

EFFECTO DE LA CONTAMINACIÓN URBANA SOBRE LA VIABILIDAD HUEVO-ADULTO DE *DROSOPHILA MELANOGASTER* (DROSOPHILIDAE) EN CALI, COLOMBIA

Oscar Eduardo Tabares Mosquera

Universidad del Valle, Apartado Aéreo 25360, Cali, Colombia.

correo electrónico: oscar.tabmos@gmail.com

Ranulfo González Obando

Universidad del Valle, Apartado Aéreo 25360, Cali, Colombia.

correo electrónico: ranulfo.gonzalez@correounivalle.edu.co

Heiber Cárdenas Henao

Universidad del valle, Apartado Aéreo 25360, Cali, Colombia.

correo electrónico: hecarden@yahoo.es

RESUMEN

La calidad del aire en zonas urbanas se ha convertido en un tema preocupante en las últimas décadas, debido a los efectos negativos que los contaminantes del aire tienen sobre los humanos; con el propósito de verificar si la calidad del aire interviene en la eficacia biológica (*fitness*) de las especies que hacen parte de un hábitat industrializado se utilizó como bioindicador el organismo modelo *Drosophila melanogaster*. Para ello, se ensayaron 30 cromosomas II silvestres de machos ($+_i/+_j$) de *D. melanogaster* de dos localidades, una rural y otra urbana, para medir el efecto del cromosoma silvestre en la viabilidad de las moscas homocigotas utilizando la desviación entre las cifras observadas y esperadas en la F_3 . Para esto, se realizaron cruces con hembras de una cepa de letales balanceados con el objetivo de volver homocigoto el cromosoma II proveniente de la población natural y así detectar genes letales recesivos ocultos en heterocigosis. Se encontró que en la población con calidad de aire menor (urbana) la viabilidad huevo-adulto de *D. melanogaster* fue significativamente menor ($0,8781 \pm 0,0760$) que en la población rural ($0,9804 \pm 0,0815$). Además, se reporta que el porcentaje de los cromosomas silvestres letales y semiletals para La Flora fue significativamente mayor que en Pance (13,33 %, 10 % y 6,67 %, 3,33 %, respectivamente).

Palabras clave: calidad del aire, letales balanceados, viabilidad.

ABSTRACT

Air quality in urban areas has become a concern in recent decades, due to the negative effects air pollutants have on humans. In order to verify that the air quality is involved in fitness of species that are part of an industrialized habitat was used as a biomarker the model organism *Drosophila melanogaster*, for this purpose 30 wild chromosomes II ($+_i/+_j$) of *D. melanogaster* males were tested at two locations, one rural and one urban, to measure the effect of wild chromosome in the viability of homozygous flies using the deviation between the observed and expected values in F_3 . For this we crossed females of a balanced lethal strain in order to return chromosome II homozygous from natural population and thus detect hidden recessive lethal genes in heterozygosity. It was found that in population with lower air quality (urban) the *D. melanogaster* egg-adult viability was significantly lower ($0,8781 \pm 0,0760$) than population rural ($0,9804 \pm 0,0815$). In addition, it is reported that the percentage of lethal and sublethal wild chromosomes for La Flora was significantly higher than in Pance (13.33 %, 10 % and 6.67 %, 3.33 %, respectively).

INTRODUCCIÓN

La selección natural actúa sobre variantes genéticas alternativas que afectan la eficacia biológica (*fitness*) tales como: viabilidad, fecundidad y velocidad de desarrollo (Santiago *et al.* 1992, Dobzhansky *et al.* 1993, Fowler *et al.* 1997). Muchas variantes alélicas que modifican componentes de la eficacia biológica no pueden expresarse en individuos típicos en los que es probable que existan en combinación heterocigótica (Dobzhansky *et al.* 1993). Muller (1928) desarrolló un modelo experimental para detectar y cuantificar la variabilidad genética recesiva oculta en los individuos “normales” que afectan la viabilidad de un cromosoma dado de *Drosophila*. Esta técnica consiste, esencialmente, en obtener numerosas moscas, todas ellas homocigotas para un solo cromosoma procedente de una población natural. Las variantes alélicas recesivas presentes en el cromosoma silvestre se expresarán en las moscas homocigotas. El efecto conjunto sobre la eficacia biológica de todas las variantes del cromosoma puede medirse como el efecto promedio del conjunto de moscas homocigotas relativo a las moscas “normales”, es decir, moscas heterocigotas para combinaciones aleatorias de los cromosomas salvajes (Dobzhansky *et al.* 1993).

Para el procedimiento experimental básico se utilizan cepas “equilibradas” especiales. Generalmente, una cepa equilibrada presenta por lo menos un mutante dominante en cada cromosoma, un gen letal recesivo y una o más inversiones cromosómicas. El mutante dominante permite la identificación de los heterocigotos portadores del cromosoma equilibrado; las inversiones inhiben la recombinación genética en los heterocigotos. Las moscas homocigotas para un cromosoma equilibrado mueren a causa del letal recesivo (Dobzhansky *et al.* 1993).

Los machos capturados de una población natural son cruzados individualmente con hembras de la cepa de letales equilibrados. Se cruza un solo macho de la F_1 de cada cruzamiento con una o varias hembras de la cepa de letales equilibrados. El cromosoma salvaje que presenta ese macho de la F_1 se multiplica sin recombinación en las moscas de la F_2 heterocigotas para el cromosoma silvestre y el cromosoma equilibrado. Estas moscas heterocigotas de la F_2 se cruzan entre sí para dar en la F_3 tres tipos de cigotos: homocigotos para el cromosoma silvestre procedente de la población natural; heterocigotos para el cromosoma silvestre y el cromosoma de la cepa de letales equilibrados, y homocigotos para el cromosoma equilibrado, que mueren antes de terminar su desarrollo. Todos los genes recesivos presentes en el cromosoma silvestre se expresarán en los homocigotos de tipo silvestre. Los homocigotos para el cromosoma silvestre son esperados respecto a los heterocigotos para el cromosoma silvestre y el cromosoma equilibrado en una proporción de 1:2, si no existen diferencias entre los mismos. Las desviaciones respecto a la proporción esperada permiten medir el efecto sobre la viabilidad del cromosoma silvestre en homocigosis (Dobzhansky *et al.* 1993). Son típicos de este tipo de experimento los resultados obtenidos por Dobzhansky & Spassky (1963) que estudiaron un elevado número de cromosomas II de una población natural de *D. pseudoobscura*, así como los trabajos en Japón con poligenes controlando viabilidad en *D. melanogaster* (Mukai 1964, Mukai *et al.* 1972); además, se han realizado experimentos para detectar los genes que producen letalidad híbrida en *Drosophila* (Sawamura *et al.* 1993, Brideau *et al.* 2006).

Por otro lado, Bickham *et al.* (2000) sostienen que la contaminación química puede afectar la dinámica de la población en el tiempo resul-

tando en su disminución, debido a mutaciones somáticas y hereditarias. Además, afirman que el daño inicial causado por los contaminantes químicos es a nivel molecular. En el caso del género *Drosophila*, Parsons (1991) y Hurtado *et al.* (1997) afirman que la contaminación atmosférica puede ser monitoreada por la longevidad y por los comportamientos asociados a estrés, resultando en menor viabilidad al incrementarse la polución.

Ahora bien, la Prueba de Mutación y Recombinación Somática (SMART) en el ala de *D. melanogaster* se emplea para verificar la actividad genotóxica de diferentes promutágenos (Graf & Singer 1992, Graham *et al.* 1993, Dihl 2008, Dihl *et al.* 2008). Se ha encontrado que los hidrocarburos policíclicos aromáticos y sus nitroderivados (componentes del smog) generan mutaciones que se observan en el ala al realizar los cruzamientos en el laboratorio (Delgado *et al.* 1995, Kurbalija *et al.* 2010). Villalobos *et al.* (1998) realizaron un estudio con *D. melanogaster* en la zona metropolitana de Ciudad de México, encontrando que la zona centro, de mayor tráfico, presentaba los más altos niveles de mutagenicidad, además que el material en suspensión menor a 10 μm PM10 (respirable) producía mayor mutagenicidad que las partículas en suspensión total PST (inhala-ble-derivadas del suelo); dichas partículas también son componentes del smog.

Según Dobzhansky *et al.* (1993) estudios previos en cromosomas II de *D. melanogaster* arrojaron un porcentaje de letales y semiletales de 20,5 % en Long Island, Nueva York; 25,1 % en Wisconsin y 36,0 % en Napa Valley, California. Si se comparan distintas especies del género, Dobzhansky (1993) afirmaron que en *D. pseudoobscura* de Bogotá, Colombia tuvo el menor porcentaje de letales para este cromosoma con un 18,3 % y el mayor se encontró en la especie *D. willistoni* de varias localidades de Brasil con un 41,3 % de letales y semiletales.

Como se citó anteriormente, los letales y semiletales existen en un porcentaje considerable en las especies del género *Drosophila*, no sólo en *D. melanogaster* y *D. pseudoobscura*, lo que indicaría que hay genes letales recesivos ocultos en los cromosomas II comúnmente entre los individuos de poblaciones silvestres de estos géneros; además, cabe resaltar que según Dobzhansky *et al.* (1993) estos porcentajes varían entre poblaciones silvestres de la misma especie situados en localidades diferentes, lo que estaría asociado a condiciones atmosféricas como la polución que incidiría sobre los cromosomas II, por ejemplo, en su fragmentación. Se ha reportado la variación en la abundancia de *Drosophila* a través de ambientes con diferentes grados de urbanización, siendo éstos claros ejemplos del uso del género *Drosophila* como bioindicador de la calidad ambiental (Gottschalk *et al.* 2007, García *et al.* 2008). En estudios más recientes, Kenig *et al.* (2010) encontraron que existían diferencias en las inversiones polimórficas de *D. subobscura* entre entornos urbanos y no urbanos haciendo evidente que la calidad del aire afecta el genoma. Por lo tanto, un diseño de cruzamientos con letales balanceados para conocer la distribución de genes asociados a la viabilidad, podría ser de gran utilidad para monitorear el impacto de la polución del aire en zonas urbanas, de modo que la disminución de la calidad del aire podría reflejar un efecto negativo sobre la viabilidad huevo-adulto en las poblaciones naturales de *D. melanogaster*. Por ende, con los resultados de este experimento, podría ofrecerse la posibilidad de usar este modelo biológico como indicador de la calidad del aire en nuestras ciudades. Finalmente, el objetivo de esta investigación es determinar si la disminución de la calidad del aire tiene un efecto negativo sobre la viabilidad huevo-adulto en las poblaciones naturales de *D. melanogaster*.

