

LA MICROEVOLUCIÓ EN ACCIÓ: MARCADORS GENÈTICS DEL CANVI CLIMÀTIC

LLUÍS SERRA

Departament de Genètica, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona.

Adreça per a la correspondència: Lluís Serra. Departament de Genètica,
Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona. Av. Diagonal, 645. 08028 Barcelona.
Adreça electrònica: lserra@ub.edu.

RESUM

La introducció i ràpida expansió de *Drosophila subobscura* al Nou Món, unes tres dècades ençà, va donar l'oportunitat de determinar la predictibilitat i la taxa d'evolució de les clines geogràfiques. A més a més, les comparacions de mostres històriques i recents de les freqüències d'inversions cromosòmiques ha permès determinar si el canvi genètic segueix l'empremta del canvi climàtic en les poblacions naturals.

Paraules clau: polimorfisme cromosòmic, adaptació, canvi climàtic.

MICROEVOLUTION IN ACTION: GENETIC MARKERS OF CLIMATIC CHANGE

SUMMARY

The introduction and rapid spread of *Drosophila subobscura* in the New World three decades ago provide an opportunity to determine the predictability and rate of evolution of geographic clines. Furthermore, comparisons of recent with historical samples of chromosome inversion frequencies provide opportunities to determine whether genetic change is tracking climate change in natural populations.

Key words: chromosomal polymorphism, adaptation, climatic change.

POLIMORFISMES CROMOSÒMICS PER INVERSIONS

Parlem de polimorfisme quan en una mateixa població existeixen dos o més al·lels o dos o més fenotips heretats en freqüències apreciables. Encara que un polimorfisme pot estar controlat pels al·lels d'un únic locus (com en el cas dels grups sanguinis humans ABO), les formes més complexes de polimorfisme estan controlades per supergens, formats pels al·lels de molts locus genètics fortament lligats en el mateix cromosoma. Un cas particular el constitueixen els polimorfismes cromosòmics, en el qual els individus d'una població es diferencien respecte al seu nombre de cromosomes o per la seva estructura. En moltes espècies de *Drosophila*, els polimorfismes cromosòmics per inversions tenen un significat evolutiu particularment important. La seva investigació ha permès fer avenços importants en la genètica de poblacions experimental. Aquests polimorfismes es caracteritzen pel fet que els individus d'una població presenten més d'un tipus d'un determinat cromosoma homòleg, i cadascun d'aquests tipus es diferencia per la disposició invertida (inversió) de determinats fragments de l'esmentat homòleg. Fixem-nos, doncs, que els polimorfismes cromosòmics representen només indirectament els polimorfismes genètics. En moltes espècies de *Drosophila* i en d'altres dípters, com en els gèneres de mosquit *Chironomus*, *Culex* i *Anopheles*, s'observen molts polimorfismes cromosòmics per inversions. En aquests insectes les inversions es poden observar particularment bé, ja que tots posseeixen cromosomes gegants (politènics) en els nuclis de les cèl·lules de les glàndules salivals de les larves, però és probable que altres espècies animals i vegetals tinguin també polimorfismes cromosòmics per inversions, encara que les observacions

en aquests casos siguin més difícils a causa de la manca de cromosomes gegants.

Les inversions s'originen quan un cromosoma es trenca per dos llocs i el fragment resultant s'inverteix i es torna a soldar en els punts de trencament. Quan la inversió inclou el centròmer del cromosoma s'anomena *pericèntrica*, i quan no l'inclou, *paracèntrica* (vegeu la figura 1). En les poblacions naturals només les inversions paracèntriques tenen rellevància evolutiva. En combinació heterozigòtica (quan l'individu té un cromosoma homòleg normal i l'altre amb la inversió), les inversions supprimeixen la recombinació en el fragment invertit. Els heterozigots per una inversió es poden observar bé en els cromosomes gegants de les glàndules salivals dels dípters. Això és degut al fet que aquests cromosomes es formen per juxtaposició de moltes cromàtides de cada homòleg, i, a més a més, els dos homòlegs estan íntimament aparellats (aparellament somàtic). Això fa que siguin cromosomes molt grans (gegants), els quals tenen un patró de bandes transversals característic a causa de la superposició dels cromòmers (zones molt espiralitzades) de cada cromàtida. Si un dels dos homòlegs té una inversió i l'altre no, per assolir un aparellament somàtic correcte els dos homòlegs han de formar, en aparellar-se, una nansa o llaç (nansa d'inversió) a la zona del fragment invertit. A la figura 2 es presenta un esquema de la formació d'aquesta nansa en un heterozigot per la inversió E_8 de *D. subobscura* (vegeu més endavant la descripció del sistema d'inversions d'aquesta espècie). Els heterozigots per una inversió també s'anomenen *heterocariotips*. En el cas de les inversions paracèntriques, si es produeix un entrecruament dins del fragment invertit en un heterocariotip, les cromàtides recombinants són acèntriques o dicèntriques, les quals, durant la meiosi de les femelles, van a parar als corpuscles polars i no a l'oòcit.

En *Drosophila*, en els mascles no es produeixen entrecreuaments. Això explica perquè en els gàmetes dels heterocariotips no es troben cromàtides recombinants (la supressió de la recombinació), i també que la fertilitat d'aquests individus sigui normal. Aquest mecanisme no es dona en el cas de les inversions pericèntriques, la qual cosa pot explicar el fet que aquestes inversions siguin molt rares en les poblacions naturals. Si es produeix un doble entrecruament dins de la inversió, però, les cromàtides recombinants són normals; tanmateix, la probabilitat d'aquest esdeveniment és molt petita. Com es mostra a la figura 2, els homocariotips (homozigots per al cromosoma invertit o per al cromosoma normal) no presenten cap nansa, com cal esperar, encara que ambdós es poden distingir pel patró de bandes transversals.

