

MATERIAL I MÈTODES

1 Poblacions analitzades

L'estudi s'ha basat en mostrejar poblacions que ja havien estat analitzades amb anterioritat per altres autors (mostres antigues). Com que es tracta d'un estudi de la variació del polimorfisme cromosòmic a llarg termini s'ha procurat que entre les mostres antigues i les actuals hi hagi un interval mínim de 15 anys. S'han analitzat un total de 13 poblacions (Figura 10) que han estat escollides tenint en compte també que les característiques ecològiques i bioclimàtiques fossin al més variades possibles. Així per exemple, algunes poblacions es troben properes a zones urbanes i sotmeses a un major efecte hivernacle (per exemple: Málaga i Montpel·lier) i altres, en zones més allunyades de nuclis urbans i amb un efecte hivernacle més baix (per exemple: Queralbs i Lagrasse).

Les poblacions estudiades s'han agrupat en 3 blocs, segons la seva localització geogràfica i les seves condicions climàtiques. Aquests 3 grups són: poblacions mediterrànies, poblacions atlàntiques i poblacions centreeuropees. No s'ha tingut en compte en aquesta agrupació l'altitud de les poblacions.



Figura 10. Mapa de la regió paleàrtica on s'indiquen les poblacions analitzades.

1.1 Poblacions mediterrànies

Han estat incloses en aquest grup les poblacions estudiades properes a la mar Mediterrània i sota la seva influència climàtica. La població de Punta Umbría

malgrat trobar-se a la costa atlàntica sud de la península Ibèrica presenta una vegetació i unes condicions climàtiques típiques del clima mediterrani. Per altra banda, Queralbs és una de les poblacions que per la seva altitud, condicions climàtiques i vegetació de muntanya mitjana o alta, es podria considerar més aviat atlàntica o centreeuropea. Ara descriurem breument el lloc i dates de captura per a cada una de les poblacions.

- Montpellier (França)

Mostra capturada en un bosc típicament mediterrani amb alzines i roures (Figura 11), adjacent a la carretera D-986 de Montpellier a Saint-Martin-de-Londres, uns cinc quilòmetres abans d'arribar a aquesta darrera població. La captura es va realitzar els dies 30 i 31 d'octubre de 1998.



Figura 11. Indret de captura a la població de Montpellier (França).

- Lagrasse (França)

Mostra capturada en una pineda adjacent a la carretera D-212 entre Lagrasse i Ribaute, a un quilòmetre i mig de la localitat de Lagrasse, al departament de l'Aude (Figura 12). Captura realitzada els dies 31 d'octubre i 1 de novembre de 1997.



Figura 12. Indret de captura a la població de Lagrasse (França).

- Queralbs (Espanya)

Mostra capturada el 21 de juny de 1997, a la vora d'un rierol prop de la font del Coronel. Vegetació típica de ribera (Figura 13).



Figura 13. Indret de captura a la població de Queralbs (Espanya).

- Ribarroja (Espanya)

Província de València. Mostra obtinguda en un canyissar al costat del riu Túria (Figura 14), els dies 20 i 21 de març de 1998.



Figura 14. Indret de captura a la població de Ribarroja (Espanya).

- Calvià (Espanya)

Mostra facilitada per l'equip de J. A. Castro i M. M. Ramón del Departament de Genètica la Universitat de les Illes Balears i capturada en una pineda típicament mediterrània situada prop de la carretera de Palma Nova a Calvià, l'abril de 1997.

- Punta Umbría (Espanya)

Mostra capturada en dues pinedes diferents però molt properes entre sí. La primera era molt a la vora de la població i estava localitzada en un terreny parcel·lat (Figura 15). La segona estava localitzada en la zona anomenada La Peguera, a la riba del riu Odiel. Captura realitzada del 16 al 18 de maig de 1998.



Figura 15. Indret de captura a la població de Punta Umbría (Espanya).

- Málaga (Espanya)

Mostra obtinguda a la perifèria de la ciutat de Málaga, en una plantació d'eucaliptus i pins (Figura 16) dins dels terrenys pertanyents a l'INFOCA (Centro Operativo Provincial de Lucha contra Incendios Forestales, de la Junta de Andalucía), a la N-340 entre Málaga i Torremolinos. Captura realitzada els dies 18 i 19 de maig de 1998.



Figura 16. Indret de captura a la població de Málaga (Espanya).

1.2 Poblacions atlàntiques

Grup format per 3 poblacions europees situades en la regió occidental del continent europeu i amb unes condicions climàtiques característiques del clima atlàntic.

- Groningen (Holanda)

Mostra capturada al nord-est d'Holanda, prop de la ciutat de Groningen, en un parc anomenat Quintosbos i localitzat al costat de la N-7 entre les dues petites localitats de Haren i Glimmen. Captura realitzada els dies 29 i 30 de juliol de 1999 en una fageda no gaire densa amb alguns roures i vegetació arbustiva escassa (Figura 17).



Figura 17. Indret de captura a la població de Groningen (Holanda).

- Louvain-la-Neuve (Bèlgica)

Mostra recol·lectada al campus de la Universitat catòlica de Louvain-la-Neuve, en una esplanada propera a l'estació de tren amb diverses files de pollancrees plantats (Figura 18). Captura realitzada els dies 31 de juliol i 1 d'agost de 1999.



Figura 18. Indret de captura a la població de Louvain-la-Neuve (Bèlgica).

- Villars (França)

Mostra obtinguda a la localitat de Champagnac de Belair (departament de Dordogne), propera a Villars, els dies 9 i 10 de setembre de 2001. Captura realitzada al costat del riu Dronne, en una zona de vegetació típica de ribera clarament alterada per l'acció humana (Figura 19).



Figura 19. Indret de captura a la població de Champagnac de Belair (França).

1.3 Poblacions centreeuropees

Les darreres tres poblacions estan localitzades en la part central del continent europeu, d'aquí el nom sota el qual s'han agrupat. Les condicions climàtiques que presenten són més continentals que les de la resta de poblacions estudiades.

- Tübingen (Alemanya)

Mostra obtinguda en un bosc proper al Botanischer Garten i al Naturwissenschaftliche Institute, en una zona anomenada Heuberger Tor. Bosc format per grans coníferes, faigs i algun roure (Figura 20). La zona de captura estava situada al límit del bosc i separada d'un prat per una filera de pomeres. Mostra capturada al llarg dels mesos de juliol, setembre i octubre de 2000.



Figura 20. Indret de captura a la població de Tübingen (Alemanya).

- Leuk (Suïssa)

Situada al cantó suís de Valais, a la vall del Roine. Captura realitzada del 17 al 20 d'agost de 2000 al bosc de Bannwald, en la carretera de Leuk a Guttet i prop del trencall de Brentjong. Vegetació formada principalment per pins (Figura 21).



Figura 21. Indret de captura a la població de Leuk (Suïssa).



Figura 22. Indret de captura a la població de Wien (Àustria).

- Wien (Àustria)
Mostra obtinguda al Mauerer Wald, bosc situat al sud-oest de la ciutat de Wien, els dies 14 i 15 de juliol de 2001. El bosc era una fageda (Figura 22).

Les mostres es van obtenir en la mateixa època de l'any que les antigues, per tal d'evitar el possible efecte estacional que pogués haver-hi. Sempre que va ser possible

es va obtenir la mostra en el mateix lloc o en un hàbitat de les mateixes característiques i proper a l'anterior. En la taula 1 es poden veure les diverses poblacions amb les seves coordenades geogràfiques i les dates d'obtenció de les mostres actuals i antigues.

Taula 1. Localització geogràfica i dates de captura de les mostres antigues i noves per totes les poblacions estudiades.

Poblacions	Coordenades	Dates de les mostres	
		Noves	Antigues
<u>Mediterrànies:</u>			
Montpellier	43°36'N–3°53'E	Octubre 1998	Desembre 1972 (Prevosti <i>et al.</i> , 1984)
Lagrasse	43°05'N–2°37'E	Octubre 1997	Octubre 1962 (Prevosti, 1964)
Queralbs	42°13'N–2°10'E	Juny 1997	Juny 1966 (Prevosti, 1968)
Riba-roja	39°33'N–0°34'W	Març 1998	Abril 1963 (Prevosti, 1966)
Calvià	39°33'N–2°29'E	Abril 1997	Primavera (Prevosti <i>et al.</i> , 1984)
Punta Umbria	37°10'N–6°57'W	Maig 1998	Maig 1970 (de Frutos, 1972)
Málaga	36°43'N–4°25'W	Maig 1998	Abril 1963 (Prevosti, 1966)
<u>Atlàntiques:</u>			
Groningen	53°13'N–6°35'E	Juliol 1999	(Krimbas, 1964)
Louvain-la-Neuve	50°43'N–4°37'E	Agost 1999	Setembre 1976 (Prevosti, com. pers.)
Villars	45°26'N–0°44'E	Setembre 2001	Octubre 1976 (Prevosti, com. pers.)
<u>Centreeuropees:</u>			
Tübingen	48°32'N–9°04'E	Juliol, setembre i octubre 2000	Març, juliol i setembre 1975 (Pinsker <i>et al.</i> , 1978)
Wien	48°13'N–16°22'E	Juliol 2001	Agost 1954 i 1955 (Kunze-Mühl <i>et al.</i> , 1958)
Leuk	46°19'N–7°39'E	Agost 2000	Agost 1977 (Burla <i>et al.</i> , 1986)

2 Obtenció de les mostres

Per capturar es van utilitzar com a esquers recipients amb plàtan madur trossejat amb la pell i tot, i barrejat amb llevat sec, seguint el mètode utilitzat per Monclús (1964); quan el plàtan fermenta desprèn una olor molt atractiva per a aquests dípters. En la mostra de Tübingen i Leuk a més de plàtan triturat es varen ratllar pomes madures i es va utilitzar llevat fresc i cervesa, seguint el costum que tenen els investigadors d'allà per capturar.

De tots els drosòfílids capturats, se separaven els que pertanyien a l'espècie *D. subobscura*, i es guardaven en etanol al 70% la resta d'individus per a la seva posterior classificació. Això va permetre d'estimar la diversitat d'espècies en cada població, excepte en el cas de la població de Calvià. Cada femella de l'espècie *D.*

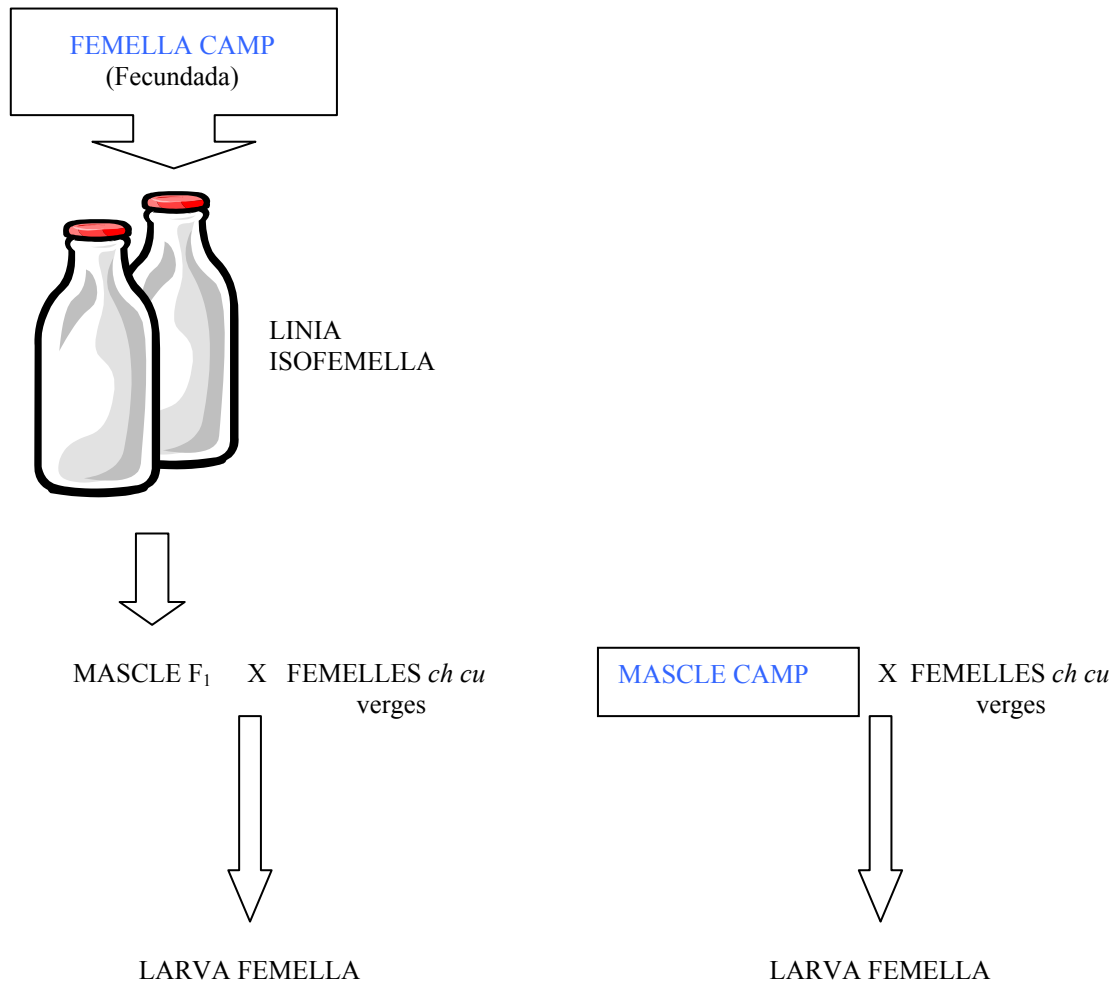


Figura 23. Esquema de la metodologia emprada des que s'obtenien els individus de *D. subobscura* al camp fins al moment de fer les preparacions de cromosomes politènics.