MÉTODOS

Sitios de muestreo

Para el estudio se escogieron dos localidades en la ciudad de Cali diferenciadas por la calidad del aire, para esto se tuvo en cuenta el informe anual 2014 elaborado por el Sistema de Vigilancia de Calidad del Aire de Cali (SVCAC) adscrito al Departamento Administrativo de Gestión del Medio Ambiente (DAGMA) (DAGMA, 2014), donde se muestra una localidad de menor calidad del aire cercana a la zona industrializada (Yumbo-Valle) - barrio La Flora (norte de la ciudad) y una de mayor calidad en el sur - Pance. Los sitios de muestreos se ubicaron en las siguientes coordenadas: 3°29'5.8"N, 76°31'22.3"W para la localidad norte y 3°20'34.1"N, 76°35'36.5"W para la localidad sur.

Recolecta de individuos

El 5 y 6 de marzo de 2015 se realizaron las colectas de individuos en la localidad norte y el 13 y 14 en la localidad sur. Para ello, en las horas de la mañana, se utilizaron cuatro trampas *McPhail* caseras de aproximadamente 3 L cada una, activas durante una hora, con cebo de cerveza y banano en estado de fermentación, para capturar un mínimo de 50 machos de *D. melanogaster* en cada localidad.

Medios de cultivo y ciclo de desarrollo

Se elaboraron los medios agar-banano en recipientes de vidrio cilíndricos (4 cm de diámetro por 10,8 cm de alto) previamente esterilizados; por cada 500 g de banano se usaron 500 mL de agua, 6,2 g de agar-agar, 4 mL de ácido propiónico (bactericida) y 3 mL de nistatina (fungicida). En cada recipiente se vertió el medio hasta ocupar aproximadamente una tercera parte del volumen y se sellaron con tapones de lienzo rellenos de guata también esterilizados; finalmente se dejaban reposar y se utilizaban al siguiente

día.

Desde la introducción de los parentales de *D. melanogaster* a un medio de cultivo hasta que emergían los adultos (después de haber pasado por huevo, tres estadíos larvales y pupa) transcurrían entre 11 y 13 d, teniendo en cuenta que la temperatura en el laboratorio se mantuvo entre 21 y 23°C durante el experimento; las moscas adultas vivieron alrededor de 30 d.

Cruzamientos genéticos

En el laboratorio se identificaron los individuos a nivel de la especie *D. melanogaster* (Diptera, Drosophilidae) con ayuda de una clave biológica y para cada localidad se realizó lo siguiente: para la generación P₁ se seleccionaron 30 machos silvestres (+_i/+_j) y cada uno se colocó en un medio agar-banano para cruzarlo con dos hembras vírgenes de una cepa de letales balanceados del cromosoma II *Curly-Lobe-Plum* (*Cy* + *L/Pm*) provenientes de la colonia de *D. melanogaster* del programa académico de Biología de la Universidad del Valle. El cromosoma II en esta cepa contiene múltiples inversiones que inhiben la recombinación, dos marcadores mutantes dominantes, alas encrespadas (*Cy*) y ojos reducidos (*L*) en uno de los cromosomas homólogos y un marcador mutante dominante (ojos púrpura, *Pm*) en el otro (Dobzhansky *et al.* 1993).

En la generación F₁ se cruzó un solo macho heterocigoto para un cromosoma silvestre y el cromosoma marcador equilibrado (+_i/*Cy* + *L*) con dos hembras vírgenes de la cepa equilibrada (*Cy* + *L/Pm*). En la F₂ se cruzaron entre sí dos machos y cinco hembras vírgenes heterocigotas para el mismo cromosoma silvestre y el cromosoma marcador equilibrado (+_i/*Cy* + *L*). En la F₃ se esperaban las siguientes proporciones: una tercera parte (1/3) homocigota para el cromosoma silvestre (moscas silvestres +_i/+_i) y dos terceras

partes (2/3) heterocigotas para el cromosoma silvestre y el cromosoma marcador equilibrado (moscas $+_i/Cy + L$). No se considera el genotipo homocigoto para el cromosoma marcador equilibrado ($Cy + L/Cy + L$) porque lleva mutantes letales en homocigosis y por tanto, las moscas mueren (Dobzhansky *et al.* 1993). En la F_2 se realizaron tres réplicas por cada cromosoma silvestre ensayado para un total de 90 cruces; para maximizar la cantidad de progenie en cada réplica, las hembras del cruce se trasvasaron a los cinco y a los 10 días a medios nuevos. Luego, para cada uno de los 30 cromosomas II silvestres ensayados, se realizaron los conteos de las moscas silvestres ($+_i/+_i$) y de las portadoras del cromosoma II marcado ($+_i/Cy + L$) en la F_3 hasta superar los 300 individuos en total.

Debido a que el cromosoma marcador puede afectar la viabilidad de los individuos que lo portan en heterocigosis se realizaron cruzamientos de control en la generación F_2 entre cuatro machos de una línea ($+_i/Cy + L$) y cuatro hembras de otra ($+_j/Cy + L$). Un tercio de las moscas de la F_3 procedentes de estos cruzamientos serían heterocigotas para el cromosoma II ($+_i/+_j$) y por tanto, semejantes a moscas de tipo silvestre procedentes de la población natural. Las desviaciones respecto a la proporción esperada de 1:2 en la progenie F_3 de estos cruzamientos de control arrojó una estimación de la viabilidad de las moscas heterocigotas para el cromosoma silvestre y el cromosoma equilibrado respecto a los individuos de tipo silvestre “normales” (Dobzhansky *et al.*, 1993). Ahora bien, como por cada localidad se ensayaron 30 cromosomas II, la totalidad de cruces de control posibles era de 870 (30 permutado 2), de estos se escogieron 174 (20 %) de la siguiente forma: de la matriz de cruces posibles se seleccionaron 87, los que correspondían a un macho i con una hembra j se complementaron con el cruce recíproco, es decir, un macho j con una hembra i y así se obtuvieron los otros 87; esto se realizó para descartar efecto

materno.

Análisis de datos

Para cada uno de los 30 cromosomas II y los 174 cruces de control en cada localidad se calcularon los índices de viabilidad (I) como sigue (Mukai *et al.* 1972):

$$I = \frac{2 \times (\#moscas+_i/+_i)}{(\#moscas+_i/Cy+L)+1}$$

El valor esperado del índice fue de 1,00; el uno del denominador se añade como una corrección para el sesgo introducido cuando se promedian las proporciones (ver Haldane 1956).

Por otro lado, se realizaron pruebas de bondad de ajuste chi-cuadrado (χ^2) con un nivel de significancia del cinco por ciento ($\alpha = 0,05$) para determinar si existían o no desviaciones estadísticamente significativas entre los valores observados y los esperados en la F_3 ; además, se obtuvo un índice de viabilidad promedio total para los cromosomas en homocigosis (moscas $+_i/+_i$) y para el control (moscas heterocigotas $+_i/+_j$). De acuerdo a Greenberg & Crow (1960) las líneas con menos de 10 % del número esperado de moscas de tipo silvestre respecto al total fueron clasificadas como letales. Se utilizó este criterio en lugar del 0 % debido a la ambigüedad producida en la clasificación cuando hay mutantes de viabilidad baja o escapes atípicos del efecto letal; tales moscas son variables en frecuencia, a menudo mal formadas y débiles, y probablemente tienen *fitness* esencialmente cero en las poblaciones naturales (Mukai *et al.* 1972). Para clasificar los cromosomas II silvestres, por fuera de ese criterio, de acuerdo a su efecto sobre la viabilidad se tuvo en cuenta lo siguiente (Dobzhansky *et al.* 1993): cuasi-normales aquellos con índices de viabilidad comprendidos entre dos veces la desviación estándar a ambos lados de la viabilidad media de los heterocigotos, supervitales aquellos que incrementaban la viabilidad por encima

de dos desviaciones estándar respecto a la media, subvitalos los que se encontraron por encima de la mitad de la media pero por debajo de dos desviaciones estándar o dentro de las dos desviaciones estándar pero con diferencias significativas entre las proporciones esperadas y observadas, finalmente semiletales aquellos por debajo de la mitad de la media. Con esas categorías y la frecuencia absoluta (número de cromosomas) se elaboraron polígonos de frecuencias por cada localidad, tanto para la viabilidad debido a moscas homocigotas (experimental) como para las heterocigotas (control). Por otro lado, se realizaron pruebas de normalidad de *D'Agostino* (K^2), tanto para la viabilidad obtenida de los cromosomas en homocigosis como para los heterocigotos, además para descartar efecto materno en los cruces de control se hizo una prueba *t-Student* para muestras pareadas y, para verificar si la viabilidad promedio en la zona rural era mayor que la encontrada en la urbana, se elaboró una prueba *t-Student* para dos muestras independientes con varianzas supuestas iguales, previamente realizada una prueba *F-Snedecor* para homocedasticidad.

RESULTADOS

Los índices de viabilidad para la localidad urbana (La Flora) oscilaron entre 0,1873 y 1,2941 con promedio de $0,8052 \pm 0,3096$ (Tabla 1) sin distribuirse normalmente (Tabla 6). El control para esta localidad presentó viabilidades entre 0,7123 y 1,0699 con promedio de $0,8781 \pm 0,0760$ (Tabla 3) y distribución normal (Tabla 6); además, el rango de la viabilidad experimental fue mayor (1,1070) que el del control (0,3577). Por otro lado, los índices de viabilidad para la localidad rural (Pance) oscilaron entre 0,1358 y 1,2992 con promedio de $0,9401 \pm 0,2672$ (Tabla 2). Por su parte el control para esa localidad presentó viabilidades entre 0,8165 y 1,2306 con promedio $0,9804 \pm 0,0815$ (Tabla 4), además de distribución normal (Tabla 6). En cuanto a los rangos, también en esta localidad el de la

viabilidad experimental fue mayor que el del control (1,1634 y 0,8165, respectivamente). También se observó que todo cromosoma clasificado distinto a cuasinormal presentó χ^2 con $p < 0,05$ (Tablas 1 y 2), es decir, la proporción observada se diferenció significativamente de la esperada.

Ahora bien, el efecto sobre la viabilidad de las moscas homocigotas de los 30 cromosomas II ensayados, tanto en la localidad urbana como en la rural, se presenta en la Tabla 5. El 23,33 % de los cromosomas analizados mostró efecto letal o semiletal en La Flora mientras que en Pance fue el 10 %, además se encontró que la viabilidad promedio de la localidad urbana fue menor que la rural y no se detectó efecto materno en ninguna de ellas (Tabla 6).