D. subobscura és una espècie paleàrtica que recentment (fa uns trenta anys) ha colonitzat el continent americà. Una dotació cromosòmica haploide d'aquesta espècie consisteix en cinc cromosomes acrocèntrics (anomenats A, E, J, O i U) i un cromosoma molt petit, puntiforme. En tots els cromosomes

acrocèntrics de l'espècie s'ha observat un polimorfisme per inversions molt ric. S'han descrit més de seixanta inversions diferents, que s'agrupen en més de noranta ordenaments cromosòmics (diferents complexos d'inversions) en les més de cent cinquanta poblacions naturals que s'han analitzat fins ara (Krimbas, 1992). El patró de nanses observat en els heterocariotips per a alguns d'aquests ordenaments pot ser molt complicat i reconegut només pels millors especialistes. A la figura 3 s'inclou una fotografia d'un heterocariotip per a un d'aquests ordenaments del cromosoma O, i també un esquema explicatiu que en facilita la interpretació. Alguns d'aquests ordenaments són rars o es localitzen només en àrees concretes, però almenys dos o més ordenaments de cada cromosoma estan àmpliament distribuïts en tota l'àrea de distribució de l'espècie i les seves freqüències presenten una variació clinal que està correlacionada amb la latitud geogràfica (Prevosti, 1966). S'entén per *clina* un canvi sistemàtic de la freqüència d'un ordenament (o d'una inversió) al llarg d'un gradient geogràfic. Les clines latitudinals es poden mesurar mitjançant el pendent de la recta de regressió de la freqüència (corregida) de l'ordenament (o inversió) en cadascuna de les localitats analitzades. Per analitzar el polimorfisme cromosòmic és fonamental disposar de soques (línies pures) homocariotípiques per a tots els cromosomes, i definir el que s'entén per *ordenament estàndard* (ST), respecte al qual tots els altres ordenaments són comparats, mitjançant el patró de nanses observat en els heterocariotips. En el cas de *D. subobscura*, l'elecció dels ordenaments estàndard es remunta al mapa cromosòmic publicat per Mainx *et al.* (1953), el qual va utilitzar l'única soca de *D. subobscura* aleshores disponible en el laboratori, procedent de la localitat suïssa de Küssnacht, que era homocariotípica per a tots els

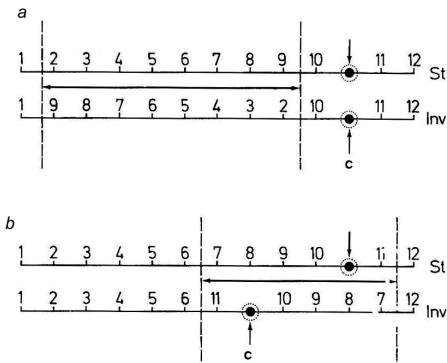


FIGURA 1. Inversió paracèntrica (a) i pericèntrica (b) senzilles. La seqüència gènica ancestral (St) se simbolitza amb l'ordre numèric natural. Mitjançant trencaments entre 1-2 i 9-10 (respectivament, entre 6-7 i 11-12), un gir de 180° i la posterior unió dels fragments amb la resta del cromosoma, s'originen les estructures invertides corresponents.

chromosomes. El mapa va ser millorat més tard per Kunze-Mühl i Müller (1958), i és el que normalment s'utilitza avui dia. Els ordenaments estàndard són freqüents en les poblacions del nord però la seva freqüència va decreixent gradualment cap al sud. Altres ordenaments, però, els quals difereixen dels estàndard per una o més inversions, no s'observen en les poblacions del nord i la seva freqüència va augmentant cap al sud.

LA BASE GENÈTICA DE LA VARIACIÓ DE L'APTITUD ENTRE ORDENAMENTS CROMOSÒMICS

Els estudis més detallats del polimorfisme cromosòmic per inversions en poblacions naturals van ser fets per Dobzhansky i els seus col·laboradors en l'espècie nord-americana *D. pseudoobscura*. En aquesta espècie el polimorfisme cromosòmic per inversions es limita molt sovint a tan sols un dels quatre cromosomes llargs, és a dir, al cromosoma 3. No tan sols s'observen inversions senzilles, sinó també ordenaments complexos formats per inversions superpo-

sades o incloses unes dins de les altres. En *D. pseudoobscura*, cada ordenament s'anomena segons el nom de la localitat on va ser observat per primera vegada: així, juntament amb els ordenaments estàndard (ST), es troben els anomenats Chiricahua (CH), Arrowhead (AR), etc. A la figura 4 es representa la distribució geogràfica dels ordenaments ST, AR i PP (Pikes Peak). A l'oest dels EUA l'ordenament ST és relativament freqüent, però ja és rar a Arizona i no s'observa a Texas. A l'inrevés succeeix amb l'ordenament PP, i l'ordenament CH té la màxima freqüència a Arizona i Nou Mèxic (Sinnott *et al.*, 1958). Veiem, doncs, que aquests ordenaments es distribueixen segons clines longitudinals (oest-est). Durant la dècada dels trenta, Dobzhansky i els seus col·laboradors van col·lectar *D. pseudoobscura* i *D. persimilis* (una espècie sinmòrfica de *D. pseudoobscura*) a Califòrnia i els estats veïns. Utilitzant la tècnica de Painter (1933), van estudiar els cromosomes politènics d'ambdues espècies i van descobrir que les poblacions naturals eren polimòrfiques per a molts ordenaments cromosòmics. Dobzhansky estava convençut que els diferents ordenaments estaven mantinguts en les poblacions per selecció a favor dels heterozigots (vegeu més endavant). Més tard, va fer també un descobriment interessant, sobretot pel que fa referència a la segona part d'aquest treball: un dels ordenaments, anomenat PP (Pikes Peak), era molt rar en les poblacions estudiades fins al 1946, però el 1958 la seva freqüència havia incrementat fins a un 8%. No solament això, sinó que aquesta freqüència era semblant en totes les poblacions incloses en una àrea de 500.000 km² a Califòrnia. Aquest canvi hauria d'estar correlacionat amb el canvi d'algun factor selectiu ambiental, no identificat.

Ens podríem preguntar com s'originen aquesta mena de polimorfismes cromosòmics i quin és el seu significat evolutiu per

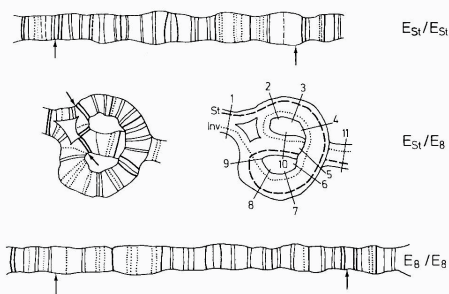


FIGURA 2. Esquema de dos homocariotips (E_{st}/E_{st} i E_8/E_8) i d'un heterocariotip (E_{st}/E_8) per la inversió E_8 de *D. pseudoobscura*. Observeu la nansa d'inversió en l'heterocariotip, i que ambdós homocariotips es poden distingir pel patró de bandes dels cromosomes politènics.

a les poblacions. En general s'admetia que l'origen de les inversions era un esdeveni-