subobscura es posava en un tubet amb medi de cultiu per obtenir línies d'isofemelles. Quan es disposava de mascles salvatges vius, aquests s'encreuaven individualment amb 3 o 4 femelles verges de la soca *ch cu* (*ch*= "cherry", ulls color cirera, i *cu*= "curled", ales corbades) que és homocariotípica pels ordenaments A_{ST}, J_{ST}, U_{ST}, E_{ST} i O₃₊₄. Un mascle de la descendència de cada línia d'isofemella s'encreuava amb 3 o 4 femelles verges *ch cu*, ja que es pot considerar equivalent a un mascle del camp. El polimorfisme cromosòmic es determinava realitzant una preparació de cromosomes politènics a partir de les glàndules salivals de larves femelles de tercer estadi descendents dels anteriors encreuaments (Figura 23). La larva se sexava visualitzant per transparència els òrgans sexuals, que en el cas de les femelles són dos cossos translúcids d'una mida força inferior als dels mascles. Al

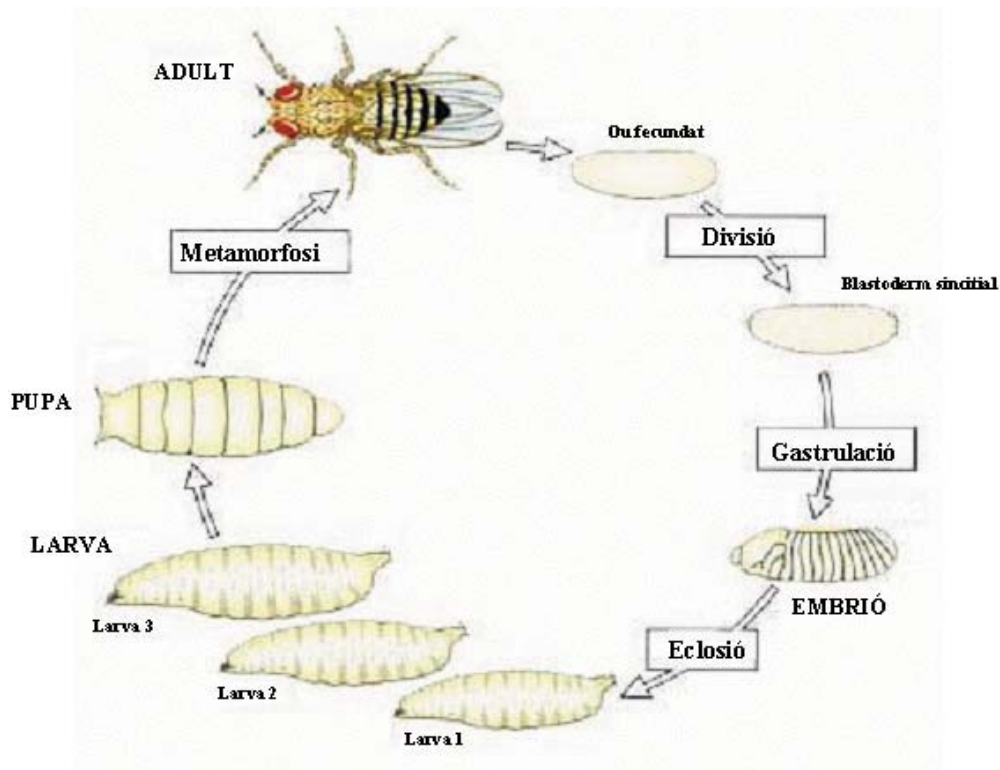


Figura 24. Esquema del cicle biològic de *Drosophila*, on es pot apreciar els diferents estadis des de l'ou fins a l'adult, passant pels diferents estadis larvaris. L'estadi larva 3 és l'utilitzat per fer les preparacions de cromosomes politènics.

triar les larves femelles es garanteix poder observar el cromosoma A procedent de la població natural.

El nombre de cromosomes analitzats varia d'una població a una altra, però en tots els casos és un nombre significatiu (en cap cas inferior a 80, i en molts casos superior a 120). En general, es va llegir només un cromosoma de cada parell d'homòlegs provinents del mascle analitzat, però en alguns casos, com que hi havia pocs individus, es van fer 8 preparacions de cromosomes politènics per conèixer els ordenaments dels dos homòlegs del mascle, i així augmentar el nombre de cromosomes de la mostra (exceptuant el cromosoma A).

La dissecció de cada larva de tercer estadi (Figura 24) es realitza sobre un portaobjectes on es posen 1 o 2 gotes de solució salina al 0,9%, i sota una lupa binocular de 40 augments i amb il·luminació zenital. La dissecció es realitza subjectant la larva amb unes pinces, mentre amb unes altres pinces de punta molt fina (*tweezers style 5 110mm*, SIGMA T-4537) s'agafen les mandíbules i tot estirant-les s'extreuen les glàndules salivals. Se separen les glàndules salivals amb unes agulles

entomològiques, procurant netejar-les al màxim possible de greix. En un portaobjectes nou, que abans de ser utilitzat ha estat immersit en etanol de 96° almenys durant 16 h, es posa una gota d'orceïna aceticolàctica, sobre la qual es deixen les glàndules salivals una vegada aïllades. Es deixen tenyir uns 30 minuts i es col·loca el cobreobjectes per realitzar l'aixafament.

Solucions utilitzades

- Solució salina 0,9%

900 mg de Na Cl en 100 ml d'aigua destil·lada. Es guarda a la nevera.

- Orceïna acètica

2 g d'orceïna FLUKA 75410 en 100 ml d'àcid acètic glacial MERCK 63 al 60%. S'escalfa la solució sense que arribi a bullir. Es filtra en calent i es deixa reposar. Es guarda a temperatura ambient protegida de la llum.

- Orceïna aceticolàctica

50% d'orceïna acètica i 50% d'àcid làctic MERCK 366. És convenient preparar només la quantitat que s'ha d'utilitzar en un parell de mesos, ja que la solució va perdent qualitat amb el temps.

3 Anàlisi de la diversitat d'espècies

Riquesa d'espècies. Es mesura com el nombre d'espècies present en una població. Aquest depèn del nombre d'individus capturats, ja que en mostres petites s'espera trobar les espècies més freqüents, però les més rares només s'esperen obtenir si la mostra és gran. Això dificulta la comparació de mostres de diferent grandària.

Rarefaction. Per poder comparar la riquesa d'espècies entre mostres de diferent grandària, sovint és molt útil calcular el valor que tindria aquesta riquesa en cada una suposant que totes tenen la mateixa grandària. Aquest càlcul es pot realitzar

utilitzant el mètode de *rarefaction* per estimar el nombre esperat d'espècies en una mostra, $E(Sn)$ per un determinat nombre d'individus capturats (n). Ha estat utilitzat el programa BIODIV 5.1, que permet calcular el nombre esperat d'espècies per una mostra de la grandària estàndard que decidim i la seva variància, $var(E(S))$. Es va escollir una grandària estàndard de 400 individus, perquè la població estudiada que tenia menys individus era Málaga, amb $n = 404$.

Índex de diversitat de Shannon. La diversitat d'una població no depèn tan sols del nombre d'espècies sinó també de l'abundància relativa de cadascuna d'elles. Un dels índexs més utilitzats per mesurar la diversitat és el de Shannon que es calcula amb l'expressió següent:

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \ln p_i$$

on p_i és la probabilitat que un individu pertanyi a l'espècie i , o el que és equivalent, la freqüència de l'espècie i a la població; i S és el nombre d'espècies presents a la població. Quan el nombre d'espècies és elevat i amb unes freqüències similars, el valor d'aquest índex és alt. Si hi ha poques espècies i distribuïdes molt irregularment, el valor de l'índex és baix. Aquest índex, a part de ser un dels més utilitzats, és dels que aporta més informació, i permet no perdre sensibilitat quan hi ha espècies poc freqüents.

El càlcul dels intervals de confiança d'aquest índex permet comparar dues o més poblacions. Pardo *et al.* (1992) calculen aquests intervals de confiança a partir d'una forma general proposada per Salicrú *et al.* (1992). L'índex de diversitat de Shannon segueix una distribució normal on la variància ve donada per l'expressió:

$$\sigma^2 = \sum_{i=1}^S p_i (\ln p_i)^2 - (H')^2$$

L'interval de confiança de la diversitat es pot calcular de la manera següent:

$$H' \pm Z_{\frac{\varepsilon}{2}} \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

on n és la grandària de la mostra, ε el nivell de significació emprat i Z el valor corresponent de la taula de distribució de la normal tal que $P[Z > Z_{\varepsilon}] = \varepsilon$.

Índex d'uniformitat. Aquest índex permet saber si la distribució de les espècies és uniforme, o si en cas contrari tenim una espècie molt abundant. Un índex d'uniformitat força utilitzat és el de Molinari (Molinari, 1989). Per calcular aquest índex cal primer calcular l'índex de diversitat de Hill, segons l'expressió següent:

$$N_1 = e^{H'}$$

a partir d'aquest índex i amb l'expressió:

$$N_2 = \frac{1}{\sum_{i=1}^s p_i^2}$$

es pot calcular l'índex d'uniformitat d'Alatalo com:

$$F = \frac{N_2 - 1}{N_1 - 1}$$

I així, finalment, es calcula l'índex d'uniformitat de Molinari com:

$$G = \begin{cases} \frac{\arcsin F}{90^\circ} F & \text{si } F > \sqrt{\frac{1}{2}} \\ F^3 & \text{si } F < \sqrt{\frac{1}{2}} \end{cases}$$

L'índex de Molinari té una relació lineal amb la uniformitat. Aquest índex és una variant ponderada de l'índex d'Alatalo i, per tant, és un millor estimador de la uniformitat.

4 Estudi del polimorfisme cromosòmic

Prova d'heterogeneïtat. Mitjançant aquesta prova s'ha analitzat si hi havia diferències significatives entre el polimorfisme cromosòmic de les mostres antigues i les noves. Aquesta prova (prova G), també anomenada *likelihood ratio test* o prova de la raó de la versemblança, s'utilitza per calcular la bondat d'ajustament. Té avantatges sobre la χ^2 , a més de ser computacionalment més senzilla. Una propietat important d'aquesta prova és la seva additivitat, és a dir, les proves G globals es poden subdividir en proves G separades, cada una amb els seus corresponents graus de llibertat. També ha estat utilitzada aquesta prova per analitzar la variació del

polimorfisme cromosòmic en l'espai. Com que en general es disposa de més de dues classes, l'expressió que defineix el valor de G és:

$$G = 2 \sum_{i=1}^a f_i \ln \left(\frac{f_i}{\hat{f}_i} \right)$$

essent f_i la freqüència observada de l'ordenament i ; \hat{f}_i la freqüència esperada i a el nombre de classes (Sokal i Rohlf, 1995).

Mètode de Bonferroni. Quan es realitzen múltiples proves s'acostuma a utilitzar el mètode de Bonferroni. S'ha utilitzat el mètode seqüencial de Bonferroni ja que és més potent que el mètode estàndard. Aquest mètode modifica les probabilitats obtingudes, i amb les probabilitats que dóna es pot eliminar les que podrien ser significatives per atzar. Alguns investigadors consideren la prova estàndard de Bonferroni molt restrictiva, en el sentit que de vegades elimina més valors de significació dels que serien esperats per atzar. En canvi, la prova seqüencial de Bonferroni no és tan estricta o conservativa en aquest sentit (Rice, 1989).

Distància de Prevosti. Una manera de quantificar la variació en les freqüències cromosòmiques és mitjançant el càlcul de les distàncies genètiques entre poblacions. Per calcular la distància genètica s'ha utilitzat l'índex proposat per Prevosti (1974a):

$$D = \frac{1}{2r} \sum_{j=1}^r \sum_{k=1}^{s_j} |p_{1,jk} - p_{2,jk}|$$

essent s_j el nombre d'al·lels del *locus* polimòrfic j , en el nostre cas és el nombre d'ordenaments d'un cromosoma determinat; r és el nombre de *loci* polimòrfics, en el nostre cas el nombre de cromosomes; $p_{1,jk}$ és la freqüència de l'al·lel k (ordenament cromosòmic) pertanyent al *locus* j (cromosoma) en la població 1; i $p_{2,jk}$ és la freqüència del mateix ordenament en la població 2.

El càlcul de la distància de Prevosti s'ha realitzat amb el programa estadístic DISTPREV.

Aquesta distància és totalment independent dels valors de les freqüències que es comparen, del nombre d'al·lels que hi ha per cada *locus* i dels factors que han determinat la diferenciació. A més, no té en compte les possibles correlacions entre al·lels i *loci*. Per aquestes raons s'ha utilitzat aquest model per calcular la distància genètica i poder estimar el grau de semblança o diferenciació entre les mostres antigues i entre les mostres noves.

