida de *melanogaster* con datos obtenidos para *pseudoobscura*.

## 3.2 CARÁCTER ADAPTATIVO DE LAS INVERSIONES CROMOSÓMICAS

Aunque inicialmente se consideró que en general las inversiones constituían variantes neutras irrelevantes para la adaptación evolutiva, pronto se descubrió que estos polimorfismos están expuestos a una intensa presión selectiva, que permite que la dinámica del proceso pueda ser estudiado en un lapso relativamente corto (Guzmán *et al.*, 2006). En

muchas especies de *Drosophila* el polimorfismo cromosómico es de carácter adaptativo, lo que le confiere importancia ecológica y evolutiva (Salceda, 2008).

Hay dos teorías que pueden explicar el carácter adaptativo de las inversiones cromosómicas. En primer lugar, las inversiones pueden producir un efecto de posición sobre algunas secuencias, es decir, provocan un cambio en la localización física de algunos genes, lo que podría representar alguna ventaja para los individuos portadores (Sperlich, 1963) y alterar la expresión de algunos genes (Puig *et al.*, 2004), ya que puede cambiar su posición respecto a sus reguladores.

En segundo lugar, las inversiones reducen la recombinación dentro de la región incluida en la inversión de los heterocariotipos. En muchas especies, entre ellas *Drosophila* (White, 1973; Sorsa, 1988) los cromosomas de los machos no se recombinan, y por otro lado, las hembras poseen un mecanismo “ordenado” de meiosis que hace que los cromosomas aberrantes, producidos por el entrecruzamiento durante la recombinación, acaben siempre en los corpúsculos polares (White, 1973; Roberts, 1976; Coyne *et al.*, 1993), evitando con esto el descenso de la fertilidad y la selección negativa. De esta manera, las inversiones pueden mantener ciertas combinaciones de alelos favorables, ya que están protegidos de la recombinación excesiva (Krimbas y Powell, 1992).

### 3.3 FILOGENIA Y EVOLUCIÓN

Los primeros trabajos realizados en poblaciones naturales de *Drosophila* se orientaron al estudio de los polimorfismos cromosómicos originados por inversiones

independientes (Sturtevant y Dobzhansky, 1936) y de inversiones traslapadas (Powell, 1992).

Con la evidencia de que el cromosoma tres de *D. pseudoobscura* tenía una extraordinaria diversidad de arreglos cromosómicos y con mayor información histórica que las mutaciones génicas (Olvera *et al.*, 1979; Wallace *et al.*, 2011) y que además, cuando se forma una nueva inversión ésta permanece en la población en las generaciones posteriores constituyendo polimorfismos, estos arreglos se pueden utilizar para elaborar árboles filogenéticos que permitan explicar el proceso de evolución de la especie (Sturtevant y Dobshanzky, 1936; Dobshanzky y Sturtevant, 1938; Schaeffer y Anderson, 2005; Guzmán *et al.*, 2006; Bartolomé y Charlesworth, 2006; Haddrill *et al.*, 2010; Wallace *et al.*, 2011).

#### 3.4 VARIACIÓN EN LAS FRECUENCIAS LAS FORMAS POLIMÓRFICAS CROMOSÓMICAS DE *Drosophila*

Existen evidencias del carácter adaptativo de las inversiones cromosómicas que favorecen su mantenimiento en las poblaciones naturales. Se han llevado a cabo estudios con cajas de poblaciones de diferentes especies de *Drosophila* y los resultados sugieren que las inversiones se mantienen en las poblaciones naturales por una selección equilibradora debido a la superioridad de los heterocigotos (Powell, 1997; Sperlich y Pfriem, 1986). Además, se han descrito variaciones temporales y espaciales en las frecuencias de las inversiones en poblaciones naturales. Algunas especies de *Drosophila* muestran cambios

estacionales recurrentes de las frecuencias relativas de diferentes arreglos cromosómicos (Fontdevila *et al.*, 1983; Sperlich y Pfriem, 1986; Rodríguez *et al.*, 1996) y en algunos casos se ha relacionado la distribución de las frecuencias de los arreglos cromosómicos con los factores ambientales.

En algunas especies polimórficas de *Drosophila*, la frecuencia de los diferentes arreglos varía geográficamente. Cuando las frecuencias de las inversiones experimentan un cambio gradual en una cierta dirección en función de la latitud, se denomina clina latitudinal (Huxley, 1939; Haldane, 1948; Endler, 1977), asimismo existen clinas altitudinales.

Por ejemplo *D. melanogaster* presentan, tanto en el hemisferio norte como en el hemisferio sur, clinas latitudinales con una distribución similar a las frecuencias de cuatro inversiones (Lemeunier y Aulard, 1992). En *D. robusta* también se han registrado la presencia de clinas altitudinales similares en diferentes áreas montañosas (Carson, 1958; Edges, 1984; Levitan, 1992, 2001). En *D. subobscura* la presencia de genes complejos en los segmentos invertidos de los cromosomas, con diferente valor adaptativo dependiendo de las condiciones ambientales, podría explicar el rápido efecto de la selección natural y el establecimiento de las clinas en las poblaciones naturales (Prevosti *et al.*, 1985). En tanto en *D. pseudoobscura* se han observado cambios que siguen un claro patrón de variación estacional (Dobzhansky, 1943; Wright y Dobzhansky, 1946; Dobzhansky, 1948).

Además, ya que las clinas pueden formarse principalmente en respuesta a procesos de adaptación o como resultado de factores históricos (Menozzi y Krimbas, 1992; Orengo y Prevosti, 1996), el sistema de inversiones cromosómicas constituye un mecanismo

genético de adaptación rápida al ambiente, que le brinda una especial flexibilidad evolutiva (Céspedes, 2006).

En México, en las localidades de Amecameca, Tulancingo y Zirahuén, se ha estudiado la presencia y la distribución de los polimorfismos cromosómicos, su variación estacional y geográfica en poblaciones naturales durante más de 35 años (Guzmán *et al.*, 2006); además, se ha analizado el papel que han tenido en la evolución de la especie, demostrando que presentan una variación cíclica, (Olvera *et al.*, 1982, 2005; Guzmán *et al.*, 2005, 2006; Salceda y Espinoza, 2006; Salceda *et al.*, 2007a, 2007b, 2008; Salceda, 2009). Por ello los análisis de los polimorfismos cromosómicos son una herramienta útil para el estudio de los efectos ambientales biósfera-atmósfera.

### 3.5 EFECTO DEL CAMBIO AMBIENTAL SOBRE LAS ESPECIES

Cuando las condiciones ambientales cambian, los organismos y las poblaciones deben también adecuarse a dichas variaciones, de tal modo que el desarrollo de los individuos puede ser modificado en mayor o menor grado (Céspedes, 2006).

Los estudios de las modificaciones a largo plazo en los polimorfismos cromosómicos en *Drosophila* apuntan a que la constitución genética de las poblaciones responde a las variaciones climáticas (Van Heerwaarden y Hoffmann, 2007). Esta sugerencia está apoyada por el hecho de que los genes localizados dentro de las inversiones están asociados a varios

caracteres, incluyendo los involucrados en la adaptación al clima (Hoffmann y Rieseberg, 2008).

Al respecto Dolgova *et al.* (2010), comprobó que arreglos del cromosoma O de *D. subobscura* tienen un efecto biométrico en gradientes de temperatura con preferencia al clima frío (bajo condiciones de laboratorio). Igualmente se ha encontrado en la misma especie cierta correlación entre la temperatura y la frecuencia de ciertos arreglos que en algunos casos es significativa, lo que sugiere que las clinas latitudinales para el polimorfismo cromosómico pueden ser debidas a factores ambientales (Prevosti *et al.*, 1985, 1989, 1990; Menozzi y Krimbas, 1992) y que su variación geográfica adaptativa podría estar relacionada con diversos factores ambientales y ecológicos, como por ejemplo la temperatura (Céspedes, 2006).

Asimismo, se propone que la variación sistemática y significativa de las frecuencias de muchos arreglos cromosómicos (Solé *et al.*, 2002), posiblemente provocada por el efecto del cambio climático global manifestada en la estructura genética de las poblaciones (Céspedes, 2006).

Estudios previos de evolución térmica (Krimbas, 1967; Quintana y Prevosti, 1991; Céspedes, 2006) han detectado pérdida de diversidad cromosómica manifestada en la relación negativa del índice de diversidad cromosómica de las poblaciones experimentales en respuesta al aumento de temperatura.

Para Balanyá *et al.* (2006) la rápida respuesta genética de *D. subobscura* es debida, posiblemente, a los cambios ambientales. Además, afirman que los cambios ambientales

de las últimas décadas también han producido a cambios genéticos no sólo de *Drosophila*, sino también en otros grupos animales como aves, ardillas y mosquitos (Bradshaw y Holzapfel, 2006).

Por otra parte, el cambio climático global está alterando la distribución geográfica, la abundancia, la fenología y las interacciones de los organismos (Root y Hughes, 2005; Pounds *et al.*, 2006; Parmesan, 2006; Chen *et al.*, 2011), así como amplificando las amenazas de la pérdida de biodiversidad (Minteer y Collins, 2012).

# OBJETIVOS

## 4.1 GENERALES

- 4.1.1 Determinar algunas características sobre la biología de la especie, como el ciclo de vida, la viabilidad huevo-adulto y la longevidad de *D. pseudoobscura*.
- 4.1.2 Evaluar el efecto que tienen la variación estacional y geográfica de las condiciones ambientales sobre las frecuencias de los arreglos cromosómicos y su papel en la evolución en la especie *D. pseudoobscura*.

## 4.2 PARTICULARES

- 4.1.3 Estudiar, usando como base el ciclo de vida de *D. melanogaster*, el ciclo vital de *D. pseudoobscura* y compararlos.
- 4.1.4 Estudiar la viabilidad huevo-adulto de *D. pseudoobscura* empleando la población de Amecameca.