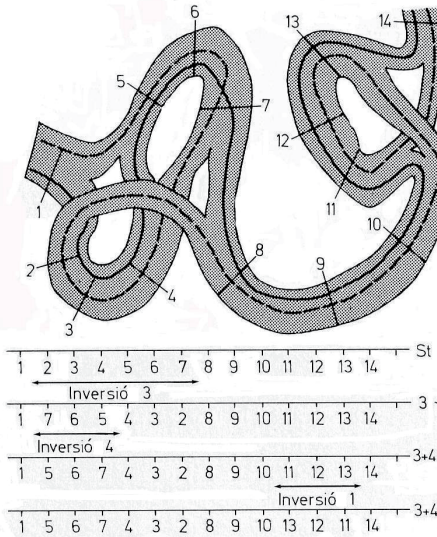
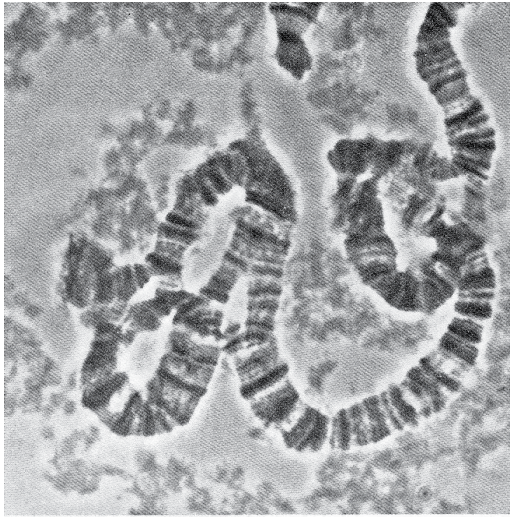


FIGURA 3. Nanses d'inversió complexes en els cromosomes gegants de *D. subobscura*. La foto correspon a un heterocariotip O_{3+4+1}/O_{st} . En l'esquema, la trajectòria del cromosoma normal es representa mitjançant una línia contínua i la trajectòria del cromosoma amb les inversions O_{3+4} i O_1 , amb una línia discontinua. A la part inferior de l'esquema s'explica l'origen del complex d'inversions (ordenament) O_{3+4+1} mitjançant una sèrie d'inversions successives. La lletra O simbolitza un cromosoma de l'espècie.

ment molt poc probable, i que no era possible que es tornés a produir espontàniament exactament la mateixa inversió, amb uns punts de trencament idèntics. Això encara era més clar en el cas dels ordenaments complexos, com els que s'observen en *D. subobscura* (vegeu la figura 3). Això demostrava que el polimorfisme per inversions no es mantenia mitjançant mutacions espontànies recurrents d'una determinada estructura. Per què hi ha uns ordenaments i no uns altres en el *pool* gènic de la població és una qüestió força debatuda. Potser és degut a efectes de posició positius o negatius, que mantenen o eliminen els ordenaments un cop aquests s'han originat espontàniament. Actualment, amb el coneixement més detallat de què es disposa a escala molecular dels elements genètics transposables, s'ha comprovat que la recombinació ectòpica (recombinació entre segments de DNA amb homologia de seqüència que es troben en diferents posicions en el cromosoma) entre seqüències homòlogues de dues còpies d'un element transposable pot afectar fragments cromosòmics molt grans i produir inversions. En *Drosophila* s'ha observat que els punts de trencament de les inversions presents en les poblacions naturals contenen elements transposables (Cáceres *et al.*, 1999). La invasió del genoma per part d'una classe d'elements transposables distribueix una gran quantitat de seqüències homòlogues per tot el genoma, la qual cosa facilita enormement la recombinació ectòpica (Fontdevila i Moya, 2003). Els punts de trencament de les inversions es poden considerar punts calents d'insercions d'elements transposables, i mostren una gran inestabilitat genètica. També s'ha comprovat que la conversió gènica està implicada en la transferència d'informació genètica entre inversions de poblacions naturals (Rozas i Aguadé, 1994). Considerant el seu efecte sobre la recombinació i el flux gènic entre inversions,

l'entrecruament és molt més important que la conversió gènica en el cas d'inversions grans, mentre que la conversió adquireix importància en inversions petites i a prop dels punts de trencament (Navarro *et al.*, 1997).

Però, per què, en general, els polimorfismes per inversions es mantenen com a part essencial i permanent de la variabilitat genètica de les poblacions? Les investigacions clàssiques dutes a terme per Dobzhansky i Wright ens ajuden a respondre aquesta pregunta. En primer lloc comentaré breument els resultats obtinguts en caixes de poblacions. Dobzhansky va ser el primer que va demostrar la utilitat de les caixes de poblacions per estudiar la dinàmica evolutiva de les inversions (Wright i Dobzhansky, 1946). Per poder mantenir poblacions experimentals de *Drosophila* al laboratori s'utilitzen les anomenades *caixes de poblacions*, recipi-

ents de metacrilat amb forats laterals per on s'introdueixen els vials amb medi de cultiu fresc o s'extreuen els vials amb medi ja consumit. Normalment, si les condicions de cultiu són bones, el cens de la població d'una caixa pot arribar ràpidament a valors d'uns quants milers d'individus, amb la qual cosa es poden excloure dels resultats obtinguts els efectes de la deriva genètica. Si s'utilitzen intervals de temps adients entre la introducció dels vials nous i l'extracció dels vells, es pot mantenir la població durant un nombre indefinit de generacions. El cens de la població està limitat, naturalment, per la disponibilitat d'aliments. Per tant, s'arriba a una situació d'equilibri, en la qual cada parella produeix, de mitjana, dos descendents; però, com que la fertilitat de cada femella de *Drosophila* és molt més elevada, es produeix una «lluita per la subsistència», és a dir, una forta selecció, entre els individus de la caixa.

Dobzhansky (1948) va fundar caixes de poblacions de *D. pseudoobscura* que contien diferents proporcions de dos ordenaments cromosòmics existents en les poblacions naturals. Els progenitors de les mosques utilitzades per fundar cadascuna de les caixes es van collectar a les localitats de Piñon Flats, Keen Camp i Mather (Califòrnia). Piñon Flats i Keen Camp estan molt a prop una de l'altra (13 km) però les característiques biòtiques d'ambdues localitats són molt diferents. Mather es troba a uns 500 km al nord, a la Sierra Nevada. En cada caixa s'introduïa una barreja de mosques procedents de la mateixa localitat, amb una determinada proporció de dos ordenaments cromosòmics. Cada dos o tres mesos es prenen mostres d'ous de la caixa i es mantenen les larves fins que tenien les condicions òptimes; aleshores s'analitzaven els cromosomes gegants de les glàndules salivals d'aquestes larves i així es determinaven les freqüències dels dos ordenaments.