Amb els valors de les distàncies de Prevosti entre les mostres noves i les antigues s'han construït dos arbres filogenètics segons el mètode de Neighbor-joining utilitzant el programa PHYLIP 3.6, per poder veure si les mostres noves s'agrupaven d'una manera semblant a com ho feien les antigues, o bé si al llarg del temps presentaven relacions diferents entre elles.

Prova de Mantel. Va ser descrit per Mantel (1967) per detectar associacions entre malalties. Aquest mètode s'utilitza per comprovar si dues matrius de distàncies estan correlacionades. Es calcula amb l'expressió següent:

$$Z = \sum_{i=2}^n \sum_{j=1}^{i-1} m_{ij} e_{ij}$$

on m_{ij} representa un element qualsevol d'una de les matrius de distàncies, i e_{ij} l'element corresponent de l'altra matriu. Sovint, en lloc de Z s'utilitza el coeficient de correlació entre els elements situats per sota de la diagonal principal de les dues matrius (Manly, 1986):

$$r = \frac{z - \frac{n(n-1)\bar{m}\bar{e}}{2}}{\sqrt{\left[\sum_{i=2}^n \sum_{j=1}^{i-1} m_{ij}^2 - \frac{n(n-1)\bar{m}^2}{2} \right] \left[\sum_{i=2}^n \sum_{j=1}^{i-1} e_{ij}^2 - \frac{n(n-1)\bar{e}^2}{2} \right]}}$$

on

\bar{m} = mitjana dels valors m_{ij}

\bar{e} = mitjana dels valors e_{ij}

n = nombre d'elements de la matriu

Un cop calculat el valor observat de r es fan un sèrie de permutacions dels elements d'una de les matrius, mantenint l'altra constant. Això permet obtenir un valor esperat de r per cadascuna de les permutacions i una distribució de freqüències esperades de r ; a partir d'aquesta distribució de freqüències es determina la significació del valor observat de r .

Per realitzar aquesta prova s'ha utilitzat el programa BIOMstat 3.2.

Anàlisi de les clines. Per determinar si l'heterogeneïtat del polimorfisme cromosòmic en l'espai, detectada mitjançant les proves G , és deguda a una variació tipus clina latitudinal de les freqüències d'alguns ordenaments, s'han calculat els coeficients de regressió de les freqüències normalitzades dels diferents ordenaments respecte de la latitud. Com que es tracta de freqüències, la transformació emprada ha estat $\arcsin \sqrt{q}$ (essent q la freqüència de l'ordenament corresponent).

Proves no paramètriques. Per comprovar si a cada població ha disminuït la freqüència d'aquells ordenaments típics de latituds fredes, i correlativament, ha augmentat la freqüència d'aquells típics de les latituds càlides, a fi i efecte de relacionar aquests canvis amb el possible escalfament global del planeta, s'han utilitzat dos proves no paramètriques. Per aplicar aquestes proves s'han subdividit els ordenaments en dos grups: els que presenten una correlació significativa i positiva amb la latitud (A_{ST} , J_{ST} , U_{ST} , U_1 , E_{ST} , O_{ST} , O_6 , O_5 , O_{3+4+12} i O_{3+4+23}), és a dir, els típics de llocs freds, i els que presenten una correlació significativa i negativa amb la latitud (A_2 , A_{2+6} , $A_{2+3+5+7}$, J_1 , U_{1+2} , U_{1+2+8} , $E_{1+2+9+3}$, $E_{1+2+9+4}$, $E_{1+2+9+12}$, O_{3+4} i O_{3+4+8}), que són els típics de llocs càlids (Menozzi i Krimbas, 1992). Posteriorment, per a cada població i per a cada ordenament, s'ha calculat la diferència de la freqüència entre la mostra nova i antiga.

- **Prova dels signes.** Per cada conjunt de poblacions (mediterrànies, atlàntiques i centreeuropees) i cada grup d'ordenaments (típics de llocs freds i de llocs càlids), s'ha calculat el nombre de signes positius i negatius de les diferències entre les freqüències de les mostres noves i antigues. La hipòtesi nul·la és que el nombre de signes positius (o negatius) segueix una

distribució binomial de paràmetres $(n, p = \frac{1}{2})$. Per $n > 10$ la binomial es pot aproximar a una normal. Malgrat que aquesta prova no és massa potent, és molt fiable quan és significativa.

- **Prova de Wilcoxon.** Aquesta prova té en compte no només el signe de les diferències sinó també la seva magnitud. Per tant, la combinació de les dos proves permet tenir una idea més acurada del sentit en què s'han produït els canvis de les freqüències dels diferents ordenaments en aquestes poblacions al llarg del temps.

El càlcul de les proves no paramètriques i d'heterogeneïtat s'ha realitzat amb el paquet estadístic SPSS 10.0.

RESULTATS

1 Diversitat d'espècies

De les 13 poblacions estudiades només es van obtenir les dades referents a la composició d'espècies de *Drosophila* en 12 d'elles, ja que la mostra de Calvià va ser facilitada per l'equip de J. A. Castro i M. M. Ramón de la Universitat de les Illes Balears.

En la taula 2 s'indiquen les poblacions i les diverses espècies de *Drosophila* que es van capturar a cadascuna d'elles. Les espècies han estat agrupades en tres grups: aquelles que pertanyen al grup *obscura*, com és el cas de *Drosophila subobscura*, espècies cosmopolites i altres espècies. Per a cada població es dona la freqüència relativa de les espècies trobades, així com el nombre total d'individus (n). Es pot observar que el nombre d'individus capturats varia entre els 404 de Málaga i els 4590 de Punta Umbría. L'espècie dominant en 10 de les 12 poblacions estudiades és *Drosophila subobscura*. En aquestes deu poblacions la freqüència de *D. subobscura* varia entre el 91,12% de Wien i el 34,97% de Tübingen. Les poblacions on l'espècie més abundant no és *D. subobscura* són Groningen, on l'espècie dominant és *Drosophila helvetica*, i Punta Umbría, on ho és *Drosophila simulans*.

Del grup *obscura* s'han identificat sis espècies en el conjunt de les poblacions estudiades. Les poblacions mediterrànies presenten una menor riquesa d'espècies d'aquest grup, amb només tres representants; de fet a les poblacions de Málaga, Punta Umbría i Riba-roja *D. subobscura* és l'únic representant del grup. En el conjunt de les poblacions atlàntiques i centreeuropees s'hi han identificat les sis espècies, encara que només Tübingen les presenta totes.

Pel que fa a la resta de drosofilids, únicament *D. melanogaster* es troba en totes les poblacions estudiades. En contraposició hi ha espècies que es troben en una única població, com per exemple *D. confusa* a Wien, *D. limbata* a Leuk, *D. repleta* a Louvain-la-Neuve, *D. picta* a Riba-roja, *D. buzzatii* a Punta Umbría, o *D. funebris* a Groningen. En conjunt, cada població presenta una varietat d'espècies i una freqüència diferent per a cadascuna d'elles.

Espècies	Poblacions Mediterrànies						Poblacions Atlàntiques			Poblacions Centreuropees		
	Montpellier	Lagrasse	Queralbs	Riba-roja	P.Umbria	Málaga	Groningen	Louvain	Villars	Tübingen	Wien	Leuk
<u>Grup obscura:</u>												
<i>D. subobscura</i>	47,21	51,23	73,53	86,59	5,36	65,83	28,88	64,05	72,03	34,97	91,12	56,52
<i>D. obscura</i>		0,76	4,09				3,26	0,63	0,45	26,96	0,61	4,32
<i>D. ambigua</i>	0,17		5,04				0,08			0,16		0,20
<i>D. subsilvestris</i>							0,08			0,33		
<i>D. helvetica</i>							41,15	2,66	0,45	3,76	2,22	1,11
<i>D. tristis</i>									5,86	0,49		0,13
<u>Cosmopolites:</u>												
<i>D. simulans</i>	11,64	10,19	0,16	0,27	79,41	13,37		0,25		0,16		0,07
<i>D. melanogaster</i>	37,82	35,16	0,47	3,97	11,35	4,46	1,24	22,03	16,69	6,70	0,40	2,16
<i>D. immigrans</i>		1,33		6,29	1,53	10,89	10,33	6,58	3,31	12,25		0,39
<i>D. hydei</i>		0,57	0,16	1,37	1,55	4,95	1,32	2,03				
<i>D. busckii</i>							0,39	0,38	0,30	0,49		
<i>D. funebris</i>							12,03					
<u>Altres espècies:</u>												
<i>D. buzzatii</i>					0,09							
<i>D. cameraria</i>	3,16		1,26	0,55						0,33		0,07
<i>D. phalerata</i>			1,42	0,82	0,72	0,50	0,47	0,51	0,75	2,29	5,25	16,76
<i>D. transversa</i>			0,16					0,13				1,05
<i>D. testacea</i>		0,76	12,76				0,08	0,38	0,15	9,97		12,05
<i>D. histrio</i>			0,79									
<i>D. kuntzei</i>			0,16				0,70	0,25		1,14	0,20	5,11
<i>D. picta</i>				0,14								
<i>D. repleta</i>								0,13				
<i>D. limbata</i>												0,07
<i>D. confusa</i>											0,20	
<i>n</i>	1203	527	635	731	4590	404	1288	790	665	612	495	1527

Taula 2. Percentatge d'individus de les diferents espècies de *Drosophila* capturades en cadascuna de les poblacions analitzades. *n* és el nombre d'individus capturats.

1.1 Riquesa d'espècies

En la taula 3 es pot observar, per a cada població, el nombre d'individus (n), el nombre d'espècies (S), el nombre esperat d'espècies si la mostra hagués estat de 400 individus ($E(S)$) i la seva variància ($var(E(S))$), l'índex de diversitat de Shannon (H') i el seu l'interval de confiança al 95%, i l'índex d'uniformitat de Molinari (G). Aquests últims índexs permeten tenir una idea de la diversitat de la mostra que s'ha obtingut i si totes les espècies hi estan ben representades o bé n'hi ha alguna de dominant. Les poblacions on s'hi han detectat més espècies són Tübingen i Leuk, amb 14 espècies, ambdues incloses en el grup de les poblacions centreeuropees; cal tenir en compte, però, que en la primera la mostra és de 612 individus i en la segona, de 1527. Segueixen les poblacions de Groningen i Louvain-la-Neuve amb 13 espècies, ambdues atlàntiques, i amb 1288 i 790 individus capturats respectivament. La mostra mediterrània amb més riquesa d'espècies és la de Queralbs, amb 12 espècies i 635 individus. Les poblacions amb menys espècies són la de Montpellier

Taula 3. Valors dels índexs utilitzats per analitzar la diversitat d'espècies en les poblacions mostrejades: n : nombre d'individus; S : nombre d'espècies; $E(S)$: nombre esperat d'espècies en una mostra de 400 individus; $varE(S)$: variància del nombre esperat d'espècies en una mostra de 400 individus; H' : índex de diversitat de Shannon; Interval H' : interval de confiança de la diversitat i G : índex d'uniformitat de Molinari.

Poblacions	n	S	$E(S)$	$var(E(S))$	H'	Interval H'	G
<u>Mediterrànies:</u>							
Montpellier	1203	5	4,55	0,247	1,09	1,06 - 1,13	0,50
Lagrasse	527	7	6,98	0,0201	1,10	1,03 - 1,17	0,41
Queralbs	635	12	10,5	0,987	0,99	0,89 - 1,09	0,10
Riba-roja	731	8	7,29	0,459	0,58	0,50 - 0,66	0,07
Punta Umbria	4590	7	6,25	0,262	0,76	0,72 - 0,79	0,11
Málaga	404	6	6	0,000073	1,10	1,00 - 1,20	0,18
<u>Atlàntiques:</u>							
Groningen	1288	13	10,6	0,905	1,53	1,48 - 1,59	0,36
Louvain	790	13	11,2	1,16	1,12	1,04 - 1,20	0,17
Villars	665	9	8,31	0,5	0,93	0,84 - 1,01	0,15
<u>Centreeuropees :</u>							
Tübingen	612	14	13	0,742	1,76	1,69 - 1,84	0,36
Wien	495	7	6,57	0,352	0,40	0,31 - 0,49	0,07
Leuk	1527	14	10,7	1,22	1,40	1,35 - 1,46	0,18

amb 5, per un total de 1203 individus capturats, seguida per Málaga amb 6 espècies i 404 individus, ambdues pertanyents al grup de les poblacions mediterrànies.

1.2 Rarefaction

Per tal de poder comparar correctament la riquesa d'espècies entre poblacions es va calcular el nombre d'espècies esperat suposant una mostra de 400 individus, $E(S)$, mitjançant el mètode de la *rarefaction*. Es va escollir una grandària de 400 individus pel fet que la mostra de menor grandària era la de Málaga amb 404 individus. Es pot observar que en la majoria de casos si s'hagués capturat una mostra de 400 individus s'hauria obtingut una o dues espècies menys de les que en realitat s'han obtingut. El cas més extrem correspon al de la població de Leuk amb 3 espècies menys. Per la majoria de poblacions es pot dir que la riquesa d'espècies que s'ha obtingut en les captures és la mateixa que s'hauria obtingut capturant només 400 individus.