4.1.5 Estudiar la longevidad de *D. pseudoobscura* usando la cepa con arreglo cromosómico CU.

4.1.6 Estudiar el comportamiento de los diferentes arreglos cromosómicos de *D. pseudoobscura* mediante el análisis de una población natural de un bosque cercano a la ciudad de Tulancingo, Hidalgo.

# MATERIAL Y MÉTODO

## 5.1 CICLO DE VIDA DE *Drosophila pseudoobscura*

### 5.1.1 Cronología del desarrollo

Para determinar el ciclo de vida de la especie se sincronizaron hembras fecundadas, que fueron colocadas en frascos (250 ml) con permanencia de 48 h y a una temperatura de 25°C para que ovipositaran. Se colectaron 30 huevos, mismos que se dispusieron en tres frascos con medio fresco, donde cada frasco contenía diez huevos. Todos se mantuvieron en observación (cada hora durante ocho horas al día) a partir del momento de colecta, para poder registrar la duración de cada una de las etapas del ciclo.

Durante todo el proceso los frascos se mantuvieron en condiciones controladas de temperatura ( $24\pm 1^\circ\text{C}$ ) y de alimento (harina de trigo, sacarosa, agar y levadura).

### 5.1.2 Viabilidad huevo-adulto

En cuanto a la viabilidad huevo-adulto se dispuso de la población colectada en la región de Amecameca, Estado de México, por ser también una zona ampliamente estudiada (Guzmán *et al.*, 2006). Machos y hembras se distribuyeron en cuatro frascos vacíos

invertidos y debajo de cada uno de ellos se colocaron cajas de Petri con medio fresco, se incubaron durante 48 h y transcurrido ese tiempo se tomaron de las cajas de Petri 100 huevecillos que fueron dispuestos en cinco nuevos frascos con medio estándar. Cada frasco contenía 20 huevecillos de *Drosophila*.

Ambos experimentos se llevaron a cabo en condiciones de laboratorio con temperatura de 25°C y el alimento normal (harina de trigo, sacarosa, agar y levadura).

Cuando las moscas empezaron a emerger de su pupa se registró el número y el sexo de las moscas adultas obtenidas.

Se calculó la viabilidad de los individuos partiendo de 100 huevos, los cuales se separaron en 5 frascos con 20 huevos iniciales y se determinó la cantidad de adultos que emergieron de ellos. La viabilidad se calculó como la proporción de adultos que emergieron en cada frasco. Con esta muestra se determinó también la proporción sexual entre los adultos emergidos, calculada como el número de hembras entre el número de machos.

### 5.1.3 Longevidad

Se colectaron 100 machos y 104 hembras de la cepa CU, a las 24 horas de nacidas y se colocaron en frascos con medio fresco, manteniéndose a 25°C y se cambiaron a frascos

nuevos dos veces por semana. Se llevó un registro del número de moscas que moría diariamente, este experimento terminó a los 83 días que fue cuando murió el último macho.

Los datos se organizaron por sexo y posteriormente se graficaron los resultados para analizar supervivencia de las moscas, tanto en hembras como en machos. Además, para determinar si existía diferencia significativa entre la longevidad de hembras y machos, se realizó un análisis de varianzas (ANOVA).

Por último se calculó la longevidad de la especie *D. pseudoobscura* mediante la determinación de la vida media de las hembras, de los machos y del total de la población.

## 5.2 POLIMORFISMO CROMOSÓMICO

### 5.2.1 Zona de muestreo

Se eligió una zona de muestreo de *D. pseudoobscura* poblaciones estudiadas anteriormente, a fin de contar con información histórica. También se buscó que el sitio no hubiera sido perturbado por factores humanos, puesto que esta especie tiende a evitar la convivencia con los humanos, y de esta manera tener mayor probabilidad de encontrar especímenes para la colecta. Por estas razones, se seleccionó la región de bosque de encinos ubicada en la colindancia con un rancho con el nombre de “Tabiguera de Paxtepec”, el cual se encuentra en el municipio de Tulancingo del estado de Hidalgo (Figura 14), zona ampliamente estudiada a lo largo de 40 años.

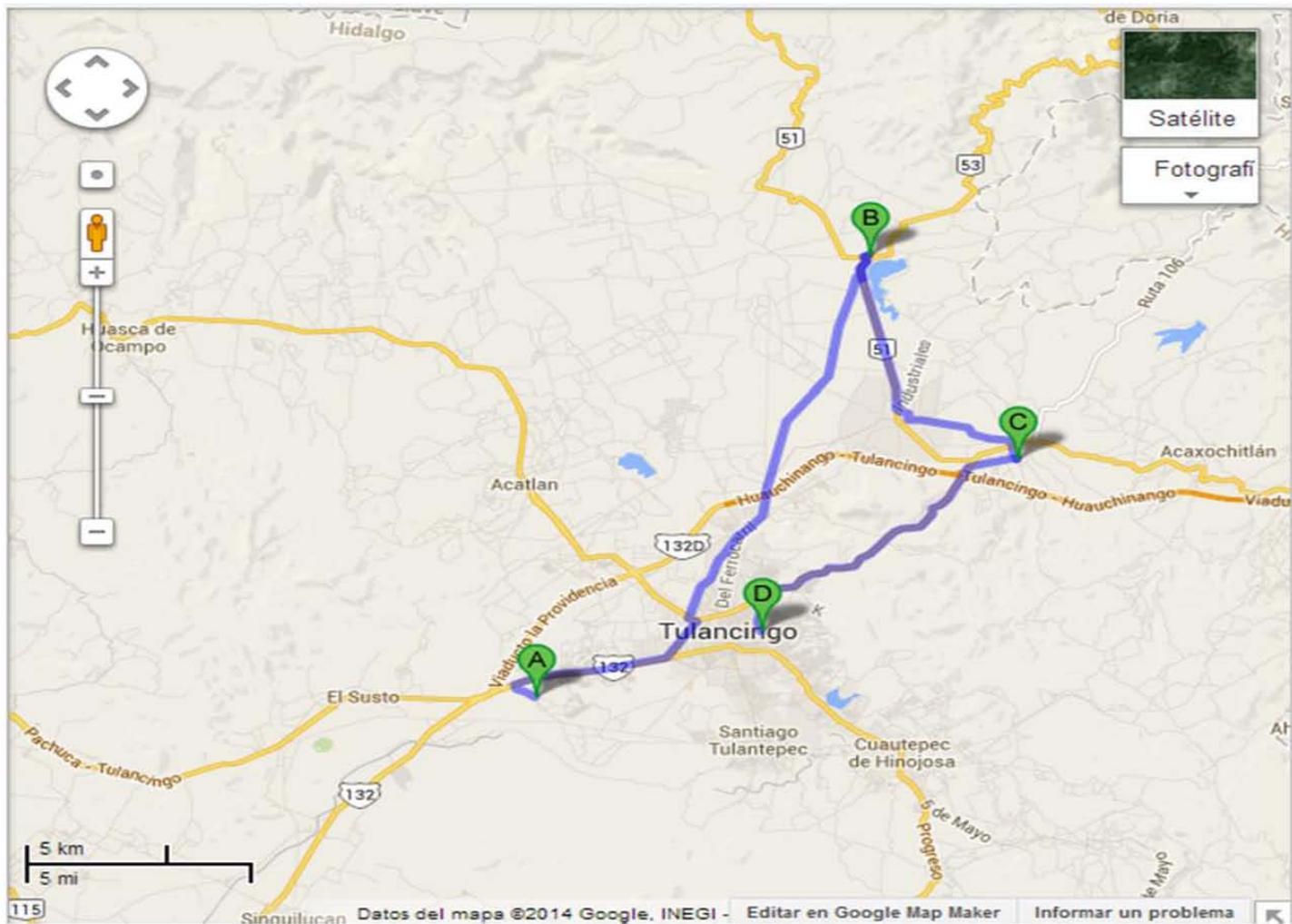


Figura 14. Mapa geográfico donde la letra “A” señala el bosque donde se realizó la colecta, la letra “B” indica la ubicación de la EMA Presa la Esperanza, la letra “C” indica la ubicación de la EMA Santa María Asunción y la letra “D” señala la ESIME Tulancingo.

### 5.2.2 Colecta de material biológico

Durante un año se hicieron colectas periódicas de material biológico. Las moscas se atraían con trampas de plástico las cuales contenían plátano tabasco fermentado con levadura (Figura 15). Las trampas eran colocadas estratégicamente en el bosque, procurando ponerlas bajo la sombra y en un lugar amplio donde se pudiera agitar la red (Figura 16).



Figura 15. Trampa para atraer a las *Drosophilas*. En el recipiente se halla plátano tabasco fermentado con levadura.



Figura 16. Distribución de las trampas en el bosque de encinos.

Las trampas se colocaron al amanecer y se retiraron al ponerse el sol. La colecta se hizo con intervalos de 15 a 20 minutos, en los que se revisaron las trampas y se capturaron las moscas que se acercaron a comer. Durante el mediodía, cuando la temperatura sobrepasa los 16°C, este proceso se interrumpió reanudándose por la tarde. Para la colecta de las moscas, se colocó la red entomológica aérea rodeando el recipiente con el aro y estirando la tela, se golpeó ligeramente el recipiente para inducir a las moscas a subir a la red (Figura 17) y una vez dentro se agitó la red para que las moscas atrapadas se situaran en el fondo. Se introdujo al interior de la red un pequeño frasco, preparado con medio de cultivo y se golpeó para que las moscas entran en él para su traslado e identificación en el laboratorio.



Figura 17. Captura de material biológico con ayuda de trampas y de red entomológica aérea.

Es importante resaltar que las colectas se realizaron tanto en las temporadas de lluvias y como de secas del año 2011.

### 5.2.3 Identificación y siembra

Al llegar al laboratorio se procedió a la identificación de la especie *Drosophila pseudoobscura* utilizando como herramienta un microscopio estereoscópico y un eterizador para dormir a los especímenes y poder manejarlo adecuadamente. Posteriormente, se separaron hembras y machos. Cada hembra fue colocada individualmente en un frasco con

medio de cultivo estándar e incubada a temperatura de 25°C, dejándolas ovipositar durante una semana.