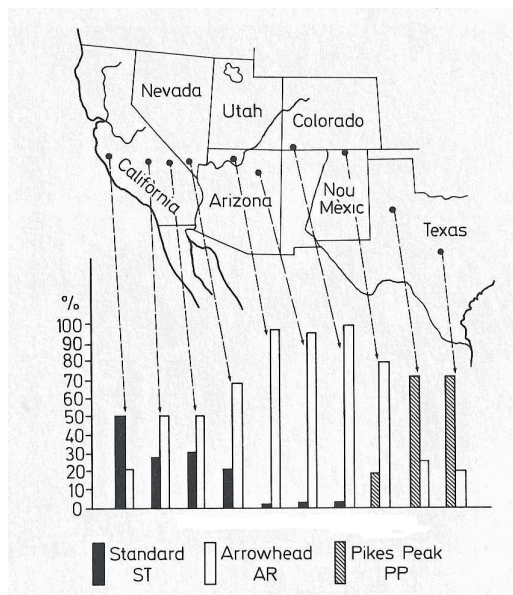


FIGURA 4. Freqüència dels ordenaments cromosòmics ST (estàndard), AR (Arrowhead) i PP (Pikes Peak) de *D. pseudoobscura*, en diferents localitats dels EUA (Sinnott, Dunn i Dobzhansky, 1958, p. 278).

Per tant, es coneixien les freqüències de cada tipus cromosòmic que hi havia a les caixes en cadascun dels intervals indicats. A la figura 5 es presenten els resultats obtinguts en el cas de les caixes 39 i 40, iniciades amb unes proporcions determinades dels ordenaments AR i CH, procedents de la mateixa localitat. En ambdós casos s'arriba a un polimorfisme i no desapareix cap ordenament. A la caixa 39, l'ordenament AR tenia una freqüència inicial al voltant del 80 %, i a la caixa 40 al voltant del 20 %. En ambdós casos la corba de freqüències s'aproxima a un valor d'equilibri de la freqüència d'AR del 60 %. Independentment de l'origen geogràfic, els heterocariotips tenen major aptitud que els homocariotips corresponents. Segons això, el procés de selecció natural no determina l'eliminació d'un ordenament i la fixació de l'altre; en lloc d'això s'arriba a un equilibri en el qual ambdós ordenaments es mantenen amb unes freqüències defini-

des. El valor adaptatiu dels diferents ordenaments depèn de l'origen geogràfic de les mosques. Així, els homocariotips AR/AR són molt superiors als homocariotips CH/CH si els cromosomes implicats són de la població de Piñon Flats i no pas, per exemple, de Mather. Això demostra que *els cromosomes amb els mateixos ordenaments que es troben en diferents localitats tenen continguts genètics diferents*. En una determinada localitat, els continguts genètics dels cromosomes amb diferents ordenaments estan mútuament coadaptats per la selecció natural, la qual cosa és la causa de l'heterosi observada (de la major aptitud dels heterocariotips).

Hipòtesi de la coadaptació

A què és degut aquest efecte heteròtic que s'observa en els heterocariotips? Per

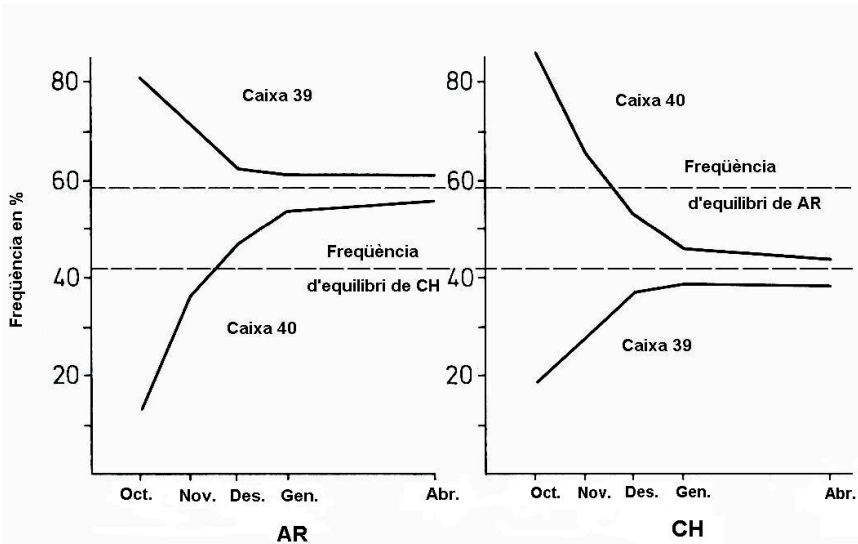


FIGURA 5. Variació estacional de les freqüències dels ordenaments cromosòmics AR (Arrowhead) i CH (Chiricahua) en poblacions experimentals de *D. pseudoobscura*. Independentment de les freqüències cromosòmiques inicials amb què s'han fundat les caixes, s'arriba a les freqüències d'equilibri: 60 % d'AR i 40 % de CH (caixes fundades amb individus d'una població natural concreta).

què els heterocariotips estan seleccionats positivament? La hipòtesi de la coadaptació intenta donar una resposta a aquestes preguntes. El terme *coadaptació* té dos aspectes. En primer lloc, els al·lels que interaccionen dins d'una inversió estan coadaptats entre si per produir un genotip particularment adaptat (efectes epistàtics sobre l'aptitud). En segon lloc, ja que almenys inicialment la nova inversió es trobarà sobretot en combinació heterozigòtica, el seu *block* d'al·lels —que es mantenen junts a causa de la manca de recombinació— ha d'estar coadaptat amb els al·lels dels ordenaments cromosòmics alternatius, de tal manera que l'heterocariotip tingui una aptitud superior. Els experiments realitzats per Dobzhansky en caixes de poblacions són els que han aportat més proves a favor de la hipòtesi de la coadaptació, basada en el contingut genètic de les inversions. Com hem vist, aquests experiments van demostrar que cada ordenament cromosòmic d'una població està coadaptat de manera específica amb els ordenaments alternatius de la mateixa població. Per tant, almenys en *D. pseudoobscura*, el caràcter adaptatiu del polimorfisme cromosòmic per inversions és molt específic, i només són compatibles aquells ordenaments cromosòmics que provenen de la mateixa població natural: quan els experiments en caixes de poblacions s'inicien, amb els ordenaments A i B obtinguts de la mateixa població, s'arriba a un polimorfisme estable. Quan els ordenaments A i B provenen de poblacions diferents els resultats obtinguts són impredecibles. A més a més, la recombinació entre ordenaments idèntics però procedents de poblacions naturals diferents elimina el caràcter heteròtic de les combinacions heterocariotípiques, és a dir, la coadaptació. Altres autors han intentat millorar els experiments en caixes, per simular una mica millor les condicions de la natura. Anderson *et al.* (1967) van prendre mostres

d'onze poblacions naturals de *D. pseudoobscura* i van fundar onze caixes de poblacions amb les mateixes freqüències dels ordenaments que hi havia en les poblacions naturals. Els resultats obtinguts demostraven clarament que el contingut genètic del mateix ordenament podia ser molt diferent en cadascuna de les poblacions.