Quan es representen gràficament els valors obtinguts mitjançant el mètode de *rarefaction* (Figura 25) es pot veure que en algunes poblacions, com Montpellier i Málaga, el nombre d'espècies no augmenta a partir d'una mostra d'aproximadament

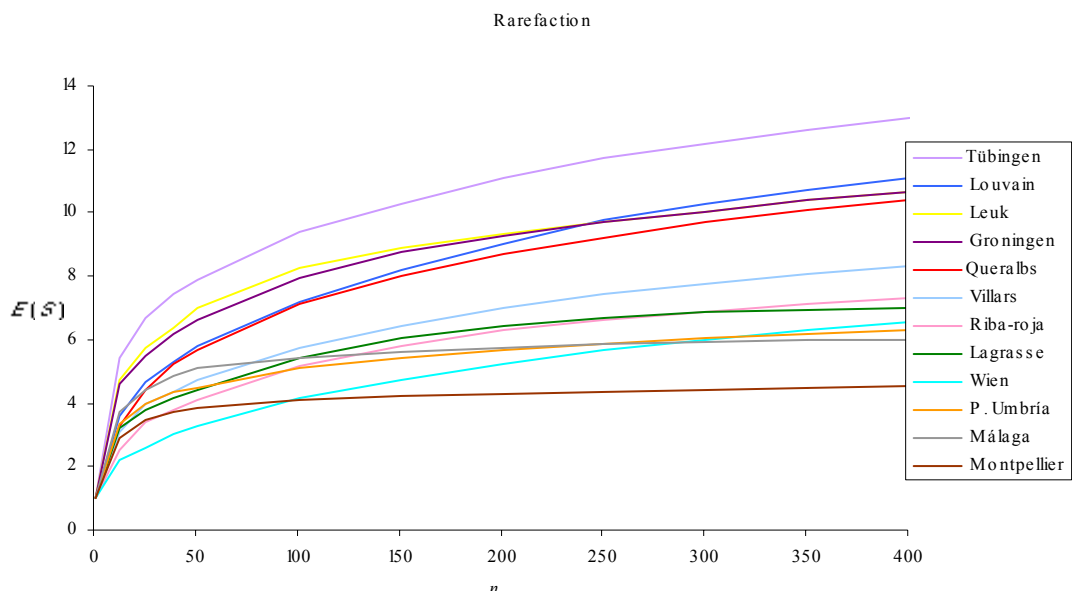


Figura 25. Representació gràfica dels valors obtinguts pel mètode de *rarefaction*. La gràfica representa el nombre d'espècies esperat ($E(S)$) segons el nombre d'individus capturats (n).

100 individus. A la població de Lagrasse s'arriba al nombre màxim d'espècies en una mostra aproximadament de 250 individus. En la resta de poblacions s'espera que el nombre d'espècies continuï augmentant en mostres més grans de 400 individus.

1.3 Índex de diversitat

L'índex de diversitat de Shannon (H') té en compte no només el nombre d'espècies sinó també la seva freqüència. Els valors alts de l'índex corresponen a mostres amb un nombre elevat d'espècies equifreqüents. Els valors són baixos si la mostra presenta poques espècies distribuïdes irregularment. Les poblacions de Tübingen i Groningen són les que presenten els valors més elevats d'aquest índex; aquestes poblacions no només presenten un nombre elevat d'espècies, sinó que també en cap d'elles hi ha una espècie que superi el 50% de freqüència. La població de Leuk, malgrat tenir una riquesa d'espècies superior a Groningen, presenta una espècie amb una freqüència superior al 50%, amb la qual cosa el seu índex de diversitat és lleugerament inferior. Els valors més baixos de diversitat corresponen a les poblacions de Wien, amb només 7 espècies i una d'elles amb una freqüència del 91%, i Riba-roja, amb 8 espècies i una d'elles amb una freqüència del 86%.

1.4 Índex d'uniformitat

A la darrera columna de la taula 3 s'hi mostren els valors de l'índex d'uniformitat de Molinari (G). Es pot observar que les poblacions amb un índex més baix són Riba-roja i Wien; en ambdues poblacions l'espècie més abundant supera el 85% de freqüència. Les poblacions que presenten un índex més alt són Montpellier, Lagrasse, Groningen i Tübingen; només en la població de Lagrasse l'espècie més abundant supera un 50% de freqüència.

2 Polimorfisme cromosòmic

En les taules 4, 5 i 6 s'indiquen les freqüències dels diferents ordenaments per cada una de les poblacions analitzades tant per a les mostres noves com per a les antigues. Considerant totes les poblacions, s'han trobat 5 ordenaments diferents pel cromosoma A, 3 pel cromosoma J, 10 pel cromosoma U, 9 pel cromosoma E i 21 pel

cromosoma O. En general el cromosoma J és el menys polimòrfic en totes les poblacions, i el cromosoma O el més polimòrfic. Es pot observar que en la majoria de les mostres antigues el nombre de cromosomes A analitzats és aproximadament la meitat del nombre d'autosomes, tal i com es pot comprovar comparant els valors de n de les taules. Això és degut a que en aquests estudis no se sexava la larva de la qual es feia la preparació dels cromosomes politènics, amb la qual cosa si la larva era un mascle no es podia determinar el cromosoma A del camp. En les mostres noves el nombre de cromosomes A i d'autosomes és equivalent ja que, com s'ha indicat a la secció de “*Material i mètodes*”, s'escollia una larva femella per fer les preparacions.

Els següents ordenaments es detecten a totes les mostres: A_{ST} , A_2 , J_{ST} , J_1 , U_{1+2} , U_{1+2+8} , E_{ST} , E_{1+2} , O_{ST} i O_{3+4} . Cinc ordenaments (U_{ST} , E_{1+2+9} , $E_{1+2+9+12}$, O_{3+4+1} i O_{3+4+8}) són presents a totes les poblacions, però en alguna població no s'ha detectat en una de les mostres. Els ordenaments A_1 i E_8 s'han trobat en 12 de les 13 poblacions analitzades.

S'han detectat tres inversions que no havien estat descrites amb anterioritat: la inversió U_{13} , que va ser trobada a la població de Calvià i forma part de l'ordenament U_{2+13} ; la inversió E_{22} , trobada també a Calvià i que forma part de l'ordenament E_{1+2+22} , i la inversió E_{23} , trobada a Louvain-la-Neuve i que forma part de l'ordenament E_{1+2+23} .

Deixant de banda les noves inversions, esmentades en l'anterior paràgraf, les ordenacions detectades en només una població són:

- $A_{2+3+5+7}$ a la mostra nova de Punta Umbría
- A_{2+6} a la mostra nova de Punta Umbría. Aquesta ordenació juntament amb l'anterior només s'havien trobat al nord d'Àfrica, les illes Canàries i Madeira, i és la primera vegada que es detecten en el continent europeu.
- J_{3+4} a la població de Calvià
- U_{1+2+4} a la mostra antiga de Lagrasse
- O_{3+4+6} a la mostra antiga de Groningen
- O_{3+4+10} a la mostra nova de Wien

Taula 4. Polimorfisme cromosòmic de les 7 poblacions mediterrànies estudiades.

	Montpellier		Lagrasse		Queralbs	
	Antiga	Nova	Antiga	Nova	Antiga	Nova
A _{ST}	0,602	0,569	0,725	0,538	0,472	0,401
A ₁	0,243	0,154	0,175	0,114	0,083	0,070
A ₂	0,155	0,277	0,100	0,348	0,445	0,529
A ₂₊₆						
A ₂₊₃₊₅₊₇						
<i>n</i>	103	332	40	159	36	142
J _{ST}	0,483	0,445	0,421	0,410	0,328	0,280
J ₁	0,517	0,555	0,579	0,590	0,672	0,720
J ₃₊₄						
<i>n</i>	172	339	76	161	67	143
U _{ST}	0,266	0,130	0,158	0,169	0,060	0,049
U ₁	0,017	0,015	0,040	0,012		
U ₂		0,003				
U ₁₊₂	0,538	0,681	0,579	0,600	0,597	0,594
U ₂₊₁₃						
U ₁₊₂₊₃						
U ₁₊₂₊₄			0,013			
U ₁₊₂₊₆	0,023	0,021	0,013			
U ₁₊₂₊₇			0,013			
U ₁₊₂₊₈	0,156	0,150	0,184	0,219	0,343	0,357
<i>n</i>	173	339	76	160	67	143
E _{ST}	0,676	0,606	0,579	0,530	0,507	0,472
E ₈	0,023	0,014	0,026	0,031	0,045	0,007
E ₁₊₂	0,168	0,209	0,263	0,241	0,134	0,141
E ₁₊₂₊₉	0,075	0,065	0,092	0,086	0,090	0,120
E ₁₊₂₊₂₂						
E ₁₊₂₊₂₃						
E ₁₊₂₊₉₊₃	0,006	0,012		0,019	0,119	0,028
E ₁₊₂₊₉₊₄						0,028
E ₁₊₂₊₉₊₁₂	0,052	0,094	0,040	0,093	0,105	0,204
<i>n</i>	173	340	76	162	67	142
O _{ST}	0,611	0,362	0,408	0,330	0,402	0,290
O ₅						
O ₆	0,006	0,003		0,006		
O ₇						0,007
O ₁₁						
O ₁₅						
O ₃₊₄	0,151	0,315	0,171	0,273	0,313	0,296
O ₃₊₄₊₁		0,021	0,013	0,031	0,075	0,063
O ₃₊₄₊₂	0,023	0,021		0,031	0,015	0,014
O ₃₊₄₊₆						
O ₃₊₄₊₇		0,009	0,026	0,006	0,090	0,070
O ₃₊₄₊₈	0,209	0,242	0,369	0,317	0,075	0,197
O ₃₊₄₊₁₀						
O ₃₊₄₊₁₂			0,013		0,015	
O ₃₊₄₊₁₃						
O ₃₊₄₊₁₇						0,021
O ₃₊₄₊₂₂		0,015			0,015	0,035
O ₃₊₄₊₂₃						
O ₃₊₄₊₁₂₊₁₃						
O ₃₊₄₊₂₃₊₂		0,012		0,006		0,007
O ₃₊₄₊₂₃₊₆						
<i>n</i>	172	339	76	161	67	142

Taula 4 (continuació). Polimorfisme cromosòmic de les 7 poblacions mediterrànies estudiades.

	Riba-roja		Calvià		Punta Umbria		Málaga	
	Antiga	Nova	Antiga	Nova	Antiga	Nova	Antiga	Nova
A _{ST}	0,509	0,292	0,272	0,236	0,366	0,238	0,286	0,240
A ₁	0,036	0,004	0,037	0,036			0,065	
A ₂	0,455	0,704	0,691	0,728	0,634	0,635	0,649	0,760
A ₂₊₆						0,079		
A ₂₊₃₊₅₊₇						0,048		
<i>n</i>	55	247	81	280	71	63	77	104
J _{ST}	0,196	0,223	0,199	0,174	0,281	0,244	0,222	0,247
J ₁	0,804	0,777	0,765	0,723	0,719	0,756	0,778	0,753
J ₃₊₄			0,036	0,103				
<i>n</i>	112	251	141	281	146	123	135	150
U _{ST}	0,027	0,028	0,007	0,018		0,008	0,007	0,007
U ₁		0,004					0,015	
U ₂				0,057				
U ₁₊₂	0,527	0,470	0,364	0,420	0,444	0,451	0,474	0,456
U ₂₊₁₃				0,032				
U ₁₊₂₊₃								
U ₁₊₂₊₄								
U ₁₊₂₊₆	0,009					0,008		
U ₁₊₂₊₇								
U ₁₊₂₊₈	0,437	0,498	0,629	0,473	0,556	0,533	0,504	0,537
<i>n</i>	112	249	143	281	144	122	135	147
E _{ST}	0,375	0,267	0,234	0,085	0,194	0,295	0,274	0,137
E ₈	0,027	0,040	0,007	0,007	0,035	0,025	0,074	0,007
E ₁₊₂	0,205	0,137	0,192	0,164	0,174	0,164	0,126	0,144
E ₁₊₂₊₉	0,125	0,125	0,043	0,075	0,097	0,107	0,133	0,192
E ₁₊₂₊₂₂				0,014				
E ₁₊₂₊₂₃								
E ₁₊₂₊₉₊₃	0,054	0,044	0,007	0,021	0,097	0,082	0,170	0,103
E ₁₊₂₊₉₊₄		0,048	0,368	0,549		0,016		0,048
E ₁₊₂₊₉₊₁₂	0,214	0,339	0,149	0,085	0,403	0,311	0,223	0,369
<i>n</i>	112	248	141	281	144	122	135	146
O _{ST}	0,143	0,148	0,199	0,057	0,048	0,066	0,067	0,080
O ₅								
O ₆								
O ₇	0,045	0,028		0,004	0,021		0,022	0,020
O ₁₁								0,007
O ₁₅								
O ₃₊₄	0,250	0,244	0,404	0,189	0,116	0,262	0,067	0,340
O ₃₊₄₊₁	0,054	0,068	0,007	0,053	0,007	0,033		0,053
O ₃₊₄₊₂	0,062	0,032	0,074	0,018		0,008	0,015	0,020
O ₃₊₄₊₆								
O ₃₊₄₊₇	0,383	0,348	0,066	0,046	0,732	0,459	0,799	0,380
O ₃₊₄₊₈	0,027	0,080	0,228	0,401	0,062	0,148	0,030	0,067
O ₃₊₄₊₁₀								
O ₃₊₄₊₁₂								
O ₃₊₄₊₁₃								
O ₃₊₄₊₁₇		0,020		0,025				0,007
O ₃₊₄₊₂₂	0,036	0,020	0,022	0,018	0,014	0,016		0,013
O ₃₊₄₊₂₃								
O ₃₊₄₊₁₂₊₁₃								
O ₃₊₄₊₂₃₊₂		0,012				0,008		0,013
O ₃₊₄₊₂₃₊₆				0,189				
<i>n</i>	112	250	136	281	146	122	135	150

Taula 5. Polimorfisme cromosòmic de les 3 poblacions atlàntiques estudiades.