Los machos fueron colocados en frascos individuales con tres hembras vírgenes de la cepa Tree Line (TL) o bien Cuernavaca (CU), para identificar los cromosomas que portaban. Los machos con sus hembras se depositaron en frascos con medio de cultivo estándar y se incubaron a temperatura de 25 ° C.

#### 5.2.4 Disección de larva y obtención de cromosomas

Una vez que los huevecillos ovipositados llegaron al tercer estadio larvario se realizó la disección de la larva. Con ayuda de una aguja de disección la larva se colocó sobre un portaobjetos, con una gota de colorante de aceto-carmín al tres por ciento u orceína al cinco por ciento, bajo un microscopio estereoscópico y con ayuda de unas pinzas de relojero, se sostuvo el cuerpo de la larva mientras que con una aguja de disección se separaron las mandíbulas y las glándulas salivales. Posteriormente se retiró del portaobjetos el material innecesario, sobre todo las mandíbulas puesto que al ser de un material tan duro no permitiría realizar el aplastamiento de las glándulas salivales de manera adecuada.

Las glándulas salivales fueron teñidas durante 30 minutos con los colorantes antes mencionados y una vez transcurrido ese tiempo se colocó un portaobjetos y se realiza el

aplastamiento presionando hasta que las células se rompieron para permitir la mayor extensión de los cromosomas.

Posteriormente, se procedió a la identificación de las inversiones cromosómicas presentes en la población en estudio a 40x. Para la identificación se utilizaron esquemas elaborados y fotografías que distinguen las configuraciones mediante evidencia fotográfica (Kastritsis y Crumpacker, 1966, 1967; Olvera *et al.*, 1979). En cuyas imágenes se muestran el punto de rompimiento de cromosomas, la continuidad de las bandas y anillos de Balbiani así como el nombre que recibe cada uno de los arreglos cromosómicos, para la correcta tipificación.

### 5.3 VARIABLES HIDRO-CLIMÁTICAS

Para conocer los valores de los factores climáticos se investigó en el catálogo oficial del Servicio Meteorológico Nacional (SMN) la clave de las Estaciones Meteorológicas cercanas a la zona de muestreo. Las Estaciones Meteorológicas Automáticas (EMA's) empleadas para los registros históricos de las variables hidro-climáticas fue la Estación "Presa la Esperanza" con código 00013082 y la Estación "Santa María Asunción" de código 00013130, así como también se empleó la Estación Sinóptica Meteorológica Automática (ESIME) "Tulancingo" con clave de observatorio 76634 (Figura 14).

Con los registros de las tres estaciones en conjunto se lograron obtener los valores diarios (ya que ninguna de las estaciones tiene todos los datos completos) desde Octubre de 1974 hasta Octubre del 2011 para la temperatura máxima (Tmax), temperatura mínima (Tmin), precipitación pluvial (PCP), y evaporación (EVP). Se calcularon los promedios mensuales respectivos a las variables de Tmax y Tmin y para la EVP y la PCP se calculó la acumulación de agua mensual por medio de sumas.

Todos los valores mensuales fueron agrupados en dos categorías, la primera corresponde a la temporada de secas, considerando arbitrariamente que empieza el 16 de octubre y termina el 15 de abril. La segunda, corresponde a la temporada de lluvias, ésta incluye el periodo del 16 de abril al 15 de octubre.

Una vez realizada la agrupación por temporada se obtuvo el promedio de cada periodo para cada una de las variables.

#### 5.4 ANALISIS ESTADÍSTICO

En total se analizaron 107 cromosomas, de los cuales 57 corresponden a la temporada de secas y 50 a la temporada de lluvias. Una vez identificado cada arreglo cromosómico de las larvas de las moscas colectadas, se calcularon las frecuencias relativas de cada inversión presente.

Para el análisis retrospectivo, se utilizaron los datos reportados en Guzmán *et al.* (2006), que incluyen los resultados obtenidos desde 1974 hasta 2000 para la misma población de Tulancingo. Fueron complementados con los resultados de las colectas de 2011. Los datos fueron graficados para ver su tendencia.

Para analizar la influencia de los factores ambientales sobre el polimorfismo cromosómico de *Drosophila pseudoobscura* se hizo un análisis de correlación, con el programa SigmaPlot, entre las frecuencias de los diferentes arreglos cromosómicos y los valores hidro-climáticos reportados para las fechas de las colectas realizadas. Los resultados obtenidos son mostrados en el siguiente capítulo.

# RESULTADOS

## 6.1 CICLO DE VIDA DE *Drosophila pseudoobscura*

### 6.1.1 Cronología del desarrollo

En el cuadro I se muestra la duración de cada fase del ciclo de vida de *D. pseudoobscura*, que está expresada en días y va del día cero al día  $15 \pm 2$ .

Desde la oviposición (hora o día cero) hasta la eclosión del huevo transcurrieron 2 horas, mientras que para la segunda muda pasaron dos días, se obtuvieron larvas de tercer estadio a los  $4 \pm 1$  días, a partir de la oviposición la formación del pupario ocurrió hasta el  $7 \pm 1$  día y la eclosión de la pupa fue el día  $15 \pm 2$ .

En la figura 18 se ilustra el ciclo de vida de *D. pseudoobscura*, en el que se pueden notar los días en los que ocurren cada una de las fases y su duración.

Cuadro I. Cronología de cada fase del ciclo de vida de *D. pseudoobscura* en días.

<b>FASE</b>	<b>DURACIÓN (días)</b>
<b>huevo depositado</b>	0
<b>eclosión del huevo (primer estadio larval)</b>	2 h
<b>primera muda (segundo estadio larval)</b>	2
<b>segunda muda (tercer estadio larval)</b>	$4 \pm 1$
<b>formación del pupario</b>	$7 \pm 1$
<b>eclosión de la pupa (adulto)</b>	$15 \pm 2$

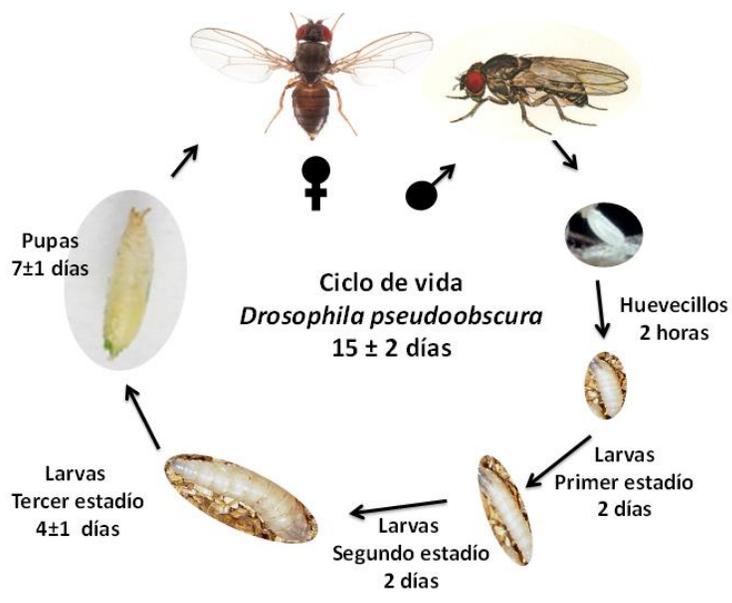


Figura 18. Ciclo de vida de *Drosophila pseudoobscura*.

### 6.1.2 Viabilidad huevo-adulto

En el cuadro II. Se expresa el porcentaje de moscas que pasaron de la fase de huevo a mosca adulta. Del cien por ciento de huevos iniciales sólo se obtuvo 26 % de viabilidad en la población de moscas de Amecameca, Estado de México.

Cuadro II. Viabilidad huevo-adulto de *D. pseudoobscura* de la población de Amecameca, Estado de México.

	FRASCO	HEMBRAS	MACHOS	VIABILIDAD	PROPORCIÓN SEXUAL (HEMBRA:MACHO)
	1	0	2	0.1	0 : 1
	2	2	2	0.2	1 : 1
	3	3	2	0.25	1.5 : 1
	4	4	4	0.4	1 : 1
	5	3	4	0.35	0.75 : 1
<b>TOTAL</b>				<b>0.26</b>	<b>0.86 : 1</b>

### 6.1.3 Longevidad

En la Figura 19 se observa la supervivencia de las moscas a través del tiempo. En el día cero se tiene el número inicial total, que incluye hembras y machos, la hembra más longeva vivió 72 días, mientras que un macho llegó a vivir hasta 83 días.

En el Cuadro III se muestran los promedios que indican la vida media de *D. pseudoobscura* en general y por género (hembra-macho). La vida media que corresponde a las hembras fue de 34 días, para los machos de 36 y para la especie en general de 35 días de vida media.