POLIMORFISMES CROMOSÒMICS RÍGIDS I FLEXIBLES

En un estudi comparatiu del polimorfisme cromosòmic de diferents espècies de *Drosophila*, Dobzhansky classifica aquests polimorfismes com a flexibles o rígids (Dobzhansky, 1962). En les espècies que tenen un polimorfisme cromosòmic flexible, la freqüència dels diferents ordenaments en les poblacions naturals varia segons les fluctuacions dels factors ambientals. La majoria de poblacions de *D. pseudoobscura* en són un exemple: en aquestes poblacions les freqüències relatives dels ordenaments cromosòmics varien en funció de la temperatura, tant en les poblacions naturals com en les de laboratori. Això fa que s'observin també oscil·lacions estacionals cícliques molt clares dels diferents ordenaments en una població i fortes diferències entre les poblacions. També es troben diferències notables entre poblacions properes però que tenen condicions biòtiques molt diferents pel fet que estan situades en diferents altituds. En canvi, en les espècies que tenen un polimorfisme rígid no s'observen desviacions estacionals de les freqüències dels diferents ordenaments, o aquestes són insignificants. Les poblacions properes però amb condicions biòtiques diferents tampoc no presenten diferències, i en casos extrems, com el de *D. pavana* (Brncic, 1957), tampoc no s'observen diferències entre poblacions molt separades geogràficament.

Què succeeix en el cas del polimorfisme cromosòmic per inversions de *D. subobscura*? És rígid o flexible? Dobzhansky (1962) considerava que era rígid, basant-se en les observacions de Kunze-Mühl *et al.* (1958), les quals coincidien amb les de Stumm-Zollinger (1953) i Pentzos-Daponte (1964). En tots aquests estudis es va analitzar la variació estacional del polimorfisme cromosòmic de *D. subobscura* en una localitat determinada; en cap cas no es van detectar variacions significatives de les freqüències dels diferents ordenaments. Prevosti (1964) va analitzar el polimorfisme cromosòmic de poblacions d'aquesta espècie de l'àrea de Barcelona, però en localitats que tenien condicions microevolutives molt diferents, i tampoc no va observar diferències. Però també hi ha altres estudis en els quals s'ha observat una variació estacional o altitudinal del polimorfisme de *D. subobscura*. Burla i Götz (1965) observen una variació estacional significativa de les freqüències de determinats ordenaments en localitats de les rodalies de Zürich. Krimbas (1964) observa també variacions estacionals del polimorfisme cromosòmic en poblacions gregues de l'espècie i atribueix les distribucions de determinats ordenaments a un efecte de la temperatura. Del que sí que no hi ha dubte és que el polimorfisme cromosòmic de *D. subobscura* varia molt al llarg d'àrees geogràfiques molt esteses —recordem les clines latitudinals que presenten alguns ordenaments de l'espècie, les quals hem esmentat al començament d'aquest treball. Les poblacions del nord d'Europa, per exemple, tenen un polimorfisme molt pobre i es poden considerar en aquest sentit com poblacions marginals. Les poblacions mediterrànies tenen un polimorfisme molt ric i les centreeuropees es poden considerar intermèdies. Rodríguez-Trelles *et al.* (1996) detecten variació del polimorfisme per inversions del cromosoma O de *D. subobscura*

dos nivells: una variació a curt termini, estacional (primavera, començament d'estiu, finals d'estiu i tardor), amb canvis estacionals repetits al llarg dels anys dels ordenaments més freqüents, correlacionats amb la variació estacional de factors climàtics com la temperatura, la humitat, la pluviositat i la insolació, i una variació a llarg termini, direccional, d'algun ordenament.

VALOR ADAPTATIU DEL POLIMORFISME CROMOSÒMIC PER INVERSIONS DE *D. subobscura*

El fet que les trajectòries evolutives siguin ràpides o lentes, graduals o puntuades i predictibles o contingents, ha estat molt debatut en biologia evolutiva. L'avaluació de les trajectòries microevolutives de conjunts replicats de poblacions naturals a una escala geogràfica rarament és factible (Balançà *et al.*, 2003). Els casos en què això es pot fer inclouen aquelles espècies que han envaït recentment diferents àrees geogràfiques; en aquest cas, una manera de demostrar que s'ha produït un canvi microevolutiu ràpid, uniforme i predictable, a escala geogràfica, és comprovar si en les poblacions invasores evolucionen ràpidament clines geogràfiques paral·leles i independents de les existents en les poblacions de l'àrea de distribució original de l'espècie. Si, al contrari, les poblacions invasores desenvolupessin clines idiosincràtiques, caldria donar aleshores més importància a la deriva genètica com a factor responsable de la variació observada.

D. subobscura és una espècie idònia per avaluar les trajectòries microevolutives (Ayala *et al.*, 1989). Com ja he comentat, molts ordenaments cromosòmics presenten clines latitudinals a la regió paleàrtica. A més a més, dades de sèries temporals

obtingudes en algunes localitats europees indiquen que les freqüències d'alguns ordenaments, típics de latituds càlides, han augmentat (Orengo i Prevosti, 1996; Rodríguez-Trelles i Rodríguez, 1998; Solé *et al.*, 2002). Fa uns trenta anys l'espècie va colonitzar Amèrica del Sud i del Nord. Ambdues àrees colonitzades tenen els mateixos ordenaments cromosòmics, els quals van ser transportats per la mostra d'individus colonitzadors (dos del cromosoma A, dos del J, tres de l'U, cinc de l'E i sis de l'O). Aquests ordenaments són els més freqüents de la regió paleàrtica, llevat de la inversió O5. L'espècie ha colonitzat amplies àrees (> 15° de latitud) tant a Amèrica del Nord com del Sud, i les poblacions colonitzadores han quedat exposades a gradients climàtics semblants a aquells als quals estan exposades les poblacions europees originals. Per tant, les poblacions del Vell Món ens proporcionen els patrons bàsics de les trajectòries evolutives representades per la variació latitudinal de les freqüències dels ordenaments cromosòmics, i en les poblacions del Nou Món (tant les d'Amèrica del Nord com del Sud) les podem considerar com «rèpliques» naturals d'un «gran experiment evolutiu» (Ayala *et al.*, 1989).