	Groningen		Louvain-la-Neuve		Villars	
	Antiga	Nova	Antiga	Nova	Antiga	Nova
A _{ST}	0,800	0,684	0,948	0,694	0,744	0,643
A ₁	0,160	0,177	0,039	0,204	0,104	0,119
A ₂	0,040	0,139	0,013	0,102	0,152	0,238
A ₂₊₆						
A ₂₊₃₊₅₊₇						
<i>n</i>	75	79	77	108	164	168
J _{ST}	0,705	0,557	0,597	0,613	0,535	0,488
J ₁	0,295	0,443	0,403	0,387	0,465	0,512
J ₃₊₄						
<i>n</i>	149	106	77	111	185	168
U _{ST}	0,751	0,461	0,493	0,318	0,387	0,168
U ₁	0,034	0,029	0,051	0,018	0,017	0,012
U ₂		0,010				
U ₁₊₂	0,168	0,423	0,329	0,609	0,460	0,652
U ₂₊₁₃						
U ₁₊₂₊₃					0,006	
U ₁₊₂₊₄						
U ₁₊₂₊₆					0,006	0,030
U ₁₊₂₊₇						
U ₁₊₂₊₈	0,047	0,077	0,127	0,055	0,124	0,138
<i>n</i>	149	104	79	110	178	167
E _{ST}	0,953	0,799	0,856	0,687	0,718	0,622
E ₈	0,007				0,017	0,006
E ₁₊₂	0,007	0,174	0,105	0,205	0,193	0,260
E ₁₊₂₊₉		0,018	0,039	0,036	0,044	0,053
E ₁₊₂₊₂₂						
E ₁₊₂₊₂₃				0,009		
E ₁₊₂₊₉₊₃	0,020				0,006	
E ₁₊₂₊₉₊₄						
E ₁₊₂₊₉₊₁₂	0,013	0,009		0,063	0,022	0,059
<i>n</i>	149	109	76	112	181	169
O _{ST}	0,859	0,502	0,704	0,397	0,476	0,389
O ₅	0,034			0,009		
O ₆	0,013	0,019		0,018		
O ₇						
O ₁₁		0,009				
O ₁₅	0,007					
O ₃₊₄	0,040	0,179	0,123	0,198	0,166	0,228
O ₃₊₄₊₁		0,009		0,009	0,005	0,006
O ₃₊₄₊₂				0,009		0,012
O ₃₊₄₊₆	0,034					
O ₃₊₄₊₇					0,016	0,006
O ₃₊₄₊₈		0,226	0,136	0,342	0,337	0,353
O ₃₊₄₊₁₀						
O ₃₊₄₊₁₂	0,013	0,038	0,012	0,009		
O ₃₊₄₊₁₃						0,006
O ₃₊₄₊₁₇						
O ₃₊₄₊₂₂		0,009	0,025	0,009		
O ₃₊₄₊₂₃						
O ₃₊₄₊₁₂₊₁₃		0,009				
O ₃₊₄₊₂₃₊₂						
O ₃₊₄₊₂₃₊₆						
<i>n</i>	149	106	81	111	187	167

Taula 6. Polimorfisme cromosòmic de les 3 poblacions centreeuropees estudiades.

	Tübingen		Wien		Leuk	
	Antiga	Nova	Antiga	Nova	Antiga	Nova
A _{ST}	0,540	0,602	0,551	0,556	0,602	0,634
A ₁	0,389	0,312	0,406	0,354	0,223	0,171
A ₂	0,071	0,086	0,043	0,090	0,175	0,195
A ₂₊₆						
A ₂₊₃₊₅₊₇						
<i>n</i>	113	93	69	189	229	123
J _{ST}	0,593	0,574	0,536	0,532	0,468	0,413
J ₁	0,407	0,426	0,464	0,468	0,532	0,587
J ₃₊₄						
<i>n</i>	164	94	138	190	250	126
U _{ST}	0,679	0,468	0,630	0,527	0,340	0,333
U ₁	0,009	0,011	0,044	0,038	0,040	0,024
U ₂						
U ₁₊₂	0,243	0,478	0,145	0,274	0,436	0,578
U ₂₊₁₃						
U ₁₊₂₊₃					0,048	
U ₁₊₂₊₄						
U ₁₊₂₊₆	0,014	0,011	0,152	0,129	0,012	0,008
U ₁₊₂₊₇			0,022			
U ₁₊₂₊₈	0,055	0,032	0,007	0,032	0,124	0,057
<i>n</i>	176	94	138	186	250	123
E _{ST}	0,949	0,893	0,833	0,773	0,780	0,809
E ₈	0,005	0,011	0,065	0,116	0,028	
E ₁₊₂	0,009	0,043	0,029	0,042	0,124	0,111
E ₁₊₂₊₉	0,032	0,021	0,073	0,058	0,056	0,048
E ₁₊₂₊₂₂						
E ₁₊₂₊₂₃						
E ₁₊₂₊₉₊₃					0,004	0,008
E ₁₊₂₊₉₊₄						
E ₁₊₂₊₉₊₁₂	0,005	0,032		0,011	0,008	0,024
<i>n</i>	174	94	138	190	250	126
O _{ST}	0,828	0,606	0,797	0,625	0,660	0,595
O ₅			0,022		0,004	
O ₆	0,018	0,011	0,072	0,042	0,004	0,024
O ₇					0,004	
O ₁₁						
O ₁₅				0,005		
O ₃₊₄	0,071	0,160	0,080	0,196	0,152	0,190
O ₃₊₄₊₁	0,013		0,007	0,016	0,004	0,008
O ₃₊₄₊₂				0,011	0,004	
O ₃₊₄₊₆						
O ₃₊₄₊₇						
O ₃₊₄₊₈	0,066	0,191	0,022	0,074	0,168	0,175
O ₃₊₄₊₁₀				0,005		
O ₃₊₄₊₁₂	0,004					
O ₃₊₄₊₁₃		0,011				
O ₃₊₄₊₁₇						
O ₃₊₄₊₂₂				0,026		
O ₃₊₄₊₂₃						0,008
O ₃₊₄₊₁₂₊₁₃						
O ₃₊₄₊₂₃₊₂		0,021				
O ₃₊₄₊₂₃₊₆						
<i>n</i>	180	94	138	189	250	126

- O_{3+4+23} a la mostra nova de Leuk
- $O_{3+4+12+13}$ a la mostra nova de Groningen
- $O_{3+4+23+6}$ a la mostra nova de Calvià.

Hi ha ordenaments que tot i trobar-se en més d'una població es detecten només en les mostres noves o bé en les antigues. Aquest és el cas de les ordenacions U_{1+2+3} i U_{1+2+7} presents només en mostres antigues, i U_2 , O_{11} , O_{3+4+13} , O_{3+4+17} i $O_{3+4+23+2}$ presents només en mostres noves.

2.1 Descripció de les noves inversions

Es van trobar tres inversions que no havien estat descrites amb anterioritat: U_{13} i E_{22} a la població de Calvià i E_{23} a la població de Louvain-la-Neuve.

Un dels punts de trencament de la inversió U_{13} està situat entre els segments 37E i 38A, i l'altre entre els segments 40D i 41A; aquest últim coincideix amb un dels punts de trencament de la inversió U_5 . S'ha detectat en 9 dels individus analitzats de la població de Calvià. Sempre s'ha trobat associada amb la inversió U_2 formant l'ordenament U_{2+13} , tot i que ambdues inversions no estan imbricades (Figura 26).

La inversió E_{22} , trobada en 4 individus de la població de Calvià, està imbricada amb l'ordenament E_{1+2} formant l'ordenament E_{1+2+22} . Un dels dos punts de trencament d'aquesta nova inversió és nou i es localitza entre els segments 60D i 61A, mentre que l'altre, localitzat entre els segments 68B i 68C, coincideix amb un dels de la inversió E_9 (Figura 27).

En un individu de la població de Louvain-la-Neuve es va trobar una nova inversió, l' E_{23} . Aquesta nova inversió està imbricada amb l'ordenament E_{1+2} formant l'ordenament E_{1+2+23} . Els seus punts de trencament són 60D/61A i 67C/D. El punt 60D/61A coincideix amb un dels de la nova inversió E_{22} trobada a Calvià. L'altre punt de trencament coincideix amb un dels de la inversió E_{20} (Figura 28).

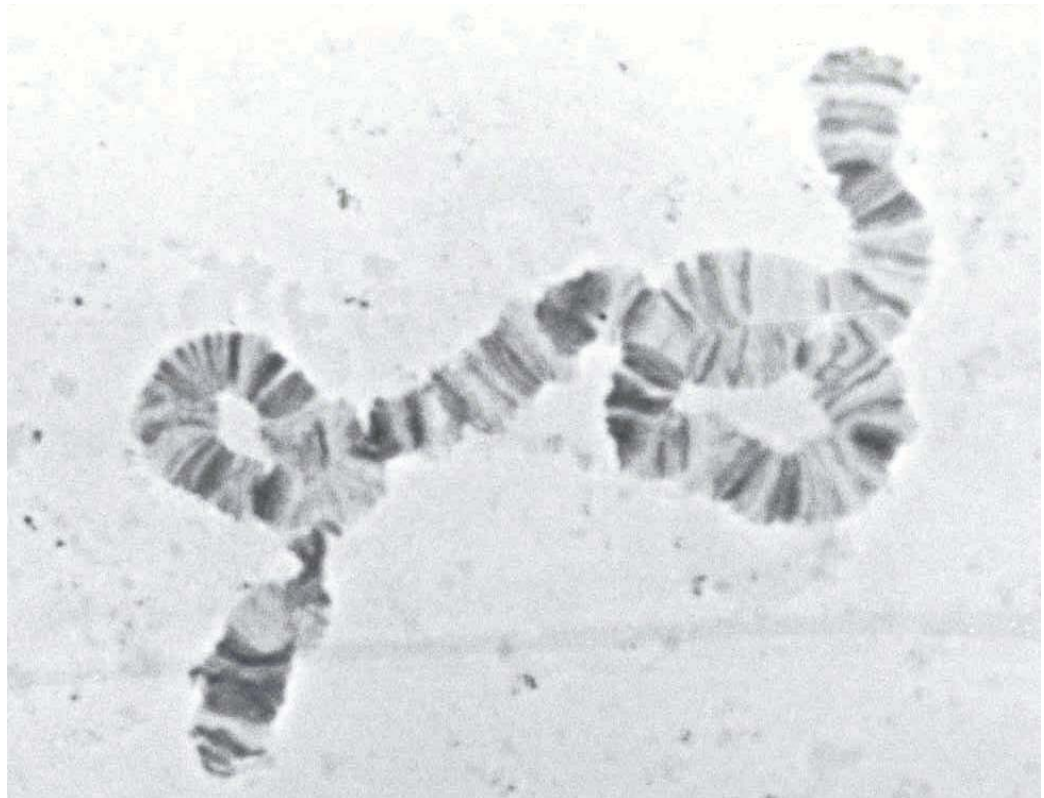
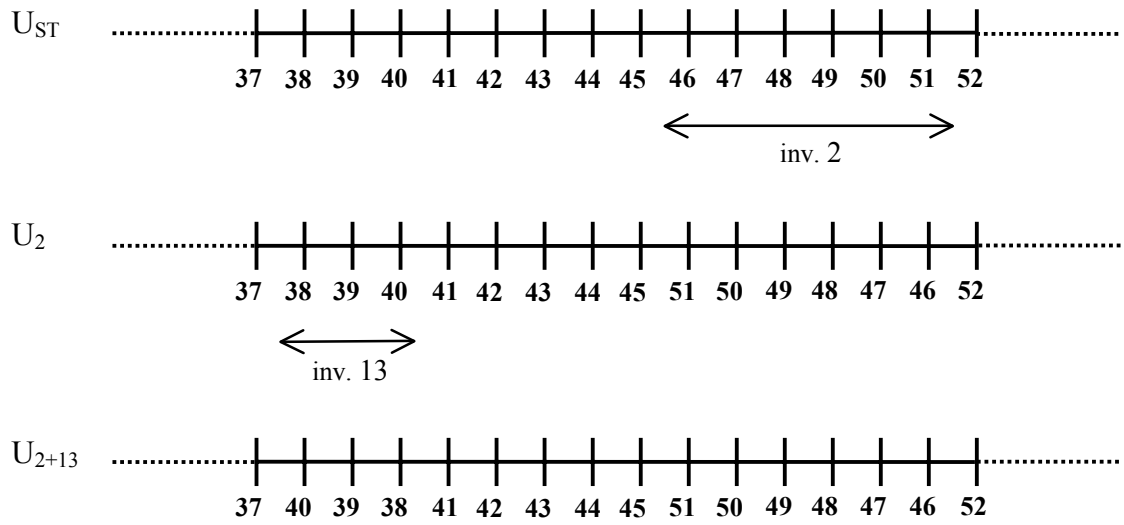


Figura 26. Esquema i fotografia de l'ordenament U_{2+13} observat en nou individus de la mostra nova de Calvià. Ordenament constituït per dues inversions no imbricades, la inversió U_2 i la nova inversió U_{13} .