Al comparar las viabilidades de los cruces de control (Fig. 1), se observó que 23 de los 87 cromosomas para Pance (26,44 %) presentaron viabilidad de 0,9422 mientras que para La Flora fueron 21 de 87 (24,14 %) con viabilidad 0,8400; ambas clases de viabilidad mostraron la mayor frecuencia absoluta. Los polígonos de frecuencias de ambas localidades revelaron una estructura similar a la de una campana de Gauss, donde el número de cromosomas por categoría se incrementó al acercarse a la viabilidad media y disminuyó al alejarse, esto concuerda con el hecho de que las viabilidades se distribuyeron normalmente en ambos casos (Tabla 6). Por otro lado, al comparar las viabilidades experimentales (homocigotos de la F_3) con la de los controles (heterocigotos de la F_3) (Fig. 2, Fig. 3), se observó que el mayor número de cromosomas en el control (57 de 87 - 65,52 %) se obtuvo en la viabilidad 0,8329 y en el experimental (18 de 30 - 60 %) en la viabilidad 1,0174 para la localidad urbana; en cuanto a la rural, en la misma viabilidad (1,0084) tanto el control como el experimental presentaron la mayor frecuencia, 63 de 87 (72,41 %) y 23 de 30 (76,67 %), respectivamente.

Tabla 1. Resultados obtenidos para la F₃ de cada uno de los 30 cromosomas II en la localidad norte (La Flora), así como los valores de la prueba de bondad de ajuste chi-cuadrado χ^2 con un grado de libertad (1 g.l) y nivel de significancia del cinco por ciento (χ^2 Crítico = 3,841459, $\alpha = 0,05$), los efectos sobre la viabilidad y los índices de viabilidad promedio (I) con sus desviaciones estándar muestrales. En los valores marcados con ** se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las proporciones observadas y esperadas ($p < 0,05$). El índice de viabilidad promedio total fue de $0,8052 \pm 0,3096$.

Cromosoma número	Réplica	Homocigotos (+ _i /+ _i)	Heterocigotos (+ _i /Cy + L)	Total	Número de homocigotos respecto al total (%)	χ^2	Efecto sobre la viabilidad	Índice de viabilidad (I)
1	1	100	215	315	31,75	0,3571	Cuasnormal	$0,9311 \pm 0,0045$
	2	99	211	310	31,94	0,2726		
	3	105	224	329	31,91	0,2979		
2	1	52	282	334	15,57	47,4311**	Semiletal	$0,3764 \pm 0,0083$
	2	55	290	345	15,94	46,9565**		
	3	52	270	322	16,15	42,7888**		
3	1	102	201	303	33,66	0,0149	Cuasnormal	$1,0009 \pm 0,0154$
	2	117	237	354	33,05	0,0127		
	3	104	205	309	33,66	0,0146		
4	1	105	207	312	33,65	0,0144	Cuasnormal	$0,9952 \pm 0,00146$
	2	100	203	303	33,00	0,0149		
	3	111	222	333	33,33	0,0000		
5	1	28	293	321	8,72	87,4907**	Letal	$0,1871 \pm 0,0047$
	2	26	285	311	8,36	87,2814**		
	3	26	274	300	8,67	82,1400**		
6	1	103	204	307	33,55	0,0065	Cuasnormal	$0,9826 \pm 0,0194$
	2	112	230	342	32,75	0,0526		
	3	109	223	332	32,83	0,0377		
7	1	31	290	321	9,66	80,9720**	Letal	$0,2105 \pm 0,0030$
	2	30	283	313	9,58	79,4393**		
	3	29	279	308	9,42	79,2873**		
8	1	106	213	319	33,23	0,0016	Cuasnormal	$0,9937 \pm 0,0095$
	2	107	216	323	33,13	0,0062		
	3	114	226	340	33,53	0,0059		
9	1	90	241	331	27,19	5,6208**	Subvital	$0,7600 \pm 0,0143$
	2	89	230	319	27,90	4,2382**		
	3	85	221	306	27,78	4,2500**		
10	1	131	200	331	39,58	5,8066**	Supervital	$1,2941 \pm 0,0096$
	2	123	189	312	39,42	5,2067**		
	3	122	189	311	39,23	4,8633**		
11	1	107	210	317	33,75	0,0252	Cuasnormal	$0,9965 \pm 0,00197$
	2	104	207	311	33,44	0,0016		
	3	99	202	301	32,89	0,0266		
12	1	98	207	305	32,13	0,1984	Cuasnormal	$0,9490 \pm 0,0150$
	2	99	210	309	32,04	0,2330		
	3	100	206	306	32,68	0,0588		
13	1	115	229	344	33,43	0,0015	Cuasnormal	$0,9941 \pm 0,0231$
	2	112	220	332	33,73	0,0241		
	3	108	222	330	32,73	0,0545		
14	1	100	201	301	33,22	0,0017	Cuasnormal	$0,9934 \pm 0,0029$
	2	100	200	300	33,33	0,0000		
	3	103	206	309	33,33	0,0000		
15	1	92	242	334	27,54	5,0359**	Subvital	$0,7602 \pm 0,0028$
	2	89	233	322	27,64	4,6972**		
	3	90	235	325	27,69	4,6538**		
16	1	114	228	342	33,33	0,0000	Cuasnormal	$0,9955 \pm 0,0045$
	2	110	221	331	33,23	0,0015		
	3	101	201	302	33,44	0,0017		
17	1	99	204	303	32,67	0,0594	Cuasnormal	$0,9501 \pm 0,0060$
	2	100	209	309	32,36	0,1311		
	3	103	220	323	31,89	0,3034		
18	1	105	228	333	31,53	0,4865	Cuasnormal	$0,9220 \pm 0,0045$
	2	100	215	315	31,75	0,3571		
	3	102	220	322	31,68	0,3975		
19	1	105	216	321	32,71	0,0561	Cuasnormal	$0,9627 \pm 0,0044$
	2	109	226	335	32,54	0,0955		
	3	108	224	332	32,53	0,0964		
20	1	98	211	309	31,72	0,3641	Cuasnormal	$0,9331 \pm 0,0104$
	2	113	242	355	31,83	0,3606		
	3	111	234	345	32,17	0,2087		
21	1	29	272	301	9,63	76,0731**	Letal	$0,2153 \pm 0,0030$
	2	30	278	308	9,74	77,1494**		
	3	32	292	324	9,88	80,2222**		
22	1	101	199	300	33,67	0,0150	Cuasnormal	$1,0161 \pm 0,0053$
	2	109	213	322	33,85	0,0388		
	3	104	203	307	33,88	0,0407		
23	1	54	269	323	16,72	40,1254	Semiletal	$0,4024 \pm 0,0022$
	2	52	257	309	16,83	37,8786		
	3	58	286	344	16,86	42,0058		
24	1	103	219	322	31,99	0,2624	Cuasnormal	$0,9525 \pm 0,0177$
	2	102	209	311	32,80	0,0402		
	3	104	218	322	32,30	0,1553		
25	1	33	309	342	9,65	86,3289**	Letal	$0,2078 \pm 0,0074$
	2	32	302	334	9,58	84,7964**		
	3	30	300	330	9,09	87,2727**		
26	1	119	239	358	33,24	0,0014	Cuasnormal	$0,9988 \pm 0,0067$
	2	104	206	310	33,55	0,0065		
	3	108	215	323	33,44	0,0015		
27	1	110	235	345	31,88	0,3261	Cuasnormal	$0,9305 \pm 0,0015$
	2	106	227	333	31,83	0,3378		
	3	112	240	352	31,82	0,3636		
28	1	108	222	330	32,73	0,0545	Cuasnormal	$0,9823 \pm 0,0192$
	2	113	231	344	32,85	0,0363		
	3	117	232	349	33,52	0,0057		
29	1	49	268	317	15,46	45,5836**	Semiletal	$0,3659 \pm 0,0017$
	2	50	271	321	15,58	45,5467**		
	3	51	278	329	15,50	47,0760**		
30	1	106	238	344	30,81	0,9826	Cuasnormal	$0,8945 \pm 0,0066$
	2	94	208	302	31,13	0,6623		
	3	100	222	322	31,06	0,7516		

Tabla 2. Resultados obtenidos para la F₃ de cada uno de los 30 cromosomas II en la localidad sur (Pance), así como los valores de la prueba de bondad de ajuste chi-cuadrado χ^2 con un grado de libertad (1 g.l) y nivel de significancia del cinco por ciento (χ^2 Crítico = 3,841459, $\alpha = 0,05$), los efectos sobre la viabilidad y los índices de viabilidad promedio (I) con sus desviaciones estándar muestrales. En los valores marcados con * se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las proporciones observadas y esperadas ($p < 0,05$). El índice de viabilidad promedio total fue de $0,9401 \pm 0,2672$.