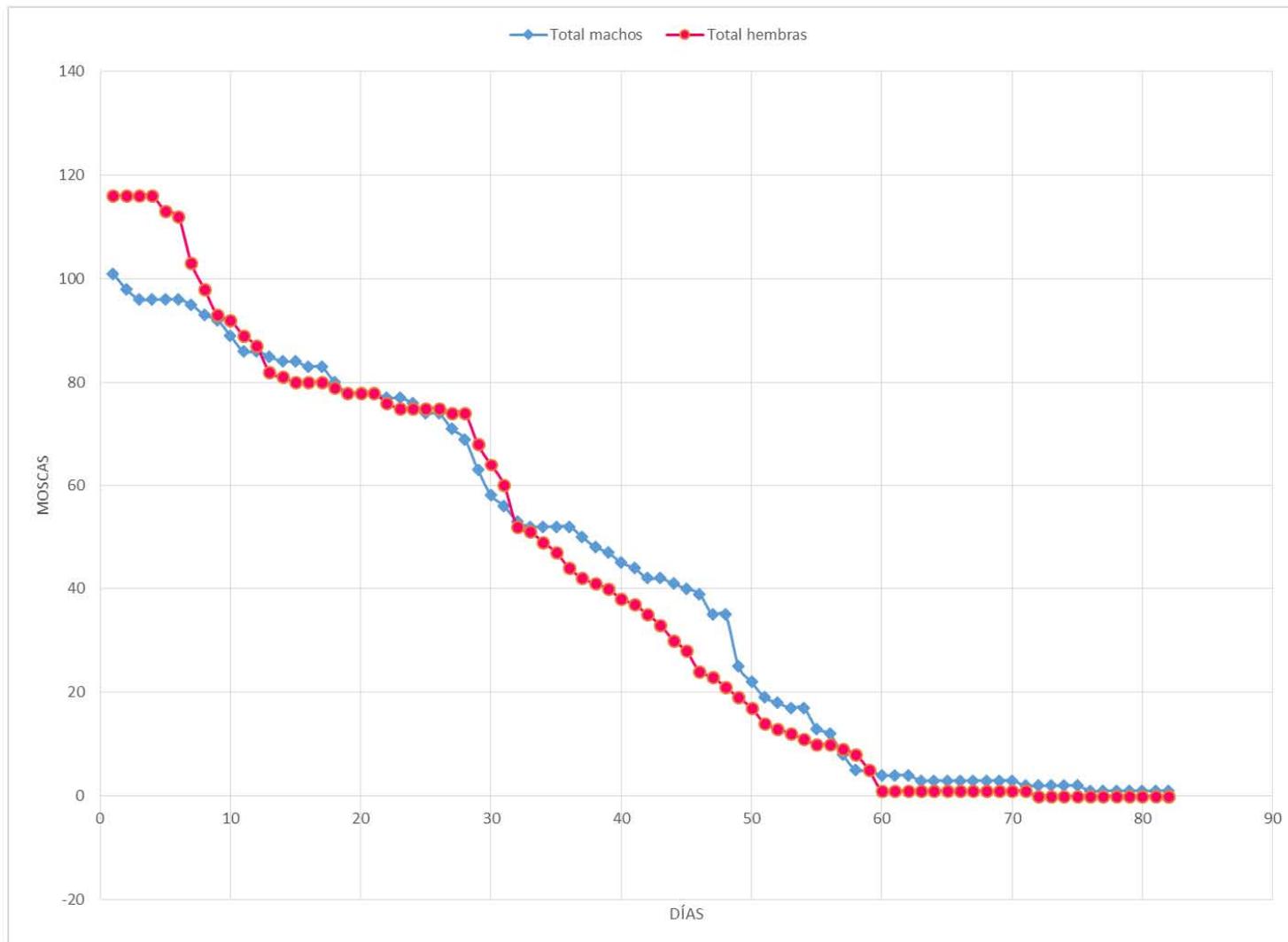


Figura 19. Supervivencia de hembras y de machos de *D. pseudoobscura*.

Cuadro III. Vida media de *D. pseudoobscura* y por género (hembra-macho).

<b>VIDA MEDIA</b>	<b>DÍAS</b>
<b>Machos</b>	35.99
<b>Hembras</b>	34.36
<b><i>D. pseudoobscura</i></b>	35.18

Las hembras viven en promedio 1.63 días menos que los machos, diferencia que es significativa ( $p < 0.001$ ).

## 6.2 POLIMORFISMO CROMOSÓMICO Y CAMBIO AMBIENTAL

El cuadro IV, muestra los datos obtenidos para las variables hidro-climáticas EVP, PCP, Tmax y Tmin en las tres estaciones de muestreo cercanas a la población de Tulancingo. Se incluyeron los valores observados desde 1975 hasta 2011, que coinciden con los años en los que se realizaron las colectas y el análisis de cromosomas. La información obtenida se agrupó arbitrariamente promediando los cifras observadas del 16 de octubre al 15 de abril para la temporada de secas y del 16 de abril al 15 de octubre para la temporada de lluvias. Se usó la notación (.0) para la temporada de secas y (.5) para la temporada de lluvias. Además, en el mismo cuadro se muestran los valores obtenidos para las frecuencias de los diferentes arreglos cromosómicos encontrados en la población natural de Tulancingo. Para el cálculo de las frecuencias se ha procedido de manera semejante a las variables hidro-

climáticas, se agruparon arbitrariamente los resultados obtenidos en muestras tomadas durante el período del 16 de octubre al 15 de abril y del 16 de abril al 15 de octubre de cada año y se han definido anteriormente.

En la figura 20, se observa la distribución de los valores a través del tiempo para las variables hidro-climáticas EVP y PCP, así como su tendencia. Se puede ver que ambos factores están aumentando sistemáticamente.

En la figura 21, se grafican los valores de las Tmax y Tmin a lo largo de los 38 años que abarca el estudio. Al trazar la línea de tendencias para los diferentes datos, se pudo observar que ambas variables climáticas tienen una tendencia a incrementarse

En la figura 22, se ven las frecuencias cromosómicas de los arreglos CU y TL, al analizar los valores de las frecuencias para los arreglos CU y TL, se puede comprobar que al avanzar el tiempo, ambos valores disminuyen.

Algo semejante puede observarse en la figura 23, con las frecuencias cromosómicas de arreglos menores como SC, CH, OL y OA, a través del tiempo muestran una tendencia a la alza.

Cuadro IV. Valores de las temporadas de lluvia y de secas de las variables hidro-climáticas (Los años enteros indican la temporada de secas y los que tienen terminación de cero punto cinco muestran las temporadas de lluvias. Además las frecuencias cromosómicas corresponden a la misma temporada).

Año	EVP	PCP	Tmax	Tmin	CU	TL	EP	OL	SC	HI	PO	CH	SA	OA	PP	TA	n
1975.5	132.600	96.750	26.188	11.376	0.519	0.481	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	54
1976	128.933	8.833	25.419	5.975	0.461	0.485	0.017	0.008	0.021	0.017	0	0	0	0	0	0.0034	180.5
1976.5	134.733	94.917	25.734	11.623	0.433	0.475	0.031	0.009	0.057	0.016	0	0.003	0	0.0103	0	0	245
1977	110.817	9.417	25.978	7.878	0.466	0.479	0.024	0.020	0.004	0.008	0.001	0	0.0005	0	0.0005	0	991.5
1977.5	136.500	40.083	27.200	10.293	0.412	0.496	0.012	0.031	0.012	0.031	0	0	0	0.0039	0.0030	0	156
1979.5	140.967	88.583	26.370	10.356	0.340	0.540	0.010	0.060	0.040	0.010	0	0	0	0	0	0	100
1980	103.833	22.000	26.901	7.638	0.353	0.526	0.012	0.046	0.035	0.029	0	0	0	0	0	0	173
1981	106.867	22.833	25.100	6.372	0.347	0.614	0.005	0.005	0	0.025	0	0	0	0	0.0049	0	202
1981.5	117.183	89.633	26.767	11.343	0.286	0.625	0	0.054	0	0.036	0	0	0	0	0	0	56
1982	129.350	13.150	27.359	7.114	0.453	0.453	0.013	0.060	0	0.020	0	0	0	0	0	0	150
1982.5	158.797	32.533	28.107	10.467	0.455	0.455	0.045	0	0.045	0	0	0	0	0	0	0	22
1983	138.500	6.817	26.809	5.627	0.395	0.491	0.009	0.061	0.018	0.026	0	0	0	0	0	0	114
1983.5	171.350	43.600	29.138	11.025	0.574	0.348	0.015	0.029	0.005	0.029	0	0	0	0	0	0	204
1984	129.950	16.083	26.754	7.045	0.199	0.678	0.017	0.056	0.010	0.031	0	0	0	0.0096	0	0	518
1995	131.237	9.950	28.677	8.021	0.243	0.626	0.046	0.058	0.013	0.006	0	0	0	0.0171	0	0	178
1995.5	150.735	76.983	28.387	12.149	0.347	0.547	0.013	0.053	0.027	0	0	0	0	0.0133	0	0	75
2000	127.202	4.117	25.845	5.448	0.231	0.672	0.063	0.025	0	0.004	0	0	0	0.0042	0	0	238
2011	141.967	3.800	28.686	8.688	0.316	0.298	0.053	0.175	0.088	0	0	0	0	0.0702	0	0	57
2011.5	214.550	82.550	28.362	13.763	0.227	0.432	0.023	0.114	0.068	0	0	0.091	0	0.0455	0	0	44