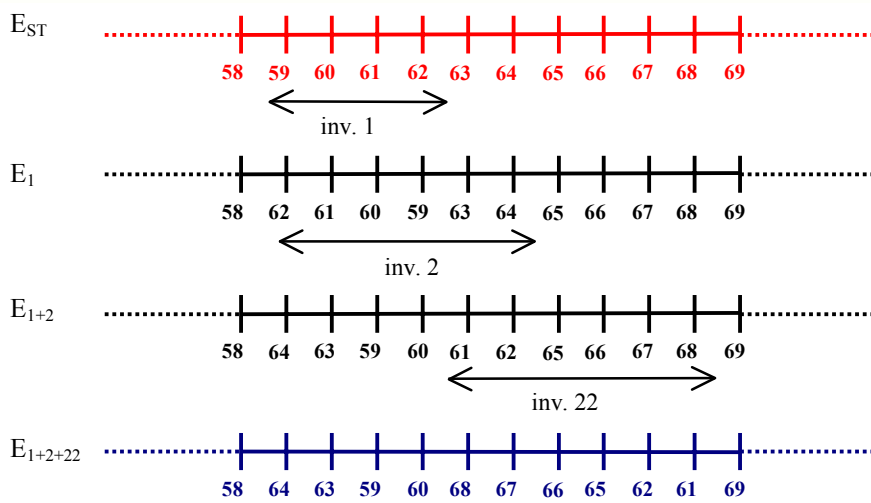
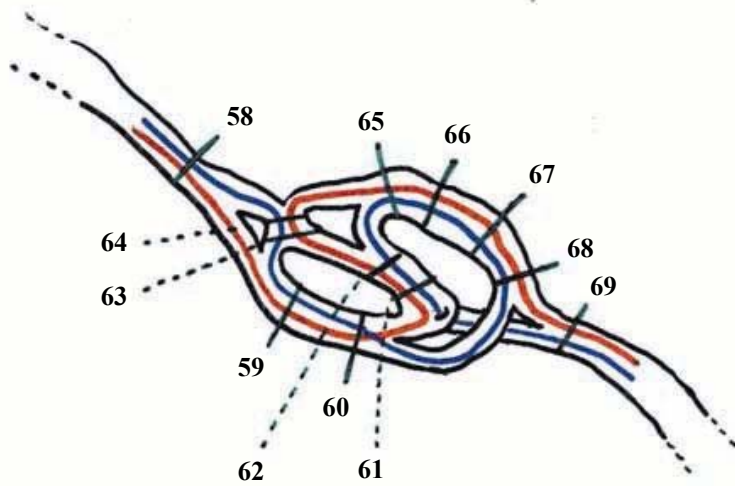


Figura 27. Fotografia, dibuix i esquema de l'ordenament E_{1+2+22} observat en quatre individus de la mostra nova de Calvià. Ordenament format per la nova inversió E_{22} imbricada amb l'ordenament E_{1+2} .

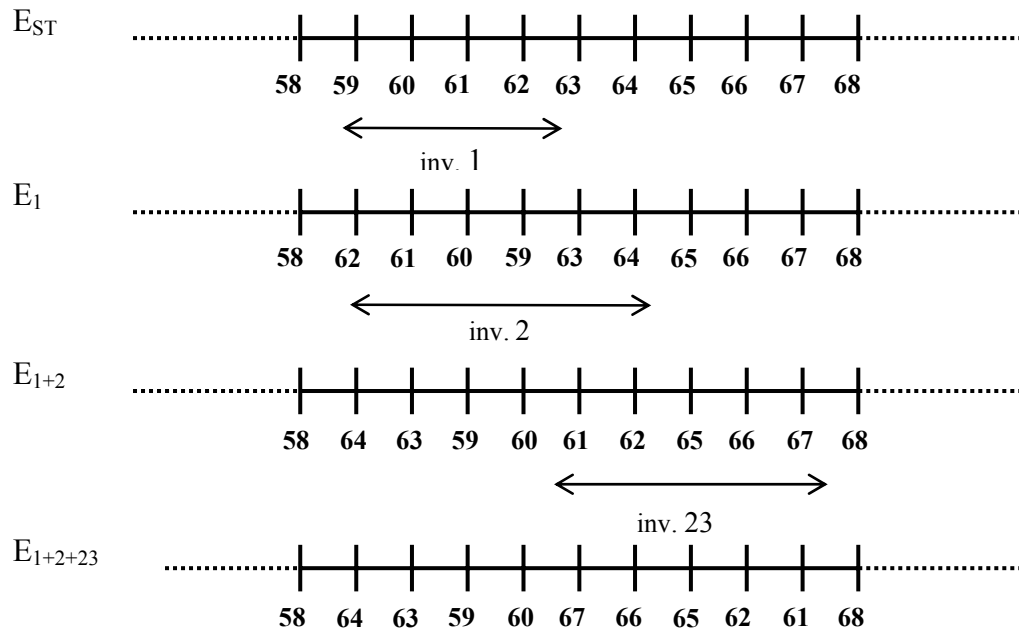


Figura 28. Esquema i fotografia de l'ordenament E_{1+2+23} observat en un individu de la mostra nova de Louvain-la-Neuve. Aquest ordenament està format per la nova inversió E_{23} imbricada amb l'ordenament E_{1+2} .

2.2 Comparació del polimorfisme obtingut a partir dels mascles del camp amb l'obtingut a partir dels mascles descendents de femelles del camp

En les poblacions de Calvià, Riba-roja i Montpellier, el nombre d'individus capturats va permetre d'analitzar un nombre suficient de mascles del camp i de mascles descendents de les femelles del camp per comprovar si hi havia o no diferències en el polimorfisme obtingut a partir d'aquests dos grups. A la taula 7 es mostra el resultat de la prova *G* d'heterogeneïtat de les freqüències dels ordenaments per a cada cromosoma per les tres poblacions al comparar el polimorfisme obtingut a partir dels mascles del camp o a partir dels descendents les femelles. Es va aplicar la correcció seqüencial de Bonferroni per tal d'eliminar les significacions que es podrien obtenir per atzar al realitzar moltes proves simultàniament. Per tots els cromosomes i poblacions la prova no és significativa, amb l'excepció del cromosoma A a la població de Montpellier que presenta un valor significatiu al nivell del 5%.

Taula 7. Prova *G* d'heterogeneïtat de les freqüències cromosòmiques obtingudes a partir dels mascles del camp i dels mascles descendents de femelles. S'ha aplicat la correcció seqüencial de Bonferroni. g.l.: graus de llibertat. * = $0,01 < P \leq 0,05$.

	Cromosoma A		Cromosoma J		Cromosoma U		Cromosoma E		Cromosoma O	
	<i>G</i>	g.l.	<i>G</i>	g.l.	<i>G</i>	g.l.	<i>G</i>	g.l.	<i>G</i>	g.l.
Montpellier	11,897*	2	1,818	1	1,371	3	5,324	4	5,756	3
Riba-roja	0,487	1	0,562	1	3,934	2	2,594	5	3,335	5
Calvià	8,444	1	8,788	2	0,742	3	8,706	5	6,631	6

2.3 Heterogeneïtat entre poblacions i mostres

En la taula 8 s'indiquen els valors de la prova *G* d'heterogeneïtat de les freqüències dels ordenaments, tant en el temps (comparació de les mostres noves amb les antigues per a cada població i cada cromosoma) com en l'espai (mostres antigues i noves, per a cada cromosoma). Els ordenaments menys freqüents han estat agrupats fins aconseguir que el nombre de caselles amb valors esperats inferiors a 5

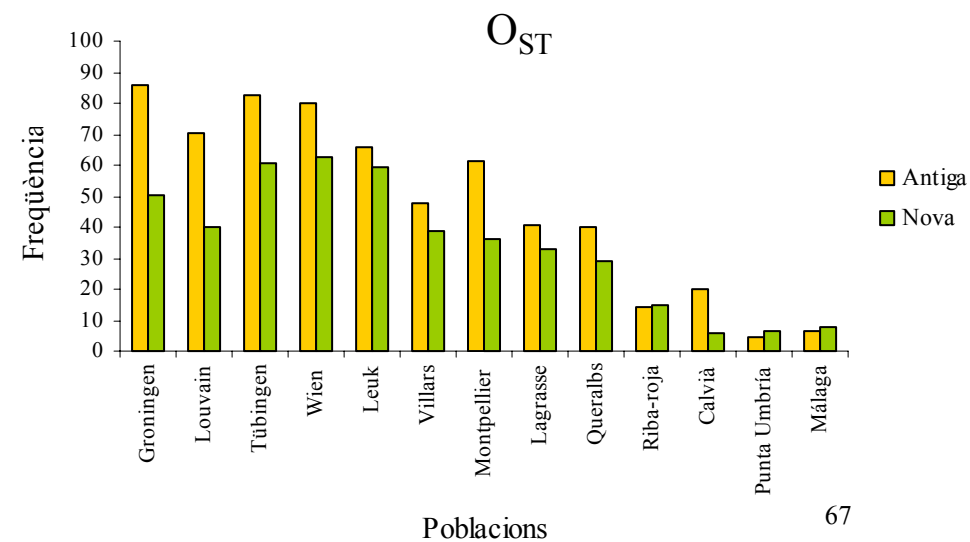
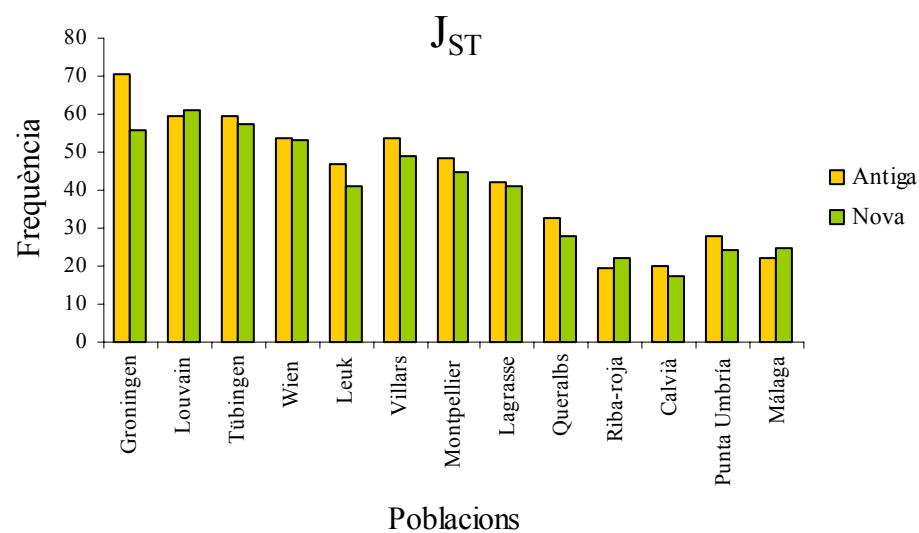
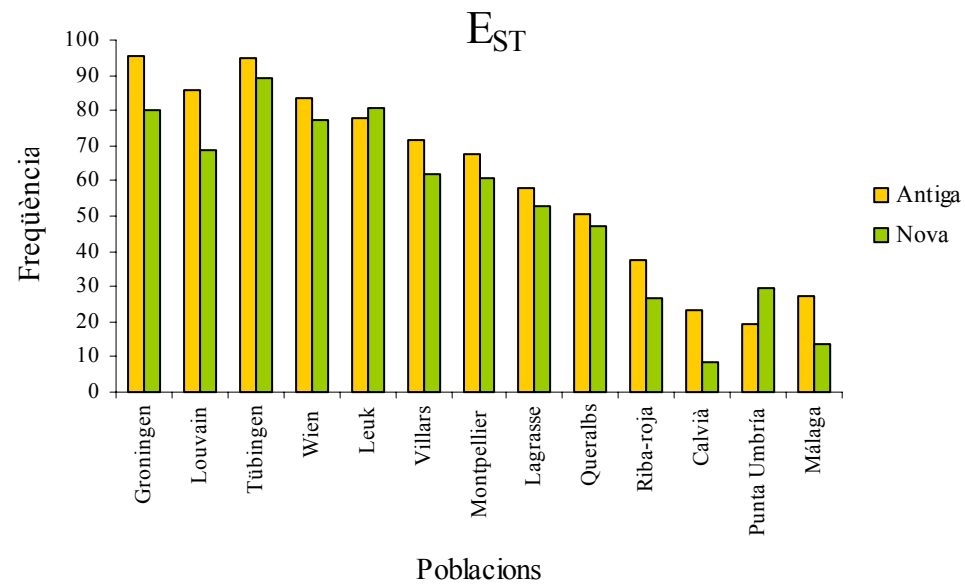
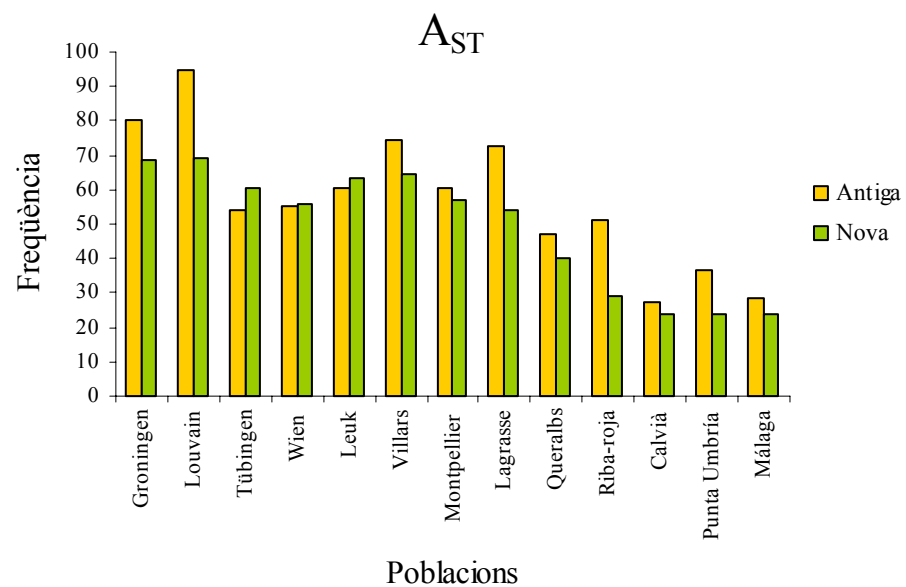