De fet, fins aleshores no estava clar si les clines latitudinals que presenten molts ordenaments cromosòmics a Europa eren degudes a la selecció natural (eren adaptatives) o be es podien explicar per causes històriques. Vegem un exemple d'aquesta última possibilitat: suposem que apareix un ordenament cromosòmic en una localitat. Al principi, si l'ordenament no es perd, s'estendrà entre els individus descendents d'aquell progenitor on s'ha produït la mutació. Per tant, la freqüència de l'ordenament serà més alta en la seva àrea d'origen. Evidentment que l'ordenament es pot estendre a d'altres àrees més allunyades, per migració, però aleshores esperaríem que la seva

freqüència anés disminuint a mesura que ens allunyem de l'àrea d'origen, és a dir, obtindríem una clina de la seva freqüència, la qual no seria deguda a factors selectius, sinó a la «història» demogràfica (també a processos de deriva) de l'ordenament. La colonització d'Amèrica per part de *D. subobscura* ha proporcionat una oportunitat única per determinar si el polimorfisme cromosòmic de l'espècie és adaptatiu.

Molt pocs anys després de la colonització, es va analitzar el polimorfisme cromosòmic de les poblacions colonitzadores (al 1981 a Amèrica del Sud, i el 1985-1986 a Amèrica del Nord); es va detectar una evolució sorprenentment ràpida a escala geogràfica (Prevosti *et al.*, 1985, 1988). Fins i tot en aquestes anàlisis primerenques ja s'havien desenvolupat clines latitudinals de les freqüències d'alguns ordenaments, equivalents a les existents en l'àrea paleàrtica d'origen. Una segona anàlisi de poblacions sud-americanes, el 1986, suggeria que aquestes clines encara estaven evolucionant i es feien més semblants encara a les existents a Europa (Prevosti *et al.*, 1990). L'aparició d'aquestes clines al Nou Món no es pot explicar per causes històriques i, per tant, cal admetre'n el caràcter adaptatiu. L'evolució d'aquestes clines havia estat, doncs, molt ràpida i previsible —en el sentit que, coneixent les clines europees, es pot «predir» el possible desenvolupament de clines equivalents en àrees geogràfiques noves amb gradients climàtics semblants. Tanmateix, a les àrees colonitzades no s'han desenvolupat només clines latitudinals de les freqüències dels ordenaments cromosòmics; també s'ha detectat l'aparició de clines paral·leles a les europees en d'altres caràcters. Concretament, en les poblacions de *D. subobscura* del Vell Món, la grandària del cos —mesurada mitjançant la longitud de l'ala de la mosca— incrementa de manera clinal amb la latitud. Una dècada després de la colonització no

es van detectar encara clines equivalents en les poblacions americanes (Pegueroles *et al.*, 1995), però dues dècades després ja es va detectar una clina per a la grandària del cos a les poblacions nord-americanes (Huey *et al.*, 2000) equivalent a l'europea. Aquesta taxa d'evolució morfològica a escala intercontinental és de les més ràpides que s'han detectat. Cal remarcar que, encara que al Vell Món i al Nou Món la longitud de l'ala de les mosques incrementa amb la latitud —i, per tant, també la grandària del cos— en ambdues regions ho fa mitjançant l'increment de *diferents* segments de les venes alars.

ELS ORDENAMENTS CROMOSÒMICS COM A MARCADORS GENÈTICS DEL CANVI CLIMÀTIC GLOBAL

El canvi climàtic està alterant les distribucions geogràfiques, les abundàncies, les fenologies i les interaccions biòtiques entre els organismes. També pot alterar la composició genètica de les espècies, però la quantificació d'aquest fet requereix disposar de dades genètiques obtingudes en sèries temporals. Els registres històrics de les freqüències d'ordenaments cromosòmics permeten avaluar la sensibilitat genètica als canvis climàtics i a d'altres factors ambientals. En el cas de l'espècie *D. subobscura* es disposava de sèries temporals de dades (tretze a quaranta-sis anys) de les freqüències d'ordenaments cromosòmics i de dades de temperatura en vint-i-sis poblacions (tretze d'eupees, set de nord-americanes i sis de sud-americanes). Vam realitzar una anàlisi (Balanyà *et al.*, 2006) per comprovar si les temperatures havien augmentat al llarg d'aquests anys en aquestes localitats i també per si havien augmentat les freqüències d'aquells ordenaments cromosòmics típics de latituds càlides. Volíem in-

vestigar si la magnitud i direcció dels canvis genètics (canvis en les freqüències dels ordenaments) eren paral·lels als canvis detectats en la temperatura, i si això succeïa als tres continents. Les dades històriques de les freqüències dels ordenaments de les vint-i-sis poblacions analitzades les vam obtenir de dades publicades per diferents autors. Entre 1997 i 2004 vam obtenir les dades recents, en mostres de les mateixes poblacions (o molt properes) durant la mateixa època de l'any en què havien estat obtingudes les dades històriques. En totes les mostres es va analitzar el contingut en ordenaments cromosòmics per a cadascun dels cinc cromosomes acrocèntrics de l'espècie. En total, cinquanta ordenaments diferents, incloent-hi els vint-i-un que presenten clines latitudinals al Vell Món i els divuit ordenaments presents en les poblacions colonitzadores d'Amèrica.

En lloc d'analitzar els canvis de les freqüències dels ordenaments individuals, vam desenvolupar un índex cromosòmic (Ch_{PCL}) basat en les freqüències (p_i) de tots els ordenaments dels cinc cromosomes acrocèntrics, amb una anàlisi de components principals amb la utilització de les freqüències centrades i transformades (mitjançant la transformació $2\sqrt{p_{ij}}$) dels ordenaments dels cinc cromosomes per a les cinquantedues mostres (vint-i-sis d'històriques i vint-i-sis de recents). El primer component principal obtingut, que explica el 45,8 % de la variabilitat total, és el que hem utilitzat com a índex cromosòmic. Per determinar si hi havia hagut un canvi de la temperatura durant el temps transcorregut entre les mostres històriques i les recents, vam desenvolupar també un índex de temperatura (T_{PCL}), basat en les temperatures mitjanes mensuals registrades a les estacions meteorològiques més properes a les localitats de captura durant els quatre anys anteriors a cada mostra. Com en el cas dels ordenaments

cromosòmics, vam realitzar posteriorment una anàlisi de components principals utilitzant les mitjanes mensuals de temperatura, centrades, per a les cinquanta-dues mostres. El primer component principal obtingut, que explica el 79,8 % de la variabilitat total, és el que hem utilitzat com a índex de temperatura (T_{PC1}).