Cromosoma número	Réplica	Homocigotos (+ _i /+ _i)	Heterocigotos (+ _i /Cy + L)	Total	Número de homocigotos respecto al total (%)	χ^2	Efecto sobre la viabilidad	Índice de viabilidad (I)
1	1	110	207	317	34,70	0,2666	Cuasnormal	1,0574 ± 0,0119
	2	108	201	309	34,95	0,3641		
	3	115	219	334	34,43	0,1811		
2	1	112	223	335	33,43	0,0015	Cuasnormal	1,0172 ± 0,0150
	2	110	213	323	34,06	0,0759		
	3	109	212	321	33,96	0,0561		
3	1	103	203	306	33,66	0,0147	Cuasnormal	0,9954 ± 0,0127
	2	106	214	320	33,13	0,0063		
	3	103	207	310	33,23	0,0016		
4	1	83	232	315	26,35	6,9143*	Subvital	0,7132 ± 0,0120
	2	82	225	307	26,71	6,0603*		
	3	87	247	334	26,05	7,9775*		
5	1	109	213	322	33,85	0,0388	Cuasnormal	1,0153 ± 0,0049
	2	105	207	312	33,65	0,0144		
	3	116	227	343	33,82	0,0364		
6	1	107	205	312	34,29	0,1298	Cuasnormal	1,0440 ± 0,0088
	2	120	230	350	34,29	0,1429		
	3	107	202	309	34,63	0,2330		
7	1	25	288	313	7,99	90,4856	Letal	0,1665 ± 0,0064
	2	24	288	312	7,69	92,3077		
	3	23	286	309	7,44	93,2039		
8	1	107	201	308	34,74	0,2744	Cuasnormal	1,0459 ± 0,0122
	2	110	210	320	34,38	0,1562		
	3	116	223	339	34,22	0,1195		
9	1	117	213	330	35,45	0,6682	Cuasnormal	1,0705 ± 0,0220
	2	109	203	312	34,94	0,3606		
	3	106	201	307	34,53	0,1971		
10	1	109	200	309	35,28	0,5243	Cuasnormal	1,0906 ± 0,0068
	2	110	201	311	35,37	0,5804		
	3	112	203	315	35,56	0,7000		
11	1	20	296	316	6,33	103,6962*	Letal	0,1358 ± 0,0033
	2	21	300	321	6,54	103,6822*		
	3	19	284	303	6,27	99,8614*		
12	1	109	197	306	35,62	0,7206	Cuasnormal	1,0952 ± 0,0060
	2	110	201	311	35,37	0,5804		
	3	109	198	307	35,50	0,6515		
13	1	109	215	324	33,64	0,0139	Cuasnormal	1,0156 ± 0,0055
	2	109	213	322	33,85	0,0388		
	3	108	211	319	33,86	0,0392		
14	1	120	189	309	38,83	4,2087*	Supervital	1,2650 ± 0,0184
	2	122	189	311	39,23	4,8633*		
	3	126	201	327	38,53	3,9771*		
15	1	113	218	331	34,14	0,0967	Cuasnormal	1,0391 ± 0,0082
	2	109	207	316	34,49	0,1915		
	3	111	213	324	34,26	0,1250		
16	1	110	222	332	33,13	0,0060	Cuasnormal	1,0082 ± 0,0193
	2	109	212	321	33,96	0,0561		
	3	105	206	311	33,76	0,0257		
17	1	100	202	302	33,11	0,0066	Cuasnormal	1,0113 ± 0,0231
	2	105	205	310	33,87	0,0403		
	3	106	205	311	34,08	0,0788		
18	1	120	227	347	34,58	0,2435	Cuasnormal	1,0536 ± 0,0260
	2	108	199	307	35,18	0,4707		
	3	110	213	323	34,06	0,0759		
19	1	106	212	318	33,33	0,0000	Cuasnormal	1,0015 ± 0,0107
	2	108	216	324	33,33	0,0000		
	3	110	216	326	33,74	0,0245		
20	1	104	207	311	33,44	0,0016	Cuasnormal	0,9970 ± 0,0026
	2	111	222	333	33,33	0,0000		
	3	107	214	321	33,33	0,0000		
21	1	79	221	300	26,33	6,6150*	Subvital	0,7220 ± 0,0132
	2	80	222	302	26,49	6,3642*		
	3	84	227	311	27,01	5,5965*		
22	1	102	203	305	33,44	0,0016	Cuasnormal	1,0031 ± 0,0241
	2	102	207	309	33,01	0,0146		
	3	108	209	317	34,07	0,0773		
23	1	109	213	322	33,85	0,0388	Cuasnormal	1,0142 ± 0,0080
	2	108	211	319	33,86	0,0392		
	3	102	202	304	33,55	0,0066		
24	1	104	231	335	31,04	0,7896	Cuasnormal	0,9137 ± 0,0153
	2	102	221	323	31,58	0,4474		
	3	106	228	334	31,74	0,3832		
25	1	105	215	320	32,81	0,0391	Cuasnormal	0,9674 ± 0,0112
	2	99	202	301	32,89	0,0266		
	3	105	219	324	32,41	0,1250		
26	1	124	191	315	39,37	5,1571*	Supervital	1,2992 ± 0,0083
	2	121	184	305	39,67	5,5148*		
	3	122	187	309	39,48	5,2573*		
27	1	50	259	309	16,18	40,9078*	Semiletal	0,3954 ± 0,0094
	2	51	253	304	16,78	37,5016*		
	3	52	259	311	16,72	38,6254*		
28	1	107	221	328	32,62	0,0747	Cuasnormal	0,9635 ± 0,0123
	2	100	204	304	32,89	0,0263		
	3	97	203	300	32,33	0,1350		
29	1	110	201	311	35,37	0,5804	Cuasnormal	1,0823 ± 0,0062
	2	119	220	339	35,10	0,4779		
	3	107	197	304	35,20	0,4753		
30	1	101	204	305	33,11	0,0066	Cuasnormal	1,0049 ± 0,0169
	2	106	208	314	33,76	0,0255		
	3	102	200	302	33,77	0,0265		

Tabla 3. Resultados obtenidos para la F₃ de las 87 combinaciones aleatorias de cromosomas II en la localidad norte (La Flora), así como los valores de χ^2 con un grado de libertad (1 g.l) (χ^2 Crítico = 3,841459, $\alpha = 0,05$) y los índices de viabilidad para cada cruce por combinación de cromosomas. En los valores marcados con * se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las proporciones observadas y esperadas ($p < 0,05$). El índice de viabilidad promedio total fue de $0,8781 \pm 0,0760$.

Cruce	Heterocigotos (+ _i /+ _j)	Heterocigotos (+ _i o + _j / Cy + L)	Total	Número de heterocigotos (+ _i /+ _j) respecto al total (%)	χ^2	Índice de viabilidad (I)
1 x 3	♂x ♀	210	315	33,33	0	0,9953
	♀x ♂	221	320	30,94	0,8266	0,8919
1 x 8	♂x ♀	228	335	31,94	0,2925	0,9345
	♀x ♂	222	311	28,62	3,1125	0,7982
1 x 10	♂x ♀	247	346	28,61	3,4697	0,7984
	♀x ♂	245	345	28,99	2,9348	0,813
1 x 18	♂x ♀	217	327	33,64	0,0138	1,0092
	♀x ♂	201	311	35,37	0,5804	1,0891
1 x 29	♂x ♀	217	320	32,19	0,1891	0,945
	♀x ♂	229	322	28,88	2,8711	0,8087
2 x 3	♂x ♀	230	340	32,35	0,1471	0,9524
	♀x ♂	215	324	33,64	0,0139	1,0093
2 x 17	♂x ♀	250	351	28,77	3,2821	0,8048
	♀x ♂	202	300	32,67	0,06	0,9655
2 x 21	♂x ♀	243	349	30,37	1,3768	0,8689
	♀x ♂	242	345	29,86	1,8783	0,8477
3 x 4	♂x ♀	202	308	34,42	0,1623	1,0443
	♀x ♂	232	333	30,33	1,3514	0,867
3 x 5	♂x ♀	220	324	32,1	0,2222	0,9412
	♀x ♂	251	342	26,61	6,9605*	0,7222
4 x 2	♂x ♀	215	309	30,42	1,1796	0,8704
	♀x ♂	243	344	29,36	2,4433	0,8279
4 x 7	♂x ♀	217	328	33,84	0,0381	1,0183
	♀x ♂	234	343	31,78	0,3732	0,9277
4 x 15	♂x ♀	238	350	32	0,28	0,9372
	♀x ♂	233	341	31,67	0,4238	0,9231
4 x 24	♂x ♀	208	309	32,69	0,0583	0,9665
	♀x ♂	241	343	29,74	1,9956	0,843
4 x 27	♂x ♀	252	344	26,74	6,7209*	0,7273
	♀x ♂	260	351	25,93	8,6667*	0,6973
5 x 6	♂x ♀	208	307	32,25	0,1629	0,9474
	♀x ♂	211	301	29,9	1,5963	0,8491
5 x 17	♂x ♀	238	337	29,38	2,3739	0,8285
	♀x ♂	205	302	32,12	0,2003	0,9417
5 x 30	♂x ♀	216	326	33,74	0,0245	1,0138
	♀x ♂	215	308	30,19	1,3653	0,8611
7 x 9	♂x ♀	197	305	35,41	0,5918	1,0909
	♀x ♂	213	312	31,73	0,3606	0,9252
7 x 19	♂x ♀	240	349	31,23	0,6934	0,9046
	♀x ♂	212	311	31,83	0,3151	0,9296
11 x 10	♂x ♀	228	317	28,08	3,9432	0,7773
	♀x ♂	235	342	31,29	0,6447	0,9068
11 x 14	♂x ♀	229	329	30,4	1,2781	0,8696
	♀x ♂	244	331	26,28	7,4018	0,7102
11 x 24	♂x ♀	260	355	26,76	6,9014*	0,728
	♀x ♂	227	325	30,15	1,4785	0,8596
11 x 29	♂x ♀	201	304	33,88	0,0411	1,0198
	♀x ♂	224	321	30,22	1,4019	0,8622
12 x 9	♂x ♀	192	302	36,42	1,298	1,1399
	♀x ♂	211	317	33,44	0,0016	1
12 x 11	♂x ♀	226	336	32,74	0,0536	0,9692
	♀x ♂	226	329	31,31	0,6079	0,9075
13 x 16	♂x ♀	231	328	29,57	2,0869	0,8362
	♀x ♂	233	330	29,39	2,3045	0,8291
14 x 2	♂x ♀	270	357	24,37	12,9076*	0,6421
	♀x ♂	228	320	28,75	3,025	0,8035
14 x 12	♂x ♀	245	360	31,94	0,3125	0,935
	♀x ♂	237	347	31,7	0,4164	0,9244
14 x 19	♂x ♀	219	327	33,03	0,0138	0,9818
	♀x ♂	244	345	29,28	2,5565	0,8245
14 x 25	♂x ♀	206	308	33,12	0,0065	0,9855
	♀x ♂	209	310	32,58	0,079	0,9619
15 x 2	♂x ♀	237	337	29,67	2,0312	0,8403
	♀x ♂	215	325	33,85	0,0385	1,0185
16 x 1	♂x ♀	255	359	28,97	3,0766	0,8125
	♀x ♂	248	349	28,94	3,0315	0,8112
17 x 4	♂x ♀	245	337	27,3	5,5208*	0,748
	♀x ♂	197	306	35,62	0,7206	1,101
17 x 8	♂x ♀	210	318	33,96	0,0566	1,0237
	♀x ♂	210	318	33,96	0,0566	1,0237
17 x 14	♂x ♀	193	301	35,88	0,8787	1,1134
	♀x ♂	213	304	29,93	1,5806	0,8505
18 x 19	♂x ♀	223	311	28,3	3,5514	0,7857
	♀x ♂	227	333	31,83	0,3378	0,9298
18 x 23	♂x ♀	217	319	31,97	0,2649	0,9358
	♀x ♂	243	362	32,87	0,0345	0,9754