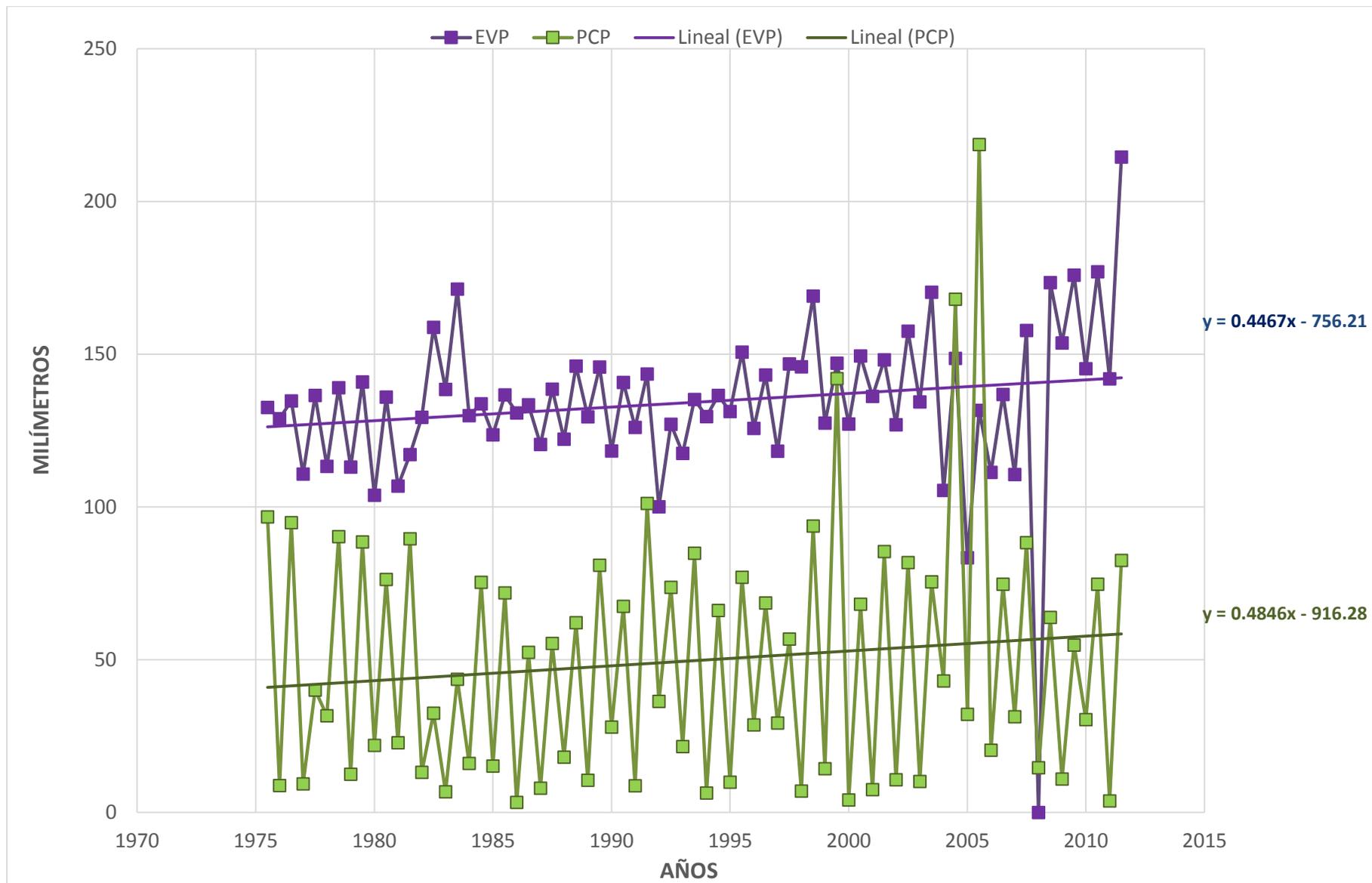


Figura 20. Tendencias de las variables climáticas evaporación y precipitación pluvial.

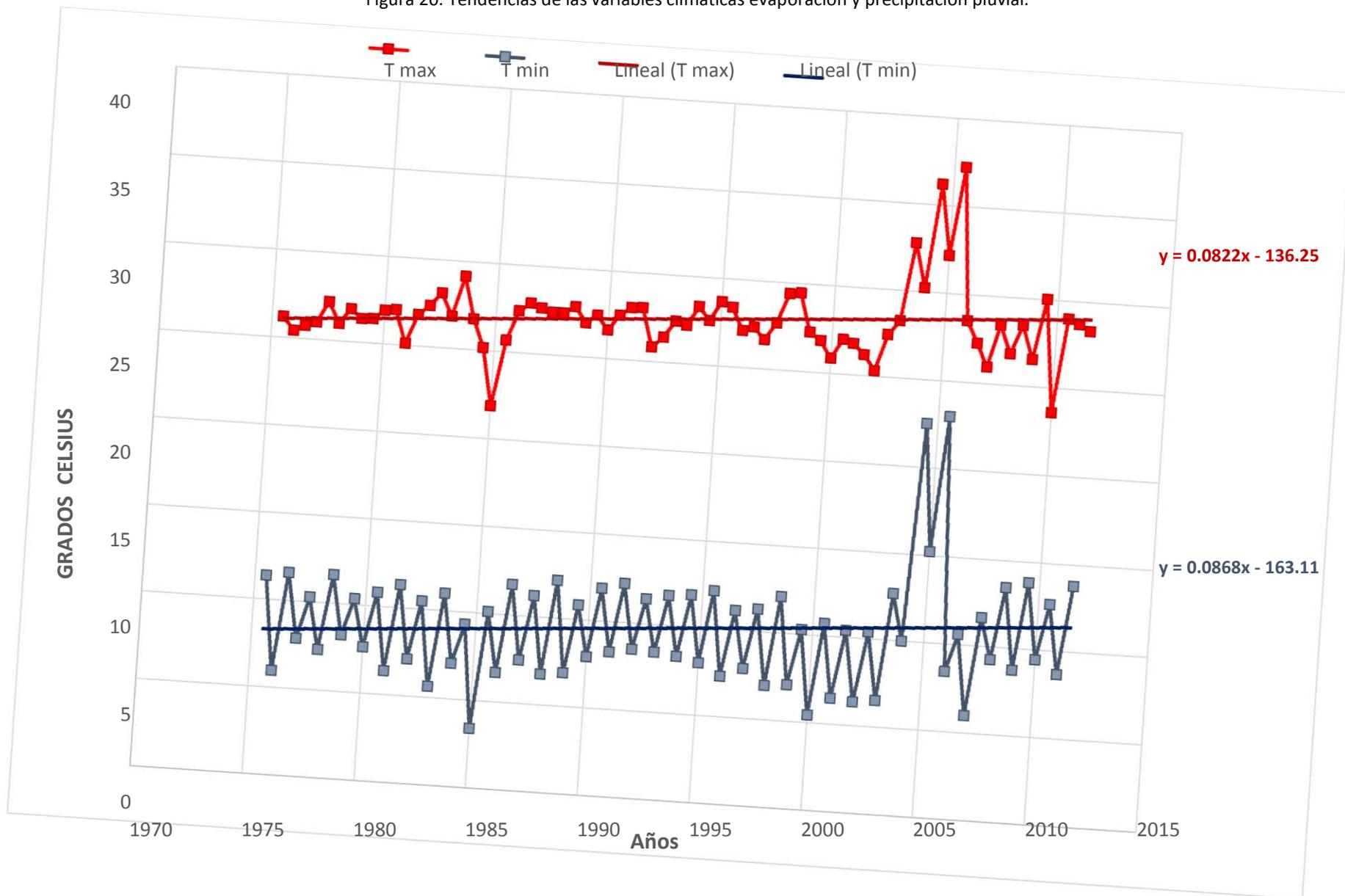


Figura 21. Tendencias de las variables climáticas evaporación y precipitación pluvial.

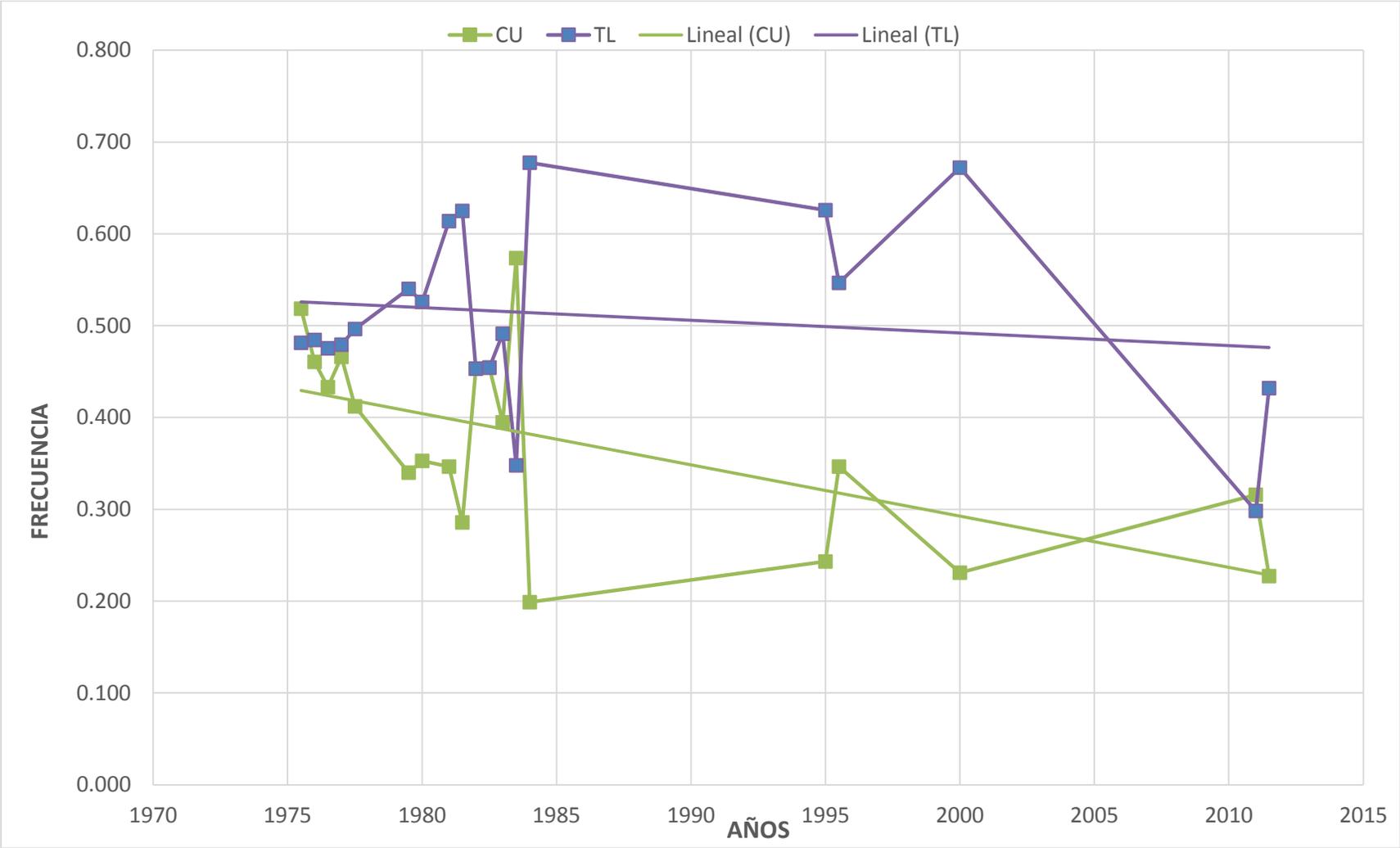


Figura 22. Frecuencia relativa de los arreglos cromosómicos TL y CU.