Figura 29. Freqüències dels ordenaments A_{ST}, J_{ST}, E_{ST} i O_{ST} en les mostres noves i antigues de les 13 poblacions analitzades.

no superés el 20% de caselles de la taula. Ja que s'han fet múltiples proves s'ha aplicat el mètode de correcció seqüencial de Bonferroni. Per cada un del cromosomes hi ha alguns valors significatius excepte pel cromosoma J. Els cromosomes que presenten més valors significatius en el temps són els cromosomes U i O. Les poblacions de Lagrasse, Queralbs i Leuk no presenten diferències significatives entre les mostres nova i antiga per cap cromosoma. Per altra banda, Calvià, Groningen i Louvain-la-Neuve presenten diferències significatives en el temps per tres cromosomes. També es pot observar que tant les mostres antigues com les noves presenten una diferenciació en l'espai molt significativa (observar les dues últimes files de la taula).

Taula 8. Prova G d'heterogeneïtat per les freqüències del diversos ordenaments de cada cromosoma entre les mostres noves i antigues de les poblacions analitzades, i també entre totes les mostres antigues i entre les mostres noves. S'ha aplicat la correcció seqüencial de Bonferroni. g.l.: graus de llibertat. * = $P \leq 0,05$; ** = $P \leq 0,01$; *** = $P \leq 0,001$.

Poblacions	Cromosoma A		Cromosoma J		Cromosoma U		Cromosoma E		Cromosoma O	
	G	g.l.	G	g.l.	G	g.l.	G	g.l.	G	g.l.
<u>Mediterrànies</u>										
Montpellier	8,665	2	0,633	1	15,291	4	4,856	4	39,097***	4
Lagrasse	10,930	2	0,026	1	6,533	3	3,221	4	4,274	3
Queralbs	0,806	2	0,513	1	0,122	2	9,524	5	8,143	5
Riba-roja	11,938*	1	0,331	1	1,135	2	18,831	6	7,288	7
Calvià	0,449	2	6,690	2	24,537**	3	28,846**	5	98,353***	7
Punta Umbria	0,000	1	0,470	1	0,138	1	4,642	5	22,154**	4
Málaga	2,610	1	0,236	1	0,321	1	34,232***	6	60,411***	4
<u>Atlàntiques</u>										
Groningen	5,226	2	5,890	1	23,762**	3	27,918***	2	66,130***	3
Louvain-la-Neuve	20,870**	2	0,044	1	15,478*	2	7,433	2	18,969*	3
Villars	4,541	2	0,780	1	21,723**	3	3,815	3	3,578	2
<u>Centreeuropees</u>										
Tübingen	1,373	2	0,071	1	15,253*	2	2,639	1	16,875*	3
Wien	3,147	2	0,007	1	8,199	4	5,443	4	19,294*	4
Leuk	1,399	2	1,039	1	14,707	4	0,480	3	2,465	3
Mostres antigues	444,738***	24	182,103***	12	1013,673***	36	907,154***	60	1444,792***	48
Mostres noves	662,644***	24	155,030***	12	894,892***	36	1325,606***	60	1229,987***	72

En la figura 29 es poden observar els diagrames de barres de les freqüències dels ordenaments estàndard en totes les poblacions analitzades. No s'ha inclòs l' U_{ST} , ja que en les poblacions situades al sud dels Pirineus aquest ordenament és present en molt baixa freqüència. En general s'observa una disminució de la freqüència dels ordenaments estàndard en la majoria de poblacions. L'ordenament O_{ST} és el que

presenta diferències més grans de freqüència en les poblacions atlàntiques i centreeuropees. Com que les poblacions s'han representat ordenades de major a menor latitud, en la figura queda palesa la distribució clinal de les ordenacions estàndard.

2.4 Distàncies genètiques entre poblacions

A la taula 9 es presenten les matrius de les distàncies de Prevosti entre les mostres antigues (A) i entre les noves (B). En general es pot observar que el valor de les distàncies entre les mostres noves és menor que en les antigues. Per saber si hi havia associació entre les dues matrius de distància s'ha utilitzat la prova de Mantel i s'ha obtingut un valor del coeficient de correlació de $r = 0,955$ ($P < 0,001$). Això indica que a valors grans de distàncies entre poblacions antigues corresponen també valors grans de distàncies entre les noves, i recíprocament. La figura 30 mostra el diagrama de dispersió corresponent. Per confirmar si hi ha una tendència de les distàncies a disminuir, és a dir, si les distàncies entre les poblacions noves són en general més petites que les distàncies corresponents entre les poblacions antigues,

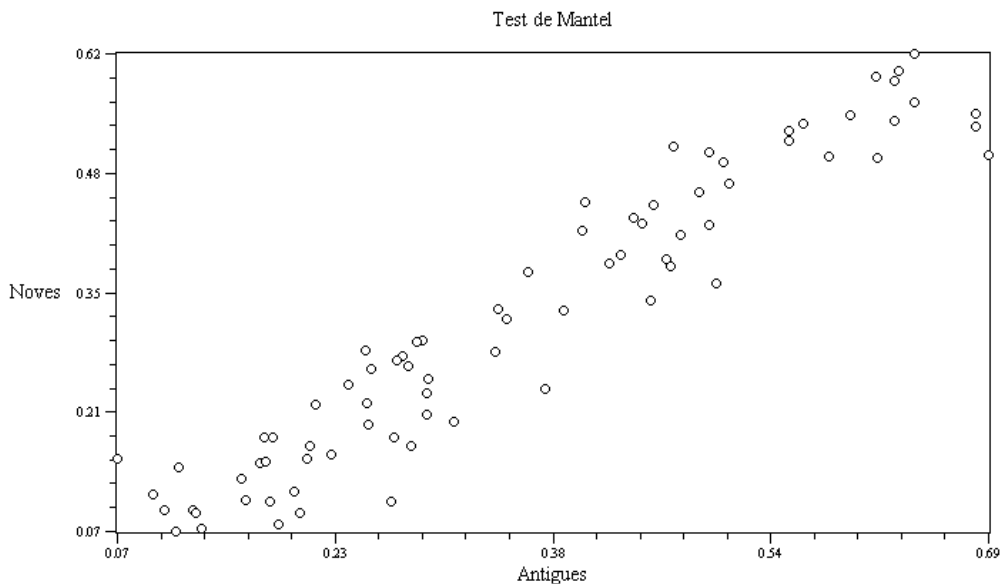


Figura 30. Diagrama de dispersió obtingut al representar gràficament els parells d'elements corresponents de les dues matrius A i B de la taula 9.

Taula 9. Matrius de distàncies de Prevosti. En la matriu A s'inclouen les distàncies genètiques entre les mostres antigues, i a la matriu B les distàncies entre les mostres noves.

	Calvià	Queralbs	Lagrasse	Riba-roja	P. Umbría	Málaga	Montpellier	Groningen	Louvain	Leuk	Tübingen	Wien
Queralbs	0,2886											
Lagrasse	0,4226	0,2232										
Riba-roja	0,2516	0,1811	0,3428									
P. Umbría	0,2742	0,2917	0,4520	0,2011								
Málaga	0,2787	0,2921	0,4641	0,1859	0,1043							
Montpellier	0,4404	0,2497	0,1300	0,3648	0,4671	0,4736						
Groningen	0,6858	0,4990	0,3771	0,6152	0,6947	0,6854	0,3113					
Louvain	0,5512	0,3898	0,2686	0,5045	0,5806	0,5956	0,2063	0,1790				
Leuk	0,4691	0,2849	0,1750	0,4057	0,4876	0,4946	0,0701	0,2664	0,1595			
Tübingen	0,6142	0,4309	0,3411	0,5517	0,6268	0,6271	0,2358	0,1243	0,1721	0,1968		
Wien	0,6413	0,4463	0,3494	0,5616	0,6413	0,6299	0,2479	0,1765	0,2124	0,2081	0,0955	
Villars	0,4541	0,2931	0,1267	0,4032	0,4939	0,5083	0,1117	0,2803	0,1622	0,1140	0,2485	0,2700

A

	Calvià	Queralbs	Lagrasse	Riba-roja	P. Umbría	Málaga	Montpellier	Groningen	Louvain	Leuk	Tübingen	Wien
Queralbs	0,2939											
Lagrasse	0,3819	0,1633										
Riba-roja	0,2608	0,1827	0,3293									
P. Umbría	0,2761	0,2091	0,3392	0,0962								
Málaga	0,2640	0,2332	0,3854	0,0834	0,0996							
Montpellier	0,4328	0,1971	0,0774	0,3720	0,3777	0,4146						
Groningen	0,5378	0,3585	0,2378	0,5019	0,5059	0,5527	0,2007					
Louvain	0,5221	0,3279	0,1816	0,4962	0,5041	0,5511	0,1584	0,1086				
Leuk	0,5146	0,2918	0,1817	0,4514	0,4629	0,5077	0,1585	0,1089	0,1359			
Tübingen	0,5954	0,3912	0,2809	0,5328	0,5450	0,5896	0,2435	0,0991	0,1531	0,1206		
Wien	0,6209	0,4268	0,3172	0,5406	0,5661	0,6009	0,2815	0,1542	0,2204	0,1730	0,1170	
Villars	0,4477	0,2498	0,0962	0,4181	0,4250	0,4731	0,0748	0,1727	0,1102	0,1482	0,2221	0,2708

B

s'han aplicat les proves dels signes i de Wilcoxon per comprovar si el nombre de diferències negatives (distància entre dues mostres noves menys la distància entre les dues mostres antigues corresponents) és significativament superior al nombre de diferències positives. S'han obtingut 61 signes negatius i 17 signes positius, amb un valor de $Z = -5,925$ (segons la prova de Wilcoxon; $P < 0,001$) i de $Z = -4,869$ (segons la prova dels signes; $P < 0,001$).

Amb els valors de la distància de Prevosti es van construir els arbres corresponents utilitzant el mètode de *Neighbor-joining*. Els resultats corresponents es mostren a la figura 31. Es pot observar que en l'arbre corresponent a les mostres antigues s'identifiquen tres grups: el de les poblacions mediterrànies, la població de Villars i per últim el de la resta de poblacions atlàntiques i centreeuropees. Per altra banda, l'arbre de les mostres noves també conté tres grups, però en aquest cas dues poblacions atlàntiques (Villars i Louvain-la-Neuve) i una de centreeuropea (Leuk) s'han agrupat amb les poblacions mediterrànies. Els altres dos grups estan constituïts per la població de Groningen per una banda, i les de Tübingen i Wien per l'altra.

Així doncs, amb la prova d'heterogeneïtat s'ha comprovat que hi ha diferències entre les mostres noves i antigues per alguns cromosomes i en algunes poblacions, i amb l'anàlisi de les diferències entre les distàncies de Prevosti s'ha pogut comprovar que les diferències entre poblacions han tendit a fer-se menors al llarg del temps.