Cruce	Heterocigotos (+ _i /+ _j)	Heterocigotos (+ _i o + _j / Cy + L)	Total	Número de heterocigotos (+ _i /+ _j) respecto al total (%)	χ ²	Índice de viabilidad (I)
18 x 27	♂ x ♀	251	344	27,03	6,1410*	0,7381
	♀ x ♂	229	329	30,4	1,2781	0,8696
18 x 28	♂ x ♀	231	322	28,26	3,7283	0,7845
	♀ x ♂	227	336	32,44	0,1205	0,9561
19 x 4	♂ x ♀	195	303	35,64	0,7277	1,102
	♀ x ♂	231	331	30,21	1,4517	0,8621
19 x 8	♂ x ♀	262	359	27,02	6,4401*	0,7376
	♀ x ♂	221	330	33,03	0,0136	0,982
19 x 16	♂ x ♀	212	307	30,94	0,7883	0,892
	♀ x ♂	231	330	30	1,65	0,8534
20 x 5	♂ x ♀	268	357	24,93	11,3445*	0,6617
	♀ x ♂	240	336	28,57	3,4286	0,7967
20 x 10	♂ x ♀	236	325	27,38	5,1754*	0,7511
	♀ x ♂	241	342	29,53	2,2237	0,8347
20 x 18	♂ x ♀	213	311	31,51	0,4646	0,9159
	♀ x ♂	216	324	33,33	0	0,9954
20 x 22	♂ x ♀	253	343	26,24	7,7682*	0,7087
	♀ x ♂	213	313	31,95	0,27	0,9346
22 x 14	♂ x ♀	249	358	30,45	1,3422	0,872
	♀ x ♂	223	312	28,53	3,2452	0,7946
22 x 19	♂ x ♀	248	348	28,74	3,3103	0,8032
	♀ x ♂	211	311	32,15	0,1945	0,9434
22 x 21	♂ x ♀	201	301	33,22	0,0017	0,9901
	♀ x ♂	219	317	30,91	0,8344	0,8909
22 x 24	♂ x ♀	217	319	31,97	0,2649	0,9358
	♀ x ♂	207	311	33,44	0,0016	1
22 x 30	♂ x ♀	234	332	29,52	2,1747	0,834
	♀ x ♂	241	339	28,91	2,9867	0,8099
23 x 1	♂ x ♀	228	334	31,74	0,3832	0,9258
	♀ x ♂	241	348	30,75	1,0474	0,8843
23 x 9	♂ x ♀	259	357	27,45	5,5588*	0,7538
	♀ x ♂	254	359	29,25	2,6964	0,8235
23 x 13	♂ x ♀	249	339	26,55	7,0221*	0,72
	♀ x ♂	219	326	32,82	0,0383	0,9727
23 x 17	♂ x ♀	245	341	28,15	4,1188*	0,7805
	♀ x ♂	240	329	27,05	5,8419*	0,7386
23 x 26	♂ x ♀	249	340	26,76	6,6015*	0,728
	♀ x ♂	201	301	33,22	0,0017	0,9901
24 x 14	♂ x ♀	225	324	30,56	1,125	0,8761
	♀ x ♂	206	304	32,24	0,1645	0,9469
24 x 16	♂ x ♀	270	360	25	11,2500*	0,6642
	♀ x ♂	227	333	31,83	0,3378	0,9298
24 x 17	♂ x ♀	212	305	30,49	1,1082	0,8732
	♀ x ♂	243	332	26,81	6,3630*	0,7295
24 x 20	♂ x ♀	250	358	30,17	1,6145	0,8606
	♀ x ♂	261	352	25,85	8,8651*	0,6947
24 x 23	♂ x ♀	231	322	28,26	3,7283	0,7845
	♀ x ♂	239	343	30,32	1,4009	0,8667
24 x 27	♂ x ♀	241	329	26,75	6,421	0,7273
	♀ x ♂	243	353	31,16	0,7493	0,9016
24 x 28	♂ x ♀	213	306	30,39	1,1912	0,8692
	♀ x ♂	240	346	30,64	1,1329	0,8797
24 x 30	♂ x ♀	225	330	31,82	0,3409	0,9292
	♀ x ♂	203	302	32,78	0,0414	0,9706
25 x 10	♂ x ♀	241	343	29,74	1,9956	0,843
	♀ x ♂	222	327	32,11	0,2202	0,9417
25 x 15	♂ x ♀	210	304	30,92	0,7961	0,891
	♀ x ♂	224	312	28,21	3,6923	0,7822
25 x 17	♂ x ♀	204	309	33,98	0,0583	1,0244
	♀ x ♂	249	340	26,76	6,6015*	0,728
25 x 19	♂ x ♀	251	352	28,69	3,4105	0,8016
	♀ x ♂	220	311	29,26	2,3215	0,8235
25 x 22	♂ x ♀	252	345	26,96	6,3130*	0,7352
	♀ x ♂	210	309	32,04	0,233	0,9384
25 x 24	♂ x ♀	228	343	33,53	0,0058	1,0044
	♀ x ♂	243	348	30,17	1,5647	0,8607
25 x 26	♂ x ♀	208	306	32,03	0,2353	0,9378
	♀ x ♂	244	337	27,6	4,9911*	0,7592
25 x 27	♂ x ♀	263	356	26,12	8,3272*	0,7045
	♀ x ♂	226	332	31,93	0,2952	0,9339
26 x 2	♂ x ♀	210	319	34,17	0,1003	1,0332
	♀ x ♂	234	339	30,97	0,8496	0,8936
26 x 9	♂ x ♀	241	348	30,75	1,0474	0,8843
	♀ x ♂	232	325	28,62	3,2554	0,7983
26 x 17	♂ x ♀	230	327	29,66	1,9817	0,8398
	♀ x ♂	232	331	29,91	1,7462	0,8498
26 x 19	♂ x ♀	244	347	29,68	2,0807	0,8408
	♀ x ♂	253	344	26,45	7,327	0,7165
27 x 7	♂ x ♀	245	349	29,8	1,9613	0,8455
	♀ x ♂	251	348	27,87	4,6681*	0,7698
27 x 11	♂ x ♀	221	325	32	0,26	0,9369
	♀ x ♂	229	322	28,88	2,8711	0,8087
27 x 19	♂ x ♀	211	304	30,59	1,028	0,8774
	♀ x ♂	227	325	30,15	1,4785	0,8596
27 x 26	♂ x ♀	218	307	28,99	2,6059	0,8128
	♀ x ♂	211	306	31,05	0,7206	0,8962
27 x 30	♂ x ♀	213	317	32,81	0,0394	0,972
	♀ x ♂	195	303	35,64	0,7277	1,102
28 x 5	♂ x ♀	223	325	31,38	0,5554	0,9107
	♀ x ♂	227	322	29,5	2,1258	0,8333
28 x 11	♂ x ♀	259	349	25,79	8,9413*	0,6923
	♀ x ♂	239	332	28,01	4,2304*	0,775

Cruce	Heterocigotos (+ _i /+ _j)	Heterocigotos (+ _i o + _j /C _g + L)	Total	Número de heterocigotos (+ _i /+ _j) respecto al total (%)	χ ²	Índice de viabilidad (I)	
28 x 15	♂ x ♀	116	243	359	32,31	0,1685	0,9508
	♀ x ♂	99	225	324	30,56	1,125	0,8761
28 x 26	♂ x ♀	92	219	311	29,58	1,9695	0,8364
	♀ x ♂	105	238	343	30,61	1,1429	0,8787
29 x 19	♂ x ♀	106	211	317	33,44	0,0016	1
	♀ x ♂	101	215	316	31,96	0,2674	0,9352

Tabla 4. Resultados obtenidos para la F₃ de las 87 combinaciones de cromosomas II en la localidad sur (Pance), así como los valores de χ^2 con un grado de libertad (1 g.l) (χ^2 Crítico = 3,841459, $\alpha = 0,05$) y los índices de viabilidad para cada cruce por combinación de cromosomas. En los valores marcados con * se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las proporciones observadas y esperadas ($p < 0,05$). El índice de viabilidad promedio total fue de $0,9804 \pm 0,0815$.