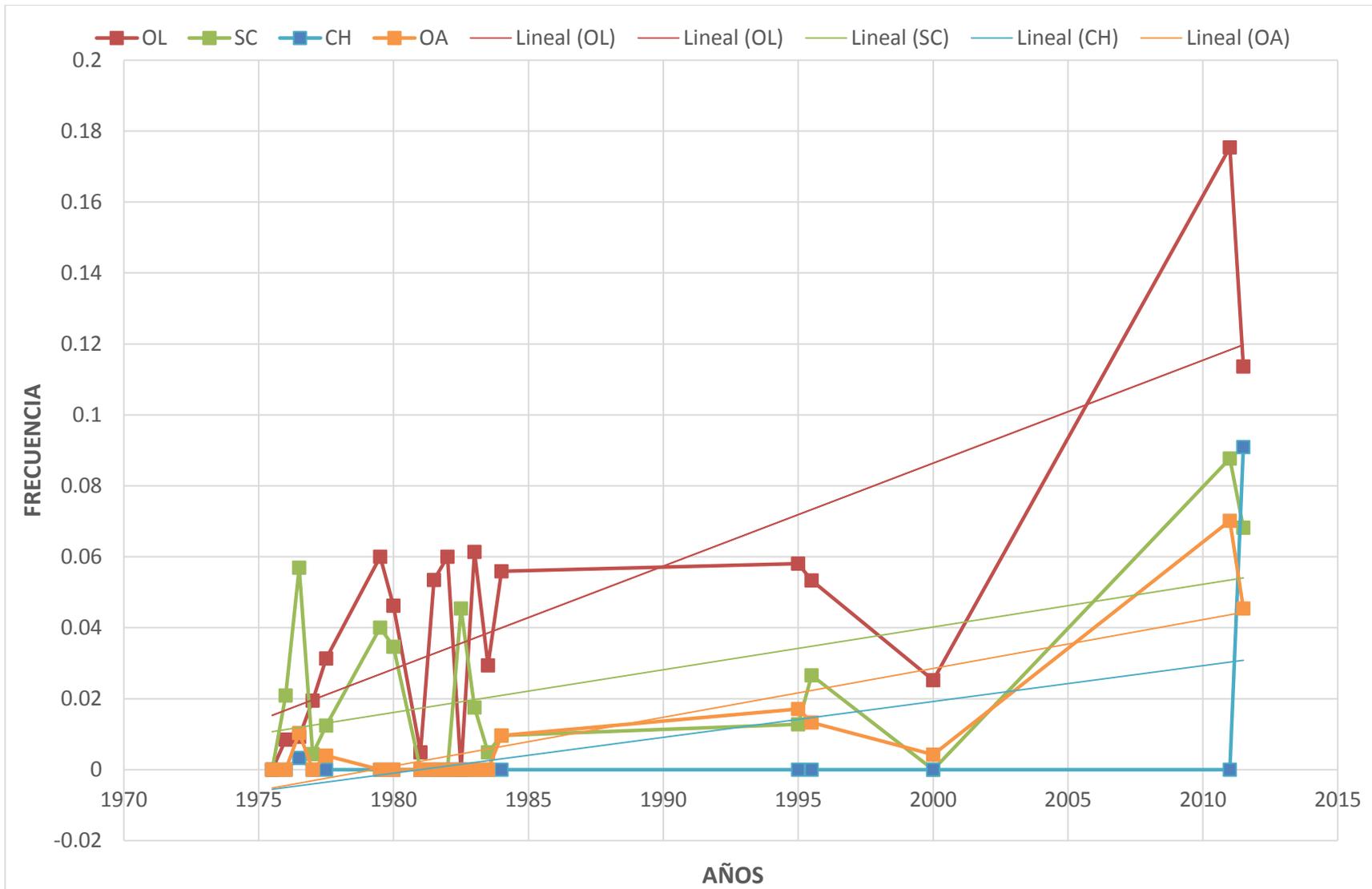


Figura 23. Frecuencia relativa de los arreglos cromosómicos SC, CH, OL y OA.

En el cuadro V se muestran los resultados del análisis de correlación entre las variables hidro-climáticas (EVP, PCP, Tmax y Tmin) y las frecuencias observadas para los diferentes arreglos cromosómicos. El coeficiente de correlación (r) de cada columna representa el tipo de relación observada: una r positiva corresponde a una correlación directa (a medida que aumenta una de las variables, la otra también lo hace) y una r negativa corresponde a una relación inversa (a medida que una de las variables aumenta, la otra disminuye como respuesta). Al realizar el análisis estadístico, se pudo comprobar que la EVP presenta una correlación significativa con los arreglos TL, SC y OA, con una relación inversa para el primer caso y directa para SC y OA. La PCP fue significativa para EP, con una relación inversa. La correlación con Tmax fue significativa para los arreglos TL, OL y OA, para TL fue inversa mientras que para OL y OA resultó directa. Además la Tmin no mostró correlación estadísticamente significativa con ninguno de los arreglos cromosómicos.

Cuadro V. Valor de la correlación entre los arreglos cromosómicos y las variables hidro-climáticas de la población natural de Tulancingo, Hidalgo.

Arreglo	EVP		PCP		Tmax		Tmin	
	r	p	r	p	r	p	r	p
<b>CU</b>	-0.02855	0.90765	0.09168	0.70893	-0.05372	0.8270	0.11621	0.63567
<b>TL</b>	-0.46334	<b>0.04572*</b>	-0.03641	0.88237	-0.44542	<b>0.0560*</b>	-0.33218	0.16469
<b>EP</b>	0.14886	0.54304	-0.42263	<b>0.07143*</b>	0.25797	0.2860	-0.18485	0.44869
<b>OL</b>	0.35525	0.13555	-0.10612	0.66545	0.55024	<b>0.0146*</b>	0.12105	0.62156
<b>SC</b>	0.48389	<b>0.0358*</b>	0.16872	0.4899	0.35298	0.1380	0.38189	0.10665
<b>HI</b>	-0.38139	0.10715	-0.11981	0.62515	-0.22109	0.3630	-0.26074	0.28095
<b>OA</b>	0.45719	<b>0.04907*</b>	-0.03954	0.87233	0.4977	<b>0.0301*</b>	0.25082	0.30032

\* Representa los efectos estadísticamente significativos ( $p < 0.1$ )

## DISCUSIÓN

### 7.1 CICLO DE VIDA DE *D. pseudoobscura*

El ciclo de vida de *D. pseudoobscura* es más largo que el de *D. melanogaster* reportado por Lewis (2010) con una diferencia de seis días, ya que se informa que *D. melanogaster* dura nueve días desde la oviposición hasta la emergencia del adulto, mientras que en *D. pseudoobscura* se ha obtenido una estimación de 15 días para el mismo ciclo. Además se ha registrado que las larvas de *D. melanogaster* se establecen como primer estadio 24 horas después de la fecundación, en tanto que *D. pseudoobscura* lo hace hasta las 48 horas posteriores a la fecundación.

En cuanto a la viabilidad huevo-adulto los resultados caben dentro del rango publicado por Salceda y Arceo (2013), quienes obtuvieron una variación de 14.3 a 38.4 por ciento para diferentes poblaciones de la especie *D. pseudoobscura*. El 26 % encontrado en esta población se encuentra dentro de los límites de los resultados publicados por este autor.

### 7.2 POLIMORFISMO CROMOSÓMICO Y CAMBIO AMBIENTAL

La tendencia de los arreglos principales (CU y TL) es negativa, lo que indica que su frecuencia está disminuyendo. Por otro lado, arreglos menores, como OA y SC, están tendiendo a aumentar su frecuencia, esto podría indicar, que en un futuro los arreglos en frecuencias menores tengan más peso en la composición genética de la población debido a una adaptación hacia el cambio ambiental. Estos resultados coinciden con los de Céspedes (2006) en *Drosophila subobscura*, donde se ha observado una relación negativa entre el índice de diversidad cromosómica de las poblaciones experimentales y el efecto evolutivo de la temperatura, con una tendencia decreciente de la diversidad cromosómica en respuesta al aumento de temperatura.

Además, como también fue ya observado en estudios previos de evolución térmica en *D. subobscura*, estos resultados podrían interpretarse como una pérdida de diversidad cromosómica en respuesta al aumento de temperatura (Krimbas, 1967; Quintana y Prevosti, 1991, Rodríguez T. y Rodríguez M., 1998) o una disminución de las frecuencias de los arreglos cromosómicos más frecuentes de algunas poblaciones, además, a pesar de la existencia de un debate referente a la existencia de un verdadero cambio climático, estos resultados sugieren una probable respuesta adaptativa al calentamiento global del planeta, también sugerido por Solé *et al.* (2002).

En cuanto a las variables hidro-climáticas, de las cuatro estudiadas, tres resultaron con una relación estadísticamente significativa de  $p < 0.1$  en al menos un arreglo cromosómico. Mientras la EVP, la PCP y la Tmax muestran significancia al ser correlacionados con los arreglos cromosómicos, la Tmin parece no correlacionar con

ninguno, puesto que no se observa ninguna relación significativa entre la frecuencia de las inversiones y los valores obtenidos para las temperaturas mínimas. Por otro lado, la EVP y la Tmax fueron los factores que más afectaron la frecuencia relativa de los diversos arreglos cromosómicos, ya que en ambos casos se encontró una correlación directa o indirecta con los arreglos TL y OA.

Aunque claramente estos resultados indican que la temperatura máxima afecta significativamente la frecuencia de varios de los arreglos cromosómicos en *D. pseudoobscura*, Pounds *et al.*, (2005) refieren que el cambio climático pudiera estar afectando a otras poblaciones naturales a través de diversos mecanismos que lleven implicaciones importantes y que a menudo pudieran ser indirectos. De esta manera el aumento de temperatura puede afectar la disponibilidad de alimentos como ocurre en el caso de las aves (Pounds *et al.*, 2005), a la creciente probabilidad de brotes patógenos o a factores de enfermedades epidémicas en anfibios (Berger *et al.*, 1998; Lips, 1998, 1999), o a diversos factores relacionados con el ecosistema.