L'índex de temperatura, T_{PC1} , com cal esperar, es correlaciona negativament amb la latitud als tres continents (vegeu la figura 6). Ha incrementat significativament entre les mostres històriques i les recents, i això també ho ha fet als tres continents (vegeu la figura 6), la qual cosa és consistent amb l'existència d'un escalfament global. De fet, T_{PC1} ha augmentat en vint-i-dues de les vint-i-sis localitats analitzades. Els canvis són més grans a Europa, la qual cosa pot ser deguda al fet que al Vell Món ha transcorregut un període de temps més llarg entre les captu-

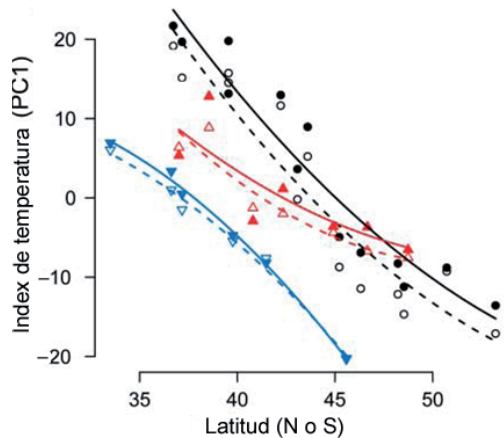


FIGURA 6. L'índex de temperatura (T_{PC1}) és inversament correlacionat amb la latitud en les vint-i-sis localitats analitzades als tres continents, i ha augmentat significativament entre les mostres històriques (corbes de regressió discontinües) i les mostres recents (corbes de regressió contínues). Les localitats europees es representen amb símbols de color negre, les d'Amèrica del Nord, de color vermell, i les d'Amèrica del Sud, de color blau. Les corbes de regressió corresponen a polinomis ortogonals de segon grau.

res de les mostres històriques i les recents, i també a l'existència d'un ventall més ampli de climes. L'índex cromosòmic està inversament relacionat no solament amb la latitud (vegeu la figura 7), sinó també amb T_{PC1} als tres continents; per tant, serveix com a indicador genètic del clima local. En vint-i-quatre de les vint-i-sis poblacions analitzades, els ordenaments cromosòmics associats a latituds càlides (valors alts de Ch_{PC1}), han augmentat de freqüència entre les mostres històriques i les recents. En una localitat determinada, les freqüències dels ordenaments i la temperatura han esdevingut més «equatorials». Quan s'escala la magnitud d'aquests canvis en termes equivalents de graus de latitud, els canvis observats en les freqüències dels ordenaments i la temperatura als tres continents es poden considerar equivalents al desplaçament de les mostres històriques $\sim 1^\circ$ de latitud més a prop de l'equador.

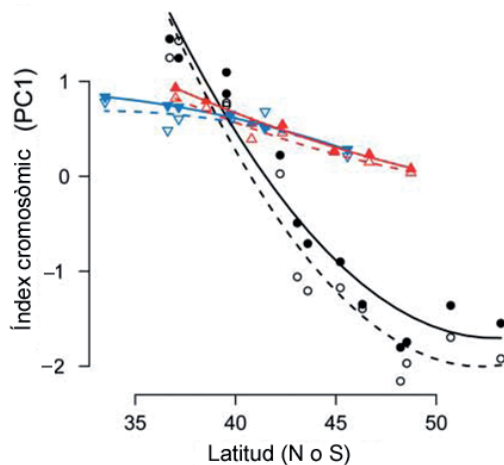


FIGURA 7. L'índex cromosòmic (Ch_{PC1}) està inversament relacionat amb la latitud i ha augmentat entre les mostres històriques (corbes de regressió discontinües) i les mostres recents (corbes de regressió contínues). Les localitats europees es representen amb símbols de color negre, les d'Amèrica del Nord, de color vermell, i les d'Amèrica del Sud, de color blau. Les corbes de regressió corresponen a polinomis ortogonals de segon grau.

Veiem, doncs, que aquest canvi genètic ha estat excepcionalment ràpid i detectable fins i tot en mostres separades tan sols dues dècades. En altres insectes també s'han detectat canvis genètics paral·lels al canvi climàtic (Umina *et al.*, 2005), encara que a una escala geogràfica més limitada. Fins ara no és clar si els canvis observats reflecteixen una selecció local, una invasió progressiva dels genotips procedents de latituds més baixes, o les dues coses alhora. La gran qüestió que queda pendent és conèixer, a escala molecular, quins són els gens, les seqüències reguladores o les interaccions genètiques responsables del valor adaptatiu del polimorfisme cromosòmic per inversions, sense excloure, evidentment, els patrons epigenòmics i la seva regulació. Els ordenaments cromosòmics poden afectar els patrons d'expressió genètica mitjançant el canvi de posició de seqüències reguladores (Navarro *et al.*, 2005) i poden tenir un efecte directe i indirecte sobre l'expressió de gens lligats (Marquès-Bonet *et al.*, 2004).