Cruce		Heterocigotos (+i/+j)	Heterocigotos (+i o +j/C ^o y + L)	Total	Número de heterocigotos (+i/+j) respecto al total (%)	χ ²	Índice de viabilidad (I)
1 x 13	♂x ♀	112	206	318	35,22	0,5094	1,0821
	♀x ♂	117	194	311	37,62	2,5723	1,2000
1 x 14	♂x ♀	102	244	346	29,48	2,3121	0,8327
	♀x ♂	108	204	312	34,62	0,2308	1,0537
3 x 2	♂x ♀	112	235	347	32,28	0,1744	0,9492
	♀x ♂	105	227	332	31,63	0,4352	0,9211
4 x 21	♂x ♀	98	216	314	31,21	0,6369	0,9032
	♀x ♂	115	213	328	35,06	0,4405	1,0748
4 x 27	♂x ♀	105	212	317	33,12	0,0063	0,9859
	♀x ♂	111	237	348	31,90	0,3233	0,9328
4 x 30	♂x ♀	104	229	333	31,23	0,6622	0,9043
	♀x ♂	111	233	344	32,27	0,1759	0,9487
5 x 4	♂x ♀	101	254	355	28,45	3,8085	0,7922
	♀x ♂	103	244	347	29,68	2,0807	0,8408
5 x 16	♂x ♀	106	219	325	32,62	0,0754	0,9636
	♀x ♂	108	224	332	32,53	0,0964	0,9600
5 x 17	♂x ♀	111	190	301	36,88	1,7010	1,1623
	♀x ♂	112	189	301	37,21	2,0349	1,1789
5 x 20	♂x ♀	116	242	358	32,40	0,1397	0,9547
	♀x ♂	111	198	309	35,92	0,9320	1,1156
5 x 22	♂x ♀	110	225	335	32,84	0,0373	0,9735
	♀x ♂	100	240	340	29,41	2,3529	0,8299
5 x 27	♂x ♀	114	194	308	37,01	1,8766	1,1692
	♀x ♂	109	240	349	31,23	0,6934	0,9046
6 x 5	♂x ♀	107	221	328	32,62	0,0747	0,9640
	♀x ♂	102	202	304	33,55	0,0066	1,0049
6 x 8	♂x ♀	115	210	325	35,38	0,6154	1,0900
	♀x ♂	101	208	309	32,69	0,0583	0,9665
6 x 10	♂x ♀	117	222	339	34,51	0,2124	1,0493
	♀x ♂	98	214	312	31,41	0,5192	0,9116
6 x 13	♂x ♀	101	226	327	30,89	0,8807	0,8899
	♀x ♂	109	221	330	33,03	0,0136	0,9820
6 x 16	♂x ♀	102	249	351	29,06	2,8846	0,8160
	♀x ♂	101	219	320	31,56	0,4516	0,9182
6 x 21	♂x ♀	107	227	334	32,04	0,2530	0,9386
	♀x ♂	107	235	342	31,29	0,6447	0,9068
7 x 2	♂x ♀	109	221	330	33,03	0,0136	0,9820
	♀x ♂	114	212	326	34,97	0,3926	1,0704
7 x 13	♂x ♀	114	239	353	32,29	0,1714	0,9500
	♀x ♂	109	236	345	31,59	0,4696	0,9198
8 x 10	♂x ♀	117	206	323	36,22	1,2136	1,1304
	♀x ♂	109	222	331	32,93	0,0242	0,9776
8 x 17	♂x ♀	117	199	316	37,03	1,9383	1,1700
	♀x ♂	112	210	322	34,78	0,3043	1,0616
8 x 21	♂x ♀	101	232	333	30,33	1,3514	0,8670
	♀x ♂	105	215	320	32,81	0,0391	0,9722
8 x 26	♂x ♀	109	230	339	32,15	0,2124	0,9437
	♀x ♂	99	246	345	28,70	3,3391	0,8016
9 x 11	♂x ♀	103	237	340	30,29	1,4132	0,8655
	♀x ♂	99	234	333	29,73	1,9459	0,8426
9 x 15	♂x ♀	98	256	354	27,68	5,0847	0,7626
	♀x ♂	112	200	312	35,90	0,9231	1,1144
9 x 25	♂x ♀	112	190	302	37,09	1,9139	1,1728
	♀x ♂	98	230	328	29,88	1,7622	0,8485
9 x 30	♂x ♀	114	202	316	36,08	1,0696	1,1232
	♀x ♂	100	214	314	31,85	0,3121	0,9302
10 x 9	♂x ♀	104	205	309	33,66	0,0146	1,0097
	♀x ♂	117	189	306	38,24	3,3088	1,2316
10 x 14	♂x ♀	105	234	339	30,97	0,8496	0,8936
	♀x ♂	106	199	305	34,75	0,2770	1,0600
10 x 20	♂x ♀	105	220	325	32,31	0,1538	0,9502
	♀x ♂	113	193	306	36,93	1,7794	1,1649
10 x 22	♂x ♀	99	222	321	30,84	0,8972	0,8879
	♀x ♂	100	209	309	32,36	0,1311	0,9524

Cruce		Heterocigotos (+ _i /+ _j)	Heterocigotos (+ _i o + _j /C _y + L)	Total	Número de heterocigotos (+ _i /+ _j) respecto al total (%)	χ ²	Índice de viabilidad (I)
10 x 28	♂x♀	106	249	355	29,86	1,9282	0,8480
	♀x♂	103	197	300	34,33	0,1350	1,0404
11 x 3	♂x♀	100	220	320	31,25	0,6250	0,9050
	♀x♂	114	220	334	34,13	0,0958	1,0317
11 x 17	♂x♀	105	250	355	29,58	2,2535	0,8367
	♀x♂	111	196	307	36,16	1,1010	1,1269
11 x 28	♂x♀	111	229	340	32,65	0,0721	0,9652
	♀x♂	106	200	306	34,64	0,2353	1,0547
12 x 4	♂x♀	110	246	356	30,90	0,9494	0,8907
	♀x♂	99	231	330	30,00	1,6500	0,8534
12 x 9	♂x♀	113	205	318	35,53	0,6934	1,0971
	♀x♂	103	249	352	29,26	2,6264	0,8240
12 x 16	♂x♀	101	229	330	30,61	1,1045	0,8783
	♀x♂	98	234	332	29,52	2,1747	0,8340
12 x 28	♂x♀	111	207	318	34,91	0,3538	1,0673
	♀x♂	108	199	307	35,18	0,4707	1,0800
13 x 4	♂x♀	109	249	358	30,45	1,3422	0,8720
	♀x♂	117	189	306	38,24	3,3088	1,2316
13 x 9	♂x♀	107	193	300	35,67	0,7350	1,1031
	♀x♂	100	212	312	32,05	0,2308	0,9390
13 x 22	♂x♀	111	213	324	34,26	0,1250	1,0374
	♀x♂	100	206	306	32,68	0,0588	0,9662
13 x 26	♂x♀	104	229	333	31,23	0,6622	0,9043
	♀x♂	99	209	308	32,14	0,1964	0,9429
13 x 27	♂x♀	98	225	323	30,34	1,3019	0,8673
	♀x♂	115	185	300	38,33	3,3750	1,2366
14 x 2	♂x♀	105	252	357	29,41	2,4706	0,8300
	♀x♂	107	199	306	34,97	0,3676	1,0700
14 x 29	♂x♀	107	216	323	33,13	0,0062	0,9862
	♀x♂	99	224	323	30,65	1,0464	0,8800
15 x 8	♂x♀	103	223	326	31,60	0,4433	0,9196
	♀x♂	110	206	316	34,81	0,3101	1,0628
15 x 10	♂x♀	107	235	342	31,29	0,6447	0,9068
	♀x♂	103	206	309	33,33	0,0000	0,9952
15 x 13	♂x♀	101	256	357	28,29	4,0840	0,7860
	♀x♂	114	219	333	34,23	0,1216	1,0364
15 x 26	♂x♀	114	213	327	34,86	0,3440	1,0654
	♀x♂	116	195	311	37,30	2,2010	1,1837
18 x 2	♂x♀	105	249	354	29,66	2,1483	0,8400
	♀x♂	110	222	332	33,13	0,0060	0,9865
18 x 16	♂x♀	110	231	341	32,26	0,1774	0,9483
	♀x♂	114	201	315	36,19	1,1571	1,1287
18 x 19	♂x♀	104	205	309	33,66	0,0146	1,0097
	♀x♂	114	218	332	34,34	0,1506	1,0411
18 x 26	♂x♀	101	223	324	31,17	0,6806	0,9018
	♀x♂	110	230	340	32,35	0,1471	0,9524
20 x 1	♂x♀	107	248	355	30,14	1,6282	0,8594
	♀x♂	108	192	300	36,00	0,9600	1,1192
20 x 19	♂x♀	115	224	339	33,92	0,0531	1,0222
	♀x♂	99	203	302	32,78	0,0414	0,9706
21 x 5	♂x♀	103	222	325	31,69	0,3938	0,9238
	♀x♂	101	239	340	29,71	2,0132	0,8417
21 x 18	♂x♀	99	244	343	28,86	3,0845	0,8082
	♀x♂	116	230	346	33,53	0,0058	1,0043
22 x 3	♂x♀	109	223	332	32,83	0,0377	0,9732
	♀x♂	115	218	333	34,53	0,2162	1,0502
22 x 6	♂x♀	106	224	330	32,12	0,2182	0,9422
	♀x♂	113	213	326	34,66	0,2592	1,0561
22 x 11	♂x♀	98	213	311	31,51	0,4646	0,9159
	♀x♂	98	255	353	27,76	4,9306	0,7656
22 x 30	♂x♀	105	197	302	34,77	0,2798	1,0606
	♀x♂	104	240	344	30,23	1,4884	0,8631
23 x 4	♂x♀	105	216	321	32,71	0,0561	0,9677
	♀x♂	113	196	309	36,57	1,4563	1,1472
23 x 9	♂x♀	107	198	305	35,08	0,4197	1,0754
	♀x♂	116	190	306	37,91	2,8824	1,2147
23 x 12	♂x♀	113	222	335	33,73	0,0239	1,0135
	♀x♂	100	202	302	33,11	0,0066	0,9852
24 x 3	♂x♀	116	193	309	37,54	2,4612	1,1959
	♀x♂	106	245	351	30,20	1,5513	0,8618
24 x 9	♂x♀	112	208	320	35,00	0,4000	1,0718
	♀x♂	108	237	345	31,30	0,6391	0,9076
24 x 28	♂x♀	116	216	332	34,94	0,3855	1,0691
	♀x♂	117	203	320	36,56	1,5016	1,1471
26 x 3	♂x♀	110	237	347	31,70	0,4164	0,9244
	♀x♂	115	217	332	34,64	0,2545	1,0550
26 x 14	♂x♀	107	229	336	31,85	0,3348	0,9304
	♀x♂	101	246	347	29,11	2,7896	0,8178
26 x 16	♂x♀	100	236	336	29,76	1,9286	0,8439
	♀x♂	102	257	359	28,41	3,9123	0,7907
26 x 27	♂x♀	110	224	334	32,93	0,0240	0,9778
	♀x♂	103	239	342	30,12	1,5921	0,8583
27 x 1	♂x♀	115	245	360	31,94	0,3125	0,9350
	♀x♂	102	230	332	30,72	1,0181	0,8831
27 x 6	♂x♀	106	212	318	33,33	0,0000	0,9953
	♀x♂	106	200	306	34,64	0,2353	1,0547
27 x 11	♂x♀	98	245	343	28,57	3,5000	0,7967

Cruce	Heterocigotos (+ _i /+ _j)	Heterocigotos (+ _i o + _j /Cy + L)	Total	Número de heterocigotos (+ _i /+ _j) respecto al total (%)	χ^2	Índice de viabilidad (I)
27 x 25	♀x ♂ 111	195	306	36,27	1,1912	1,1327
	♂x ♀ 101	236	337	29,97	1,7151	0,8523
	♀x ♂ 101	203	304	33,22	0,0016	0,9902
28 x 2	♂x ♀ 117	183	300	39,00	4,3350	1,2717
	♀x ♂ 113	189	302	37,42	2,2666	1,1895
28 x 4	♂x ♀ 102	230	332	30,72	1,0181	0,8831
	♀x ♂ 106	200	306	34,64	0,2353	1,0547
28 x 19	♂x ♀ 100	201	301	33,22	0,0017	0,9901
	♀x ♂ 98	208	306	32,03	0,2353	0,9378
29 x 4	♂x ♀ 108	207	315	34,29	0,1286	1,0385
	♀x ♂ 113	195	308	36,69	1,5601	1,1531
29 x 10	♂x ♀ 116	202	318	36,48	1,4151	1,1429
	♀x ♂ 98	211	309	31,72	0,3641	0,9245
30 x 5	♂x ♀ 107	253	360	29,72	2,1125	0,8425
	♀x ♂ 100	208	308	32,47	0,1039	0,9569
30 x 11	♂x ♀ 108	247	355	30,42	1,3535	0,8710
	♀x ♂ 108	197	305	35,41	0,5918	1,0909
30 x 16	♂x ♀ 114	223	337	33,83	0,0371	1,0179
	♀x ♂ 109	224	333	32,73	0,0541	0,9689
30 x 21	♂x ♀ 99	229	328	30,18	1,4649	0,8609
	♀x ♂ 104	241	345	30,14	1,5783	0,8595
30 x 27	♂x ♀ 114	230	344	33,14	0,0058	0,9870
	♀x ♂ 113	190	303	37,29	2,1386	1,1832

Tabla 5. Frecuencia de cromosomas II silvestres de *D. melanogaster* para cada localidad, con diferente efecto en la viabilidad de las moscas homocigotas.