Para descartar que la temperatura estuviera afectando a las poblaciones naturales de manera indirecta, sería recomendable experimentar con la misma población pero en condiciones de laboratorio, donde se pudieran manipular las variables climáticas y las demás se mantuvieran constantes.

## CONCLUSIONES

El ciclo de vida de *D. pseudoobscura* de la población analizada tiene una duración de  $15 \pm 2$  días, siendo más largo que el de *D. melanogaster* por seis días de diferencia.

La viabilidad de la población de *D. pseudoobscura* para Amecameca, Estado de México es de 26 %.

Además, las moscas de la especie *D. pseudoobscura*, portadoras del arreglo CU, viven alrededor de 72 días, por lo que resultan más longevas que la especie *D. melanogaster* por 12 días. Además, los machos son más longevos que las hembras.

En cuanto al impacto que tienen algunas condiciones ambientales sobre las frecuencias de los arreglos cromosómicos de *D. pseudoobscura* resulta positiva para arreglos de frecuencias menores como OA y SC pero negativa para los arreglos de frecuencias mayores TL y CU, pues conforme aumenta la Tmax los arreglos principales disminuyen, mientras que los secundarios aumentan.

Este estudio también sugiere que los cambios ambientales están modificando la estructura cromosómica de una población natural.

Por último, sería conveniente realizar el estudio de las correlaciones entre los polimorfismos cromosómicos y las condiciones ambientales en otras poblaciones naturales.

## BIBLIOGRAFÍA

ARBOLEDA C. E. (2008). Polimorfismo y divergencia en genes implicados en la resistencia al frío en *Drosophila*. Barcelona. Tesis presentada en la Universidad de Barcelona para obtener el grado de Doctor en Genética. pp. 15 – 17.

BALANYÁ J., OLLER J. M., HUEY R. B., GILCHRIST G. W. y SERRA L. (2006). Global genetic change tracks global climate warming in *Drosophila subobscura*. *Science*. 313: 1773 – 1775.

BARRIO E., LATORRE A. y MAYA A. (1994). Phylogene of the *Drosophila obscura* species group deduced from mitochondrial DNA secuencias. *J. Mol. Evolut.* 39: 478 – 488.

BARTOLOMÉ C. y CHARLESWORTH B. (2006). Rates and patterns of chromosomal evolution in *Drosophila pseudoobscura* and *D. miranda*. *Genetics*. 173: 779 – 791.

BECKENBACH A., WEI Y. y LIU H. (1993). Relationship in the *Drosophila obscura* species group, inferred from mitochondrial cytochrome oxidase II secuencias. *Mol. Biol. Evol.* 10: 619 – 634.

BERGER L., SPEARE R., DASZAK P., GREEN D. E., CUNNINGHAM A. A., GOGGIN C. L., SLOCOMBE R., RAGAN M. A., HYATT A. D., MCDONALD K. R., HINES H. B., LIPS K. R., MARANTELLI G. y PARKES, H. (1998). Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated whit population declines in the rainforest of Australia and Central America. *Proc. Nat. Acad. of Sci. USA* 95: 9031 – 9036.

BRADSHAW W. E. y HOLZAPFEL C. M. (2006). Evolutionary response to rapid climate change. *Science*. 312: 1477 – 1478.

CARIOU M.L., LACHAISE D., TSACAS L., SOURDIS J., KRIMBAS C. y ASHBURNER M. (1988). New African species in the *Drosophila obscura* species group: genetic variation, differentiation and evolution. *Heredity*. 61: 73 – 84.

CARSON H. L. (1958). The population genetics of *Drosophila robusta*. *Adv. Genet.* 9: 1 – 40.

CÉSPEDES W. J. (2006). Evolución termal del polimorfismo cromosómico y la morfometría del ala de una población experimental de *Drosophila subobscura*. Tesis de Doctorado en Genética y Microbiología. Departamento de Genética y de Microbiología, Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España.

CHEN I. C., HILL J. K., OHLEMÜLLER R., ROY D. B. y THOMAS C. D. (2011). Rapid range shifts of species associated with high levels of climate warming. *Science*. 333: 1024 – 1026.

COYNE J. A., MEYERS W., CRITTENDEN A. P. y SNIEGOWSKI P. (1993). The fertility effects of pericentric inversión in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*. 134: 487 – 496.

DOBZHANSKY TH. (1943). Genetics of natural populations. IX. Temporal changes in the composition of populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics*. 28: 162 – 186.

DOBZHANSKY TH. (1948). Genetics of natural populations. XVI. Altitudinal and seasonal changes produced by natural selection in certain populations of *Drosophila pseudoobscura* and *Drosophila persimilis*. *Genetics*. 33: 158 – 176.

DOBZHANSKY TH. y STURTEVANT A. H. (1938). Inversions in the chromosomes of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics*. 23: 28 – 64.

DOLGOVA O., REGO C., CALABRIA G., BALANYA J., PASCUAL M., REZENDE E. y SANTOS M. (2010). Genetic Constraints for thermal coadaptation in *Drosophila subobscura*. *BMC Evol. Biol.* 10: 363.

EDGES W. J. (1984). Genetic structure and change in natural populations of *Drosophila robusta*: Systematic inversion and inversion association frequency shifts in the Great Smoky Mountains. *Evolution*. 38: 675 – 688.

ENDLER J. A. (1977). *Geographic variation, speciation and clines*. Princeton University Press, Princeton. pp. 96 – 98.

FONTDEVILA A., ZAPATA C., ÁLVAREZ G., SÁNCHEZ L., MÉNDEZ J. y ENRIQUEZ I. (1983). Genetic coadaptation in the chromosomal polymorphism of *Drosophila subobscura*. I. Seasonal changes of gametic disequilibrium in a natural population. *Genetics*. 105: 935 – 955.

GODDARD, K., COCCONE A. y POWELL J. R. (1990). Evolutionary implications of DNA divergente in the *Drosophila obscura* group. *Evolution*. 44: 1656 – 1670.

GUZMÁN J., SALCEDA V. M., OLVERA O. y LEVINE L. (2005). Geographical gradient of chromosomal polymorphism in Mexican populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 21: 21 – 25.

GUZMÁN J., SALCEDA V. M. y VILLALOBOS R. (2006). Dinámica de los polimorfismos cromosómicos en *Drosophila pseudoobscura*. En: Tópicos de Genética. (A. E. Pimentel Peñaloza, A. R. Ortiz Muñiz y M. Breña Valle, Coordinadores). Universidad Autónoma del Estado de México y Sociedad Mexicana de Genética A.C. Eds. pp. 119 – 136.

HADDRILL P. R., LOEWE L. y CHARLESWOTRH B. (2010). Estimating the parameters of selection on nonsynonymous mutations in *Drosophila pseudoobscura* and *D. miranda*. *Genetics*. 185: 1381 – 1396.

HALDANE J. B. (1948). The theory of a cline. *J. Genet.* 48: 277 – 284.

HOFFMANN A.A. y RIESEBERG L.H. (2008). Revisiting the impact of inversions in evolution: From population genetic markers to drivers of adaptative shifts and speciation. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 39: 21 – 42.

HUXLEY J. S. (1939). Clines: an auxiliary method in taxonomy. *BAIJDR. Dierk.* 27: 491 – 520.

KASTRITSIS C. D. y CRUMPACKER D. W. (1966). Gene arrangements in the third chromosome of *Drosophila pseudoobscura*. I. Configurations whit tester chromosomes. *J Hered.* 57: 150 – 158.

KASTRITSIS C. D. y CRUMPACKER D. W. (1967). Gene arrangements in the third chromosome of *Drosophila pseudoobscura*. II. All posible configurations. *J Hered.* 58: 112 – 129.

KAUFMAN B. P. (1962). Guía de *Drosophila*. Introducción a la Genética y Citología de *Drosophila melanogaster*. Séptima Edición. Washington, D.C. Edición autorizada por la Institución de Carnegie de Washington. 56 p.

KRIMBAS C. B. (1967). The genetics of *Drosophila subobscura* populations. III. Inversion polymorphism and climatic factors. *Mol. and Gen. Genet.* 99: 133 – 150.

KRIMBAS C. B. y POWELL J. L. (1992). *Drosophila* inversion polymorphism CRC. Press. Boca Raton. FL.

LAKOVAARA y SAURA, (1982). Evolution and speciation in *Drosophila obscura* group. En: *Genetics and Biology of Drosophila*. Vol 3b. Eds. M. Asburner, H.L. Carson, J.N. Thompson Jr. Academic Press: London. pp. 1 – 59.

LEMEUNIER F. y AULARD S. (1992). Inversion polymorphism in *Drosophila melanogaster*. En: *Drosophila* inversion polymorphism, Eds. Krimbas C.B and Powell J.R. CRC. Press, Boca Ratón, FL. pp. 339 – 405.

LEVITAN M. (1992). Chromosomal variation in *Drosophila robusta*. En: *Drosophila* inversion polymorphism. Eds. Krimbas C. B. and Powell J. R. CRC. Press, Boca Ratón. FL. Pp. 221 – 338.

LEVITAN M. (2001). Studies of linkage in populations. XIV. Historical changes in frequencies of gene arrangement combinations in natural populations of *Drosophila robusta*. *Evolution*. 55: 2359 – 2362.

LEWIS W. (2010). Desarrollo del plan corporal de *Drosophila*. En: *Principios del desarrollo*. Tercera edición. Ed. Médica Panamericana. Madrid, España. pp 32 – 34.

LIPS K. R. (1998). Decline of a tropical montane amphibian fauna. *Conserv. Biol.* 12: 106 – 117.

LIPS K. R. (1999). Mass mortality and population declines of anurans at an upland site in western Panama. *Conserv. Biol.* 13: 117 – 125.