BIBLIOGRAFIA

- ANDERSON, W. W.; DOBZHANSKY, T.; KASTRITSIS, C. D. (1967). «Selection and inversion polymorphism in experimental populations of *Drosophila pseudoobscura* initiated with chromosomal constitutions of natural populations». *Evolution*, 21: 664-671.
- AYALA, F. J.; SERRA, L.; PREVOSTI, A. (1989). «A grand experiment in evolution: the *Drosophila subobscura* colonization of the Americas». *Genome*, 31: 246-255.
- BALANYÀ, J.; OLLER, J. M.; HUEY, R. B.; GILCHRIST, G. W.; SERRA, L. (2006). «Global genetic change tracks global climate warming in *Drosophila subobscura*». *Science*, 313: 1773-1775.
- BALANYÀ, J.; SERRA, L.; GILCHRIST, G. W.; HUEY, R. B.; PASCUAL, M.; MESTRES, F.; SOLÉ, E. (2003). «Evolutionary pace of chromosomal polymorphism in colonizing populations of *Drosophila subobscura*: An evolutionary time series». *Evolution*, 57: 1837-1845.
- BRNCIC, D. (1957). «Chromosomal polymorphism in natural populations of *Drosophila pavani*». *Chromosoma*, 8: 699-708.
- CÁCERES, M.; RANZ, J. M.; BARBADILLA, A.; LONG, M.; RUIZ, A. (1999). «Generation of a widespread *Drosophila* inversion by a transposable element». *Science*, 285: 415-418.
- DOBZHANSKY, T. (1948). «Genetics of natural populations XVIII. Experiments on chromosomes of *Drosophila pseudoobscura* from different geographic regions». *Genetics*, 33: 588-602.
- (1962). «Rigid vs. flexible chromosomal polymorphisms in *Drosophila*». *Amer. Natur.*, 96: 321-328.
- FONTDEVILA, A.; MOYA, A. (2003). *Evolución: origen, adaptación y divergencia de las especies*. Madrid: Síntesis.
- HUEY, R. B.; GILCHRIST, G. W.; CARLSON, M. L.; BERRIGAN, D.; SERRA, L. (2000). «Rapid evolution of a geographic cline in an introduced fly». *Science*, 287: 308-309.
- KRIMBAS, C. B. (1964). «The genetics of *Drosophila subobscura* populations. I. Inversion polymorphism in populations of southern Greece». *Evolution*, 18: 541-552.
- (1992). «The inversion polymorphism of *Drosophila subobscura*» A: KRIMBAS, C. B.; POWELL, J. R. [ed.]. *Drosophila inversion polymorphism*. Boca Raton: CRC Press, 127-220.
- KUNZE-MÜHL, E.; MÜLLER, E. (1958). «Weitere Untersuchungen über die chromosomale Struktur und die natürlichen Strukturtypen von *Drosophila subobscura* Coll». *Chromosoma*, 9: 559-570.
- KUNZE-MÜHL, E.; MÜLLER, E.; SPERLICH, D. (1958). «Qualitative, quantitative und jahreszeitliche Untersuchungen über den chromosomalen Polymorphismus natürlicher Populationen von *Drosophila subobscura* in der Umgebung von Wien». *Z. Vererbungslehre*, 89: 636-646.
- MAINX, F.; KOSKE, T.; SMITAL, E. (1953). «Untersuchungen über die chromosomale Struktur europäischer Vertreter der *Drosophila obscura* Gruppe». *Z. Indukt. Abstammungs. Vererbungslehre*, 85: 354-372.
- MARQUÈS-BONET, T.; CÁCERES, M.; BERTRANPETIT, J.; PREUSS, T. M.; THOMAS, J. W.; NAVARRO, A. (2004). «Chromosomal rearrangements and the genomic distribution of gene expression divergence in humans and chimpanzees». *Trends. Genet.*, 20: 524-529.
- NAVARRO, A.; BETRAN, E.; BARBADILLA, A.; RUIZ, A. (1997). «Recombination and gene flux caused by gene conversion and crossing over in inversion heterokaryotypes». *Genetics*, 146: 695-709.
- NAVARRO, A.; GAZAVE, E. (2005). «Inversions with classical style and trendy lines». *Nature Genetics*, 37: 115-116.

- ORENGO, D. J.; PREVOSTI, A. (1996). «Temporal changes in chromosomal polymorphism of *Drosophila subobscura* related to climatic changes». *Evolution*, 50: 1346-1350.
- PAINTER, T. S. (1933). «A new method for the study of chromosome rearrangements and the plotting of chromosome maps». *Science*, 78: 585-586.
- PEGUEROLES, G.; PAPACEIT, M.; QUINTANA, A.; GUILLÉN, A.; PREVOSTI, A.; SERRA, L. (1995). «An experimental study of evolution in progress: clines for quantitative traits in colonizing and Palearctic populations of *Drosophila*». *Evol. Ecol.*, 9: 453-465.
- PENTZOS-DAPONTE, A. (1964). «Qualitative und quantitative Untersuchungen über den chromosomalen Polymorphismus natürlicher Populationen von *Drosophila subobscura* in der Umgebung von Thessaloniki – Griechenland». *Z. Vererbungsl.*, 95: 129-144.
- PREVOSTI, A. (1964). «Chromosomal polymorphism in *Drosophila subobscura* populations from Barcelona (Spain)». *Genet. Res.*, 5: 27-38.
- (1966). «Chromosomal polymorphism in western Mediterranean populations of *Drosophila subobscura*». *Genet. Res.*, 7: 149-158.
- PREVOSTI, A.; RIBÓ, G.; SERRA, L.; AGUADÉ, M.; BALANYÀ, J.; MONCLÚS, M.; MESTRES, F. (1988). «Colonization of America by *Drosophila subobscura*: Experiment in natural populations that supports the adaptive role of chromosomal-inversion polymorphism». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85: 5597-5600.
- PREVOSTI, A.; SERRA, L.; RIBÓ, G.; AGUADÉ, M.; SAGARRA, E.; MONCLÚS, M.; GARCÍA, M. P. (1985). «The colonization of *Drosophila subobscura* in Chile. II. Clines in the chromosomal arrangements». *Evolution*, 39: 838-844.
- PREVOSTI, A.; SERRA, L.; SEGARRA, C.; AGUADÉ, M.; RIBÓ, G.; MONCLÚS, M. (1990). «Clines of chromosomal arrangements of *Drosophila subobscura* in South America evolve closer to Old World patterns». *Evolution*, 44: 218-221.
- RODRÍGUEZ-TRELLES, F.; ALVAREZ, G.; ZAPATA, C. (1996). «Time-series analysis of seasonal changes of the O inversion polymorphism of *Drosophila subobscura*». *Genetics*, 142: 179-187.
- RODRÍGUEZ-TRELLES, F.; RODRÍGUEZ, M. A. (1998). «Rapid microevolution and loss of chromosomal diversity in *Drosophila* in response to climate warming». *Evol. Ecol.*, 12: 829-838.
- ROZAS, J.; AGUADÉ, M. (1994). «Gene conversion is involved in the transfer of genetic information between naturally occurring inversions of *Drosophila*». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91: 11517-11521.
- SINNOT, E. W.; DUNN, L. C.; DOBZHANSKY, T. (1958). *Principles of genetics*. Nova York: McGraw-Hill, 278.
- SOLÉ, E.; BALANYÀ, J.; SPERLICH, D.; SERRA, L. (2002). «Long-term changes of the chromosomal inversion polymorphism of *Drosophila subobscura*. I. Mediterranean populations from South-western Europe». *Evolution*, 56: 830-835.
- STUMM-ZOLLINGER, E. (1953). «Vergleichende Untersuchungen über die Inversionshäufigkeit bei *Drosophila subobscura* in Populationen der Schweiz und Südwesteuropas». *Z. indukt. Abstamm.-u. Vererb.-Lehre*, 85: 382-407.
- UMINA, P. A.; WEEKS, A. R.; KEARNEY, M. R.; MCKECHNIE, S. W.; HOFFMANN, A. A. (2005). «A rapid shift in a classic clinal pattern in *Drosophila* reflecting climate change». *Science*, 308: 691-693.
- WRIGHT, S.; DOBZHANSKY, T. (1946). «Experimental reproduction of some of the changes caused by natural selection in certain populations of *Drosophila pseudoobscura*». *Genetics*, 31: 125-156.