Efecto sobre la viabilidad	Localidad			
	La Flora		Pance	
	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
Letal	4	13,33	2	6,67
Semiletal	3	10,00	1	3,33
Subvital	2	6,67	2	6,67
Cuasinormal	20	66,67	23	76,66
Supervital	1	3,33	2	6,67
Total	30	100,00	30	100,00

Tabla 6. Resultados de las pruebas estadísticas realizadas. En aquellas cuyos valores de estadísticos están marcados con * se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Los valores críticos se tomaron de la siguiente manera: para la prueba de *D'Agostino* (K^2) de la distribución χ^2 con dos grados de libertad (2 g.l), para la prueba *t-Student* de muestras pareadas de la distribución *t* con 86 g.l a dos colas, para la prueba *F-Snedecor* de la distribución *F* con ocho grados de libertad (8, 8) y para la prueba *t-Student* de muestras independientes de la distribución *t* con 172 g.l a una cola.

Prueba estadística	Localidad	Valor del estadístico	Valor crítico	Resultado
<i>D'Agostino</i> (K^2)	La Flora - experimental	6,0867*	5,9915	No normalidad
	Pance - experimental	23,0290*		No normalidad
	La Flora - control	0,9860		Normalidad
	Pance - control	3,6737		Normalidad
<i>t-Student</i> muestras pareadas	La Flora - control	0,0892	1,9879	No hay efecto materno
	Pance - control	1,8209		No hay efecto materno
<i>F-Snedecor</i>	La Flora vs Pance - control	1,0596	1,5304	Varianzas presuntas iguales
<i>t-Student</i> muestras independientes	La Flora vs Pance - control	5,0799*	1,6538	Viabilidad mayor en Pance - control

DISCUSIÓN

En cuanto a los resultados obtenidos en la F_3 de cada uno de los 30 cromosomas II (Tabla 1, Tabla 2) se encontraron diferencias estadísticamente significativas respecto a la proporción 1:2 esperada para esta generación en aquellos cromosomas por fuera de la categoría cuasinormal, como era de esperarse, ya

que a dos desviaciones estándar de la media de una distribución normal se tienen aproximadamente el 95 % de los valores (Teorema de Chebishev), lo que deja 5 % de margen total a ambos lados de la campana de Gauss, donde se encuentran valores atípicos. Esto también se evidencia en los rangos, aquellas viabilidades que se distribuyeron normalmente presentaron valores bajos, es decir, las

viabilidades se alejaron menos de la media; en cambio en la viabilidades experimentales, con la aparición de letalidad (letales y semiletals), los valores dejan de concentrarse alrededor de la media y la campana deja de ser mesocúrtica para tornarse platicúrtica asimétrica negativa.

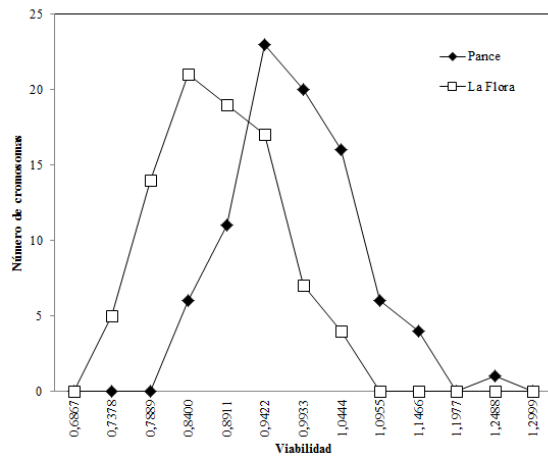


Figura 1. Comparación de los polígonos de frecuencia de los cruces de control ($n_1 = n_2 = 87$); se presenta el número de cromosomas en función de las marcas de clase de la viabilidad. Los índices de viabilidad promedio fueron $0,8781 \pm 0,0760$ para La Flora y $0,9804 \pm 0,0815$ para Pance.

Al comparar las viabilidades promedio de los controles de La Flora y Pance (Fig. 1) se observa que la distribución de la primera esta desplazada hacia la izquierda, es decir, aunque está normalmente distribuida la viabilidad media es menor en la localidad urbana, esto apoya la hipótesis de que la población que vive bajo condiciones atmosféricas de menor calidad tiene una viabilidad menor.

Como ya se reportó, las viabilidades de los controles tanto para la localidad rural como para la urbana se distribuyeron normalmente y cuando los cromosomas se llevaron a estado homocigoto la viabilidad promedio disminuyó (Fig. 2, Fig. 3) y la distribución dejó de ser normal (Tabla 6). Por otro lado, los polígonos de frecuencias presentados para las viabilidades obtenidas a partir de homocigotos (Fig. 2, Fig. 3), se asemejan a los reportados

por Mukai *et al.* (1972) y Dobzhansky *et al.* (1993), en los cuales se observa un comportamiento asimétrico negativo cuya viabilidad promedio se va haciendo menor con el pasar de las generaciones, esto debido al incremento de la probabilidad de aparición de individuos homocigotos que lleven genes letales y/o al aumento de endogamia; por tanto, en ellos hay un incremento en el número de cromosomas con viabilidades por debajo de la mitad de la media y cercanas a cero. Este hecho refuerza la hipótesis de trabajo, es decir, que en las poblaciones naturales de *D. melanogaster* existen genes letales recesivos ocultos en heterocigosis.

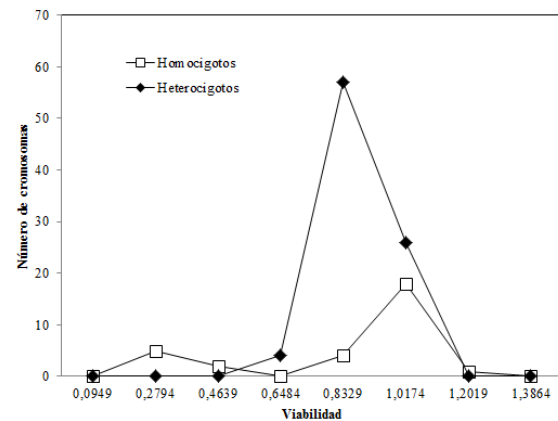


Figura 2. Comparación de los polígonos de frecuencias de las viabilidades de los heterocigotos (control) ($n = 87$) y los homocigotos (experimental) de la localidad urbana ($n = 30$); se presenta el número de cromosomas en función de las marcas de clase de la viabilidad.

Ahora bien, la viabilidad promedio de la localidad norte fue significativamente menor que la de la localidad sur ($t = 5,0799$; $p < 0,05$), significancia que está a favor de la hipótesis de viabilidad. Por otro lado, el porcentaje de letales y semiletals en La Flora fue de 23,33 % mientras que en Pance fue de 10 %, esto indica que la población de La Flora acumuló 2,3 veces más mutantes letales recesivos que la población de Pance; esto posiblemente debido a que en el ambiente urbano de La Flora existan aductores que incrementan la tasa de mutación cromosómica, ya sea por mate-

rial particulado, hidrocarburos policíclicos o sus nitroderivados que se ha reportado tienen un efecto mutagénico sobre *D. melanogaster* (Graf & Singer 1992, Graham *et al.* 1993, Delgado *et al.* 1995, Villalobos *et al.* 1998, Dihl 2008, Dihl *et al.* 2008, Kurbalija *et al.* 2010). Así como hay una disminución de la viabilidad por debajo de dos veces la desviación estándar, también es posible encontrar individuos por encima, con mayor probabilidad de subsistir, los cromosomas dentro de esta categoría (supervitales) fueron del 6,67 % para Pance y de 3,33 % para La Flora, es decir que en la población de Pance se acumularon 2 veces más mutantes recesivos supervitales que en La Flora; esto posiblemente debido a que en el ambiente rural la población está menos expuesta a factores adversos, entre los que debe considerarse la calidad del aire.

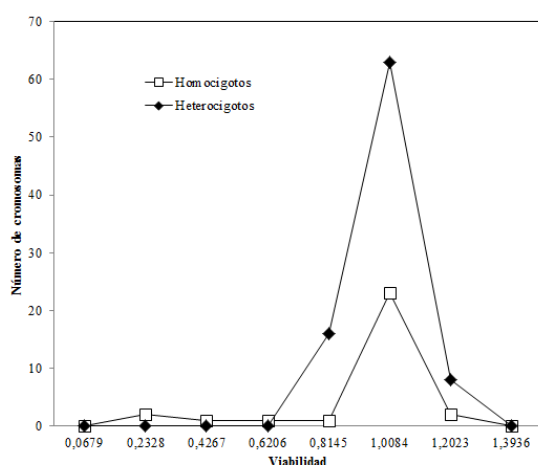


Figura 3. Comparación de los polígonos de frecuencias de las viabilidades de los heterocigotos (control) ($n = 87$) y los homocigotos (experimental) de la localidad rural ($n = 30$); se presenta el número de cromosomas en función de las marcas de clase de la viabilidad.

Cabe resaltar que los porcentajes de los cromosomas según su efecto sobre la viabilidad provienen de un tamaño de muestra relativamente pequeño ($n = 30$), así que pueden estar sujetos a los efectos aleatorios del muestreo, como sugerencia para futuros trabajos se debe incrementar el tamaño muestral.

Según el DAGMA (2014), los valores de los Índices de Calidad del Aire (ICA) para La Flora (44,7) y para Pance (36,2) se encontraron bajo la calificación de bueno, aunque La Flora está muy cercano a moderado (50); esto permite suponer que si se encontraron diferencias en las viabilidades de estas localidades, en unas con ICA más altos podrían estar afectándose con mayor severidad las poblaciones silvestres de *D. melanogaster*.