MACHADO C. A., KLIMAN R. M., MARRET J. A. y HEY J. (2002). Inferring the history of speciation from multilocus DNA sequence data: the case of *Drosophila pseudoobscura* and close relatives. *Mol. Biol. Evol.* 19: 472 – 488.

MACHADO C. A. y HEY J. (2003). The causes of phylogenetic conflict in a classic *Drosophila* species group. *Proc. R. Soc. Lond Ser. B* 270: 1193 – 1202.

MENNOZZI P. y KRIMBAS C. B. (1992). The inversion polymorphism of *Drosophila subobscura* revisited: synthetic maps of gene arrangements frequencies and their interpretation. *J. Evol. Biol.* 5: 625 – 641.

MINTEER. B. A. y COLLINS J. P. (2012). Species conservation, rapid environmental change, and Ecology. *Ethics. Nat. Educ. Knowled.* 3 (10): 14.

OLVERA O., POWELL J. R., DE LA ROSA M. E., SALCEDA V. M., GASO M. I., GUZMÁN J., ANDERSON W. W. y LEVINE L. (1979). Population genetics of Mexican *Drosophila*. IV. Cytogenetic aspects of the inversion polymorphism in *Drosophila pseudoobscura*. *Evolution* 33: 381 – 393.

OLVERA O., DE LA ROSA M. E., SALCEDA V. M., GASO M. I. y GUZMÁN J. (1982). Population Genetics of Mexican *Drosophila*. VII. Inversion Polymorphism in Populations of *Drosophila pseudoobscura* from Southern Mexico. *The Southwestern Naturalist.* 27 (3): 361 – 364.

OLVERA O., SALCEDA V. M., LEVINE L. y GUZMÁN J. (2005). Chromosomal polymorphism of *Drosophila pseudoobscura* from southern México. Rev. Int. Contam. Ambient. 21 (Supl. 1): 27 – 30.

ORENGO D. J. y PREVOSTI A. (1996). Temporal changes in chromosomal polymorphisms of *Drosophila subobscura* related to climate changes. Evolution 50: 1346 – 1350.

PAINTER T. S. (1934). Salivary chromosomes and the attachment on the gene. J. Heredity 25: 464 – 476.

PARMESAN C. (2006). Ecological and evolutionary responses to recent climate change. Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. 37: 637 – 669.

POUNDS J. A., FOGDEN M. P. L. y MASTERS K. L. (2006). Response of natural communities to climate change in a Highland Tropical Forest. En: Climate change and biodiversity. (T.E. Lovehoy y L.Hanna, Eds.) Yale Press University New Haven CT. pp. 61 – 69.

POWELL J. R. (1992). *Drosophila* inversion polymorphism. En: Krimbas C. Powell J. editors. Inversion polymorphisms in *Drosophila pseudoobscura* and *Drosophila persimilis*: Boca Raton Florida: CRC Press. pp. 73 – 126.

POWELL J. R. (1997). Progress and prospects in evolutionary biology: the *Drosophila* model. Oxford University Press, New York.

PREVOSTI A., SERRA L., RIBÓ G., AGUADÉ M., SAGARRA E., MONCLÚS M. y GARCÍA M. P. (1985). The colonization of *D. subobscura* in Chile: II. Clines in the chromosomal arrangements. Evolution 39: 838 – 844.

PREVOSTI A., SERRA L., AGUADÉ M., RIBÓ G., MESTRES F., BALANYÁ J. y MONCLÚS M. (1989). Colonization and establishment of the Palearctic species *Drosophila subobscura* in North and South America. En: A. Fontdevila, ed. Evolutionary Biology of transient unstable populations. Springer-Verlag, Berlin. pp. 114 – 129.

PREVOSTI A., SERRA L., SEGARRA C., AGUADÉ M., RIBÓ G. y MONCLÚS M. (1990). Clines of chromosomal arrangements of *Drosophila subobscura* in South America evolved closer to old world patterns. *Evolution* 44: 218 – 221.

PUIG M., CACERES M. y RUIZ A. (2004). Silencing of a gene adjacent to the breakpoint of widespread *Drosophila* inversion by a transposon induced antisense RNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 101: 9013 – 9018.

QUINTANA A. y PREVOSTI A. (1991). Genetic and Environmental factors in the resistance of *Drosophila subobscura* adults to high temperature shock. III Chromosomal-inversion & enzymatic variation in lines selected for heat shock resistance. *Genetics*. 84: 165 – 170.

RAMOS P. Y GUZMÁN J. (2011). Citogenética de insectos. En: Manual del XVIII Curso Teórico Práctico de Citogenética. pp. 8 – 16.

ROBERTS P. A. (1976). The genetics of chromosome aberration. In: The genetics and biology of *Drosophila*, Eds: Ashburner M. y Novitski E. Academic Press, London. 1: 67 – 184.

RODRÍGUEZ T. F., ÁLVAREZ G. y ZAPATA C. (1996). Time-series analysis of seasonal changes of the O inversion polymorphism of *Drosophila subobscura*. *Genetics* 142: 179 – 187.

RODRÍGUEZ T. F. y RODRÍGUEZ M. A. (1998). Rapid micro-evolution and loss of chromosomal diversity in *Drosophila* in response to climate warming. *Evol. Ecol.* 12: 829 – 838.

ROOT T. L. y HUGHES L. (2005). Present and future phenological changes in wild plants and animals. En: *Climate Change and Biodiversity* (T. E. Lovejoy & L. J. Hannah, Eds.) Yale Press University New Haven CT. pp. 61 – 88.

SALCEDA V. M. (2008). Aspectos del polimorfismo genético en *Drosophila pseudoobscura*, *D. willistoni* y *D. nebulosa*. *Acta Agronom.* 57: 117 – 123.

SALCEDA V. M. (2009). Geographical changes in relative frequency of inversions in chromosome III of *Drosophila pseudoobscura* among natural populations from Mexico. *Genetics* 41: 155 – 167.

SALCEDA V. M. y ESPINOZA V. J. (2006). Micro-geographic variation of inversions in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* 38: 97 – 106.

SALCEDA V. M., GUZMÁN J., OLVERA O. y LEVINE L. (2007a). Chromosomal variation in natural populations of *Drosophila pseudoobscura* inhabiting northern Mexico. *Southwestern Naturalist* 52: 430 – 434.

SALCEDA V. M., GUZMÁN J. y OLVERA O. (2007b). Inversion polymorphism in some natural populations of *Drosophila pseudoobscura* from Central Mexico. *Genetics* 39: 343 – 354.

SALCEDA V. M., GUZMÁN J., OLVERA O. y DE LA ROSA M. E. (2008). Temporal changes in relative frequencies of third chromosome inversions of *Drosophila pseudoobscura* in populations. *Genetics* 40: 215 – 226.

SALCEDA V. M. y ARCEO M. C. (2013). Algunos componentes de valor adaptativo en poblaciones naturales de *Drosophila pseudoobscura* originarias de México. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 29 (4): 97.

SCHAFFER S. W y MILLER E. L. (1991). Nucleotide sequence analysis of Adh gene estimates the time of geographic isolation of the Bogota population of *Drosophila pseudoobscura*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 6097 – 6101.

SCHAEFFER S. W. y ANDERSON W. W. (2005). Mechanisms of genetic exchange within the chromosomal inversions of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* 171: 1729 – 1739.

SOLÉ E., BALANYÁ J., SPERLICH D. y SERRA L. (2002). Long- term changes in the chromosomal inversion polymorphism of *Drosophila subobscura*. I. Mediterranean populations from southwestern Europe. *Evolution Int. J. Org. Evolut.* Apr. 56: 830-835.

SORSA V. (1988). Polytene chromosome in genetic research. Wiley, New York, p. 280.

SPERLICH D. (1963). Chromosomal polymorphism and position effect in *Drosophila subobscura*. *Procc 11<sup>th</sup> Int. Congr. Genetics* 1: 166.

SPERLICH D. y PFRIEM P. (1986). Chromosomal polymorphism in natural and experimental populations. En: *The genetics and biology of Drosophila*. Vol. 3. Eds. M. Ashburner, H. L., Carson and J.N. Thompson. Academic Press, London. pp. 257 – 309.

STURTEVANT A. H. (1917). Genetic factors affecting the strength of linkage in *Drosophila*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 22: 448 – 452.

STURTEVANT A. H. (1942). The clasification of the genus *Drosophila* with description of mine new species. The University of Texas Publication 4213: 5 – 51.

STURTEVANT A. H. y DOBZHANSKY TH. (1936). Inversions in the third chromosome of wild races of *Drosophila pseudoobscura* and their use in the study of the history of the species. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 448 – 450.

TAMARIN ROBERT H. (1996). El cromosoma eucariótico, en: "Principios de genética". Ed. REVERTÉ, BARCELONA. pp. 404 – 406.

TSACAS T. L., CARION M.L. y LACHAISE D. (1985). Le groupe *Drosophila obscura* en Afrique de L'Est. Description de trois nou velles espèces (Diptera, Drosophilidae). Annl. Soc. Ent. Fr 21: 413 – 424.

VAN HEERWAARDEN B. y HOFFMANN A. A. (2007). Global warming: Fly populations are responding rapidly to climate change. Curr. Biol. 17: R16 - R18.

WALLACE A. G. DETEWEILER D. y SHAEFFER W. (2011). Evolutionary history of the third chromosome gene arrangements of *Drosophila pseudoobscura* inferred from inversion breakpoints. Mol. Biol. Evol. 28: 2219 – 2229.

WANG R. L., WARELY J. y HEY J. (1997). Gene flow and natural selection in the origin of *Drosophila pseudoobscura* and close relatives. Genetics 147: 1091 – 1106.

WHITE M. J. (1973). Animal Cytology and Evolution. 3<sup>rd</sup> ed. Cambridge University Press.

WRIGHT S. y DOBZHANSKY TH. (1946). Genetics of natural populations. XII. Experimental reproduction of some of the changes caused by natural selection in the certain population of *Drosophila pseudoobscura*. Genetics 31: 125 – 136.