Como el efecto sobre la viabilidad se observa en un instante de tiempo cuando ya se ha acumulado durante generaciones, es posible que no sólo se hayan detectado genes letales recesivos ocultos, también puede haber estado el efecto a largo plazo de mutaciones deletéreas, aquellas que disminuyen la capacidad del individuo para sobrevivir y/o reproducirse pero que no lo matan, y que tal vez no tuvieron un efecto considerable sobre la viabilidad en poco tiempo sino que con el pasar de las generaciones han ido incrementando su efecto. Otro hecho que cabe resaltar es la ausencia de efecto materno (Tabla 6), con ello se descartó la posible desviación de proporciones debido a efectos fenotípicos en la progenie como resultado de factores transmitidos a través del citoplasma del huevo.

En lo que respecta a la cepa de letales balanceados del cromosoma II de *D. melanogaster* *Curly-Lobe-Plum* ($Cy + L/Pm$), esta consta de tres mutaciones que se encuentran en equilibrio, es decir, dos de ellas en uno de los cromosomas homólogos y la restante en el otro. La mutación *Lobe eyes* (L) es autosómica dominante, tiene el gen localizado a 72,9 cmg; el fenotipo se reconoce por el ojo lobulado reducido. La mutación *Curly wings* (Cy) es autosómica dominante, se expresa en estado heterocigoto, generalmente es letal en homocigosis, da la apariencia de alas retorcidas al adulto de *Drosophila* y se encuentra asociado a la inversión *Curly* en el brazo izquierdo del cromosoma II a 6,1 cmg. La mutación *Plum eyes* es autosómica dominante y letal en homocigosis, da el fenotipo de ojos púrpura a las moscas adultas y se encuentra en el brazo

izquierdo del cromosoma II a 54,5 cmg (Brideau *et al.* 2006). En la cepa de marcadores equilibrados estas mutaciones conforman lo que se denomina marcador, en ella se tiene que el cromosoma en el que se encuentran ambos marcadores posee múltiples inversiones que inhiben la recombinación y por tanto estos dos marcadores pasan juntos (Dobzhansky *et al.* 1993). Por otro lado, los genes de viabilidad en *Drosophila* se encuentran en los cromosomas II y III, en ambos es posible encontrar *loci* con mutaciones de ojos, alas y forma del cuerpo que con alguna mutación puntual podrían resultar en la no supervivencia hasta adulto del individuo; para detectar exactamente la causa de la disminución en viabilidad detectada en el cromosoma II, o por lo menos dar una explicación más profunda, se podrían elaborar estudios de citogenética con el fin de reconocer la o las biomoléculas causantes de la aparición, espontánea o no, de letales o fragmentación de cromosomas. También podría hacerse un estudio con marcadores del cromosoma III, ya que allí se encuentran los genes Hox, agrupados en dos complejos: Antennapedia que regula el desarrollo de la cabeza y de los segmentos torácicos anteriores de la mosca adulta y Bithorax que incluye genes que regulan los seg-

mentos abdominales y torácicos posteriores del adulto (Amorós 2001, Negre 2005).

Con los resultados obtenidos en este trabajo se concluye que la calidad del aire tiene un efecto sobre la viabilidad de *D. melanogaster* que se incrementa nocivamente al disminuir las condiciones atmosféricas con la aparición de partículas en suspensión, hidrocarburos policíclicos, nitroderivados (entre otros), y esto puede ser un reflejo de lo que ya le esté sucediendo al hombre por vivir en lugares industrializados. Por lo tanto, se puede utilizar como bioindicador del aire en zonas urbanas e industrializadas el modelo *Drosophila melanogaster*.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al laboratorista Alexander Ramírez por su continuo y atento apoyo durante la elaboración de medios de cultivo, a los profesores Ranulfo González y Heiber Cárdenas quienes con su conocimiento y experiencia me permitieron culminar con éxito este trabajo de grado, a la directora del programa Nancy Carrejo por su apoyo y guía durante la carrera; por último a mi familia: mi padre Angel Tabares, mi madre Mireya Mosquera y mis tres Hermanos por su incondicional apoyo durante estos años.

LITERATURA CITADA

- Amorós, M. (2001) *Estudio de mutantes del cromosoma III de Drosophila melanogaster: el gen ash-2 como regulador de diferenciación celular*. Tesis de Doctorado, Universidad de Barcelona.
- Bickham, J.W., Sandhu, S., Hebert, P.D., Chikhi, L. and Athwal, R. (2000), "Effects of chemical contaminants on genetic diversity in natural populations: implications for biomonitoring and ecotoxicology", *Mutation Research*, Vol. 463 No.1, pp. 33-51.
- Brideau, N.J., Flores, H.A., Wang, J., Maheshwari, S., Wang, X.U. and Barbash, D.A. (2006), "Two Dobzhansky-Muller genes interact to cause hybrid lethality in *Drosophila*", *Science*, Vol. 314 No.5803, 1292-95.
- Delgado, A., Ortíz, R., Graf, U., Villalobos, R. and Gómez, S. (1995), "Genotoxic activity of environmentally important polycyclic aromatic hydrocarbons and their nitro derivatives in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*", *Mutation Research*, Vol. 34 No.4, pp. 235-47.
- Departamento Administrativo de Gestión del Medio Ambiente (2014), *Informe anual de calidad del aire de Santiago de Cali 2014*, Departamento Administrativo de Gestión del Medio Ambiente, Cali.
- Dihl, R.R. (2008) *Nitrocompuestos e extratos orgânicos de partículas aéreas são indutores de toxicidade genética em células somáticas de Drosophila melanogaster*. Tesis de doctorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

- Dihl, R.R., da Silva, C.G.A., do Amaral, V.S., Reguly, M.L., and de Andrade, H.H.R. (2008), "Mutagenic and recombinogenic activity of airborne particulates, PM10 and TSP, organic extracts in the *Drosophila* wing-spot test", *Environmental pollution*, Vol. 151 No.1, pp 47-52.
- Dobzhansky, T. and Spassky, B., (1963). "Genetics of natural populations. XXXIV. Adaptative norm, genetic load and genetic elite in *D. pseudobscura*", *Genetics*, Vol. 48 No.11, pp. 1467-85.
- Dobzhansky, T., Ayala, F.J., Stebbins, G.L. and Valentine, J.W. (1993), *Evolución*, Tercera reimpresión, Ediciones Omega, S.A., Barcelona.
- Fowler, K., Semple, C., Barton, N.H. and Partridge, L. (1997), "Genetic variation for total fitness in *Drosophila melanogaster*", *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, Vol. 264 No.1379, pp. 191-99.
- Garcia, A.C.L., Valiati, V.H., Gottschalk, M.S., Rohde, C. and Valente, V.L.D.S. (2008), "Two decades of colonization of the urban environment of Porto Alegre, southern Brazil, by *Drosophila paulistorum* (Diptera, Drosophilidae)", *Iheringia. Série Zoologia*, Vol. 98 No.3, pp 329-38.
- Gottschalk, M.S., De Toni, D.C., Valente, V.L. and Hofmann, P.R. (2007), "Changes in Brazilian *Drosophilidae* (Diptera) assemblages across an urbanisation gradient", *Neotropical Entomology*, Vol. 36 No.6, pp 848-62.
- Graf, U. and Singer, D. (1992), "Genotoxicity testing of promutagens in the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*", *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, Vol. 8 No.1, pp. 15-27.
- Graham, J.H., Roe, K.E. and West, T.B. (1993), "Effects of lead and benzene on the developmental stability of *Drosophila melanogaster*", *Ecotoxicology*, Vol. 2, No.3, pp. 185-195.
- Greenberg, R. and Crow, J. F. (1960), "A comparison of the effect of lethal and detrimental chromosomes from *Drosophila* populations", *Genetics*, Vol. 45 No. 1, pp 1153-1168.
- Haldane, J..B.S, (1956). "The estimation of viabilities", *J. Genetics*, Vol. 54 No. 1, pp. 294-296.
- Hurtado, L., Castrezana, S., Mateos, M., McLaurin, D., Karey, M., Campoy, J. and Markow, T. (1997), "Developmental stability and environmental stress in natural populations of *Drosophila pachea*", *Ecotoxicology*, Vol. 6 No.4, pp 233-38.
- Kenig, B., Jelić, M., Kurbalija, Z., Stamenković, M. and Anđelković, M. (2010), "Inversion polymorphism in populations of *Drosophila subobscura* from urban and non-urban environments", *Archives of Biological Sciences*, Vol. 62 No.3, pp. 565-74.
- Kurbalija, Z., Kenig, B., Plavša, J., Stamenković, M. and Anđelković, M. (2010), "The effect of lead on the developmental stability of *Drosophila subobscura* through selection in laboratory conditions", *Archives of Biological Sciences*, Vol. 62 No.1, pp. 83-91.
- Mukai, T. (1964). "The Genetic Structure of Natural Populations of *Drosophila Melanogaster*. I. Spontaneous Mutation Rate of Polygenes Controlling Viability", *Genetics*, Vol. 50 No.1, pp. 1-19.
- Mukai, T., Chigusa, S.I., Mettler, L.E. and Crow, J.F. (1972). "Mutation Rate and Dominance of Genes Affecting Viability in *Drosophila melanogaster*", *Genetics*, Vol. 72 No.2, pp. 335-55.
- Muller, H.J. (1928), "The measurement of gene mutation rate in *Drosophila*, its high variability, and its dependence upon temperature", *Genetics*, Vol. 13 No.4, pp. 279-357.
- Negre, B. (2005) *Caracterización genómica y funcional de las reorganizaciones del complejo de genes Hox en Drosophila*. Tesis de Doctorado, Universidad autónoma de Barcelona.
- Parsons, P. (1991), "Can atmospheric pollution be monitored from the longevity of stress-sensitive behavioural mutants in *Drosophila*?", *Functional Ecology*, Vol. 5 No.5, pp. 713-15.
- Santiago, E., Albornoz, J., Domínguez, A., Toro, M. A. and López-Fanjul, C. (1992). "The distribution of spontaneous mutations on quantitative traits and fitness in *Drosophila melanogaster*", *Genetics*, Vol. 132 No.3, pp. 771-81.
- Sawamura, K., Yamamoto, M.T. and Watanabe, T.K. (1993), "Hybrid Lethal Systems in the *Drosophila Melanogaster* Species Complex. II. The Zygotic Hybrid Rescue (Zhr) Gene of *D. melanogaster*", *Genetics*, Vol. 133 No.2, pp. 307-13.
- Villalobos, R., Gómez, S., Delgado, A. and Amador, O. (1998), "Mutagenicidad de las aeropartículas", *Vertientes*, Vol. 1 No. 1, pp 3-14.