2.5 Variació en l'espai de les freqüències cromosòmiques

Per saber si els ordenaments es distribuïen segons una clina latitudinal es van calcular els coeficients de regressió de les freqüències normalitzades ($\arcsin \sqrt{p}$) d'alguns ordenaments *versus* la latitud. Només s'han considerat aquells ordenaments que eren presents en almenys 4 mostres. En la taula 10 es poden veure els valors dels coeficients de regressió tant per a les mostres noves com per a les mostres antigues. En general s'observa que els ordenaments que presenten valors significatius en les mostres antigues també els presenten en les mostres noves, i que en aquestes últimes hi ha més valors significatius al nivell de l'1%. També s'observa que, en la majoria dels casos, els signes dels coeficients de regressió en les mostres antigues i noves

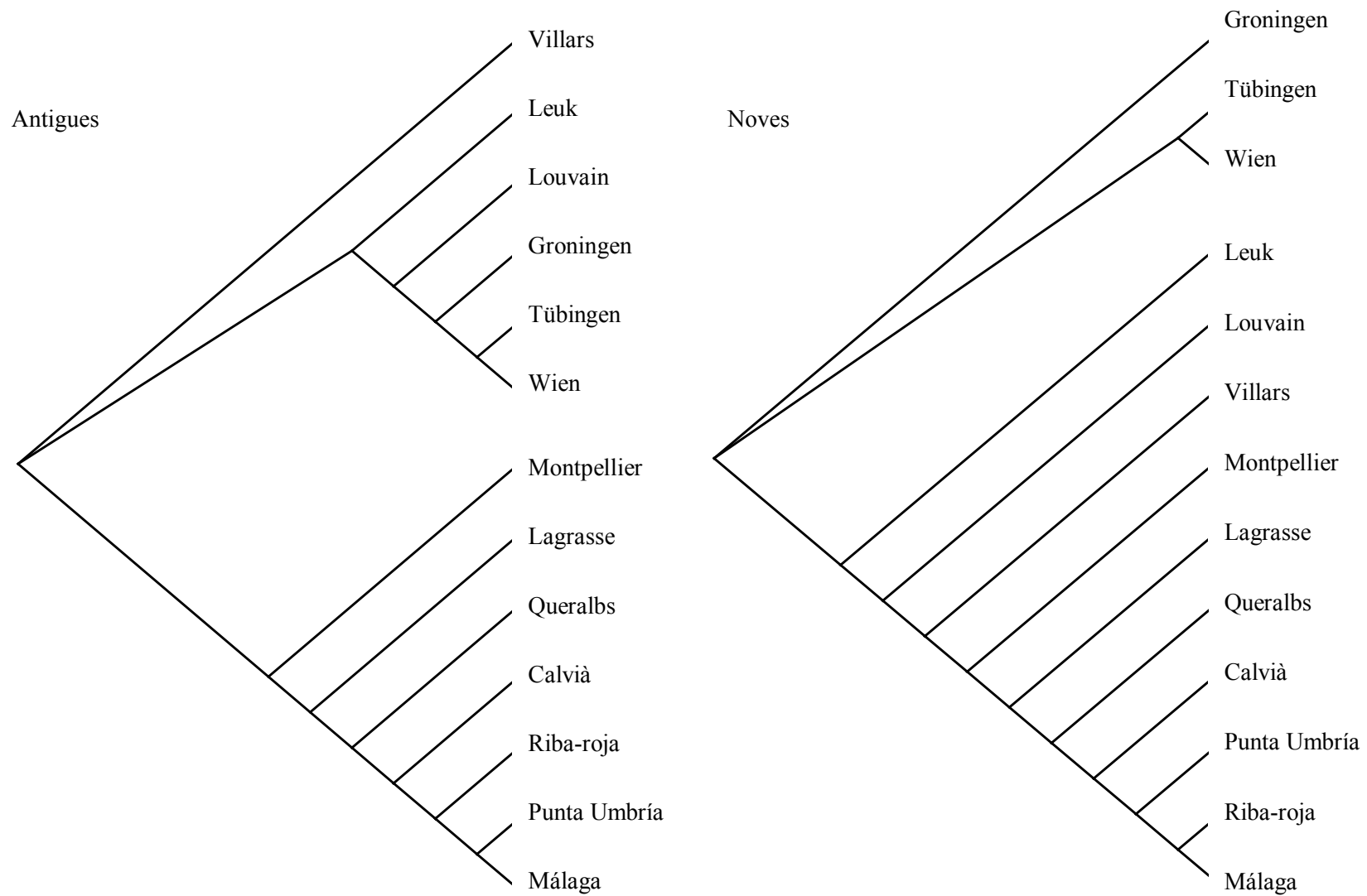


Figura 31. Arbres realitzats pel mètode de *Neighbor-joining* utilitzant les distàncies de Prevosti. A l'esquerra l'arbre obtingut amb les mostres antigues, i a la dreta amb les mostres noves.

coincideixen, amb l'excepció dels ordenaments U_{1+2} i O_{3+4+8} . Els ordenaments O_{3+4} i O_{3+4+1} no presenten un coeficient de regressió significatiu respecte la latitud en les mostres antigues, però sí en les mostres noves. Contràriament els ordenaments U_{1+2} i E_{1+2} presenten un coeficient de regressió respecte la latitud significatiu en les mostres antigues, però no en les noves.

Taula 10. Coeficients de regressió de les freqüències normalitzades ($\arcsin\sqrt{p}$) dels ordenaments cromosòmics *versus* la latitud. * = $P \leq 0,05$; ** = $P \leq 0,01$; *** = $P \leq 0,001$.

	<u>Mostres antigues</u>	<u>Mostres noves</u>		<u>Mostres antigues</u>	<u>Mostres noves</u>
A_{ST}	1,950**	1,888***	E_{1+2+9}	-0,852**	-0,895***
A_1	1,284*	2,009***	$E_{1+2+9+3}$	-1,110*	-1,164***
A_2	-3,129***	-2,979***	$E_{1+2+9+4}$		-1,394
			$E_{1+2+9+12}$	-2,116***	-1,861***
J_{ST}	1,851***	1,607***	O_{ST}	3,518***	2,298***
J_1	-1,815***	-1,504***	O_6	0,504*	0,651***
U_{ST}	3,885***	2,750***	O_7	-0,534*	-0,409*
U_1	0,691**	0,656***	O_{3+4}	-0,713	-0,496*
U_{1+2}	-1,182**	0,022	O_{3+4+1}	-0,305	-0,681**
U_{1+2+6}	0,316	0,292	O_{3+4+2}	-0,636*	-0,446*
U_{1+2+8}	-2,578***	-2,595***	O_{3+4+7}	-3,660***	-2,634***
			O_{3+4+8}	-0,317	0,413
E_{ST}	3,269***	2,876***	O_{3+4+12}	0,312	
E_8	-0,462	-0,274	O_{3+4+17}		-0,411*
E_{1+2}	-1,107**	-0,178	O_{3+4+22}	-0,287	-0,237
			$O_{3+4+23+2}$		-0,303

2.6 Variació en el temps de les freqüències cromosòmiques

Un cop analitzat el model de distribució en l'espai de diversos ordenaments (clines latitudinals), es va procedir a estudiar el seu comportament al llarg del temps dintre de cada població; específicament, es volia esbrinar si els canvis observats en les freqüències d'aquests ordenaments s'ajustaven al patró de variació que s'esperaria si el seu contingut genètic estigués responent al canvi climàtic global del planeta, és a dir, si els ordenaments típics de latituds càlides augmentaven en freqüència en totes les poblacions analitzades, i si disminuïa la freqüència d'aquells típics de latituds fredes. Per quantificar de manera objectiva aquesta observació s'han

utilitzat les proves no paramètriques dels signes i de Wilcoxon. Com els ordenaments estàndards són típics de latituds fredes, esperaríem que amb el temps la seva freqüència hagués disminuït en totes les poblacions. En la figura 29 es pot observar com en la majoria de poblacions hi ha hagut una disminució d'aquests ordenaments per tots els cromosomes.

Els ordenaments que presenten un coeficient de correlació significatiu de la seva freqüència amb la latitud segons Menozzi i Krimbas (1992) han estat classificats en dos grups: els que presenten una correlació positiva amb la latitud (A_{ST} , J_{ST} , U_{ST} , U_1 , E_{ST} , O_{ST} , O_6 , O_5 , O_{3+4+12} i O_{3+4+23}), és a dir, aquells que són típics de latituds fredes; i aquells que presenten una correlació negativa amb la latitud (A_2 , A_{2+6} , $A_{2+3+5+7}$, J_1 , U_{1+2} , U_{1+2+8} , $E_{1+2+9+3}$, $E_{1+2+9+4}$, $E_{1+2+9+12}$, O_{3+4} i O_{3+4+8}), és a dir, aquells típics de latituds càlides. En les taules 11, 12 i 13 s'indiquen, per a cada conjunt de poblacions (mediterrànies, atlàntiques i centreeuropees) i cada grup d'ordenaments, les diferències entre les freqüències dels ordenaments en les mostres noves i antigues, així com els resultats de les proves dels signes i de Wilcoxon amb la seva significació.

Considerant totes les poblacions, els ordenaments típics de latituds fredes presenten un total de 68 diferències negatives i 24 de positives (prova de signes: $Z = -5,654$, $P < 0,001$; prova de Wilcoxon $Z = -4,483$, $P < 0,001$). Per tant, considerant el conjunt de totes les poblacions, els ordenaments típics de latituds fredes tendeixen a tenir una freqüència més baixa en les mostres noves. Com que el nombre de poblacions dins del grup de les mediterrànies és molt superior al de les atlàntiques i al de les centreeuropees, podria donar-se el cas que els ordenaments presentessin una tendència molt significativa a disminuir la seva freqüència només en les mediterrànies i això ja fos suficient per fer significatiu el valor quan es consideren totes les poblacions en conjunt. Per tal de comprovar si aquesta tendència es donava per igual en tots els grups, s'ha repetit l'anàlisi dins de cada grup de poblacions. Si es considera cada conjunt de poblacions per separat, la prova dels signes i la de Wilcoxon són significatives almenys al nivell del 0,05 en tots els casos (Taules 11, 12 i 13). Per tant, la tendència a la disminució dels ordenaments típics de latituds fredes es dona en les tres àrees estudiades.

Taula 11. Diferències entre les freqüències dels diversos ordenaments de les poblacions mediterrànies entre les mostres noves i antigues, i resultat de les proves dels signes realitzades.

	Montpellier	Lagrasse	Queralbs	Riba-roja	Calvià	Punta Umbría	Málaga
A _{ST}	-0,0327	-0,1841	-0,0708	-0,2176	-0,0359	-0,1281	-0,0453
A ₂	0,1218	0,2459	0,0837	0,2499	0,0372	0,0011	0,1103
A ₂₊₆						0,0794	
A ₂₊₃₊₅₊₇						0,0476	
J _{ST}	-0,0371	-0,0111	-0,0486	0,0267	-0,0242	-0,0369	0,0244
J ₁	0,0371	0,0111	0,0486	-0,0267	-0,0435	0,0369	-0,0244
U _{ST}	-0,1361	0,0109	-0,0108	0,0013	0,0108	0,0082	-0,0006
U ₁	-0,0026	-0,0270		0,0040			-0,0148
U ₁₊₂	0,1438	0,0211	-0,0026	-0,0569	0,0563	0,0064	-0,0183
U ₁₊₂₊₈	-0,0056	0,0345	0,0134	0,0605	-0,1561	-0,0228	0,0337
E _{ST}	-0,0704	-0,0481	-0,0356	-0,1089	-0,1486	0,1006	-0,1371
E ₁₊₂₊₉₊₃	0,0060	0,0185	-0,0912	-0,0092	0,0143	-0,0153	-0,0676
E ₁₊₂₊₉₊₄			0,0282	0,0484	0,1792	0,0164	0,0479
E ₁₊₂₊₉₊₁₂	0,0421	0,0531	0,0997	0,1244	-0,0635	-0,0913	0,1476
O _{ST}	-0,2476	-0,0787	-0,1143	0,0051	-0,1416	0,0176	0,0133
O ₆	-0,0029	0,0062					
O ₃₊₄	0,1645	0,1022	-0,0177	-0,0060	-0,2158	0,1459	0,2733
O ₃₊₄₊₈	0,0326	-0,0517	0,1226	0,0532	0,1742	0,0859	0,0370
O ₃₊₄₊₁₂		-0,0132	-0,0149				

Grup 1 (correlació positiva amb la latitud)

Grup 2 (correlació negativa amb la latitud)

Ordenaments considerats: A_{ST}, J_{ST}, U_{ST}, U₁, E_{ST}, O_{ST}, O₆, O₅, O₃₊₄₊₁₂, O₃₊₄₊₂₃

Ordenaments considerats: A₂, A₂₊₆, A₂₊₃₊₅₊₇, J₁, U₁₊₂, U₁₊₂₊₈, E₁₊₂₊₉₊₃, E₁₊₂₊₉₊₄, E₁₊₂₊₉₊₁₂, O₃₊₄, O₃₊₄₊₈

Diferències: 12 positives, 31 negatives.

Diferències: 44 positives, 19 negatives.

Prova dels signes: $Z = -2,745^{**}$

Prova dels signes: $Z = -3,024^{**}$

Prova de Wilcoxon: $Z = -3,876^{***}$

Prova de Wilcoxon: $Z = -3,492^{***}$

En el cas dels ordenaments típics de latituds càlides, d'un total de 107 diferències, 26 són negatives i 81 positives (prova dels signes: $Z = -5,420$, $P < 0,001$; prova de Wilcoxon $Z = -5,220$, $P < 0,001$). Si es considera cada conjunt de poblacions per separat, la prova dels signes i la de Wilcoxon són

Taula 12. Diferències entre les freqüències dels diversos ordenaments de les poblacions atlàntiques entre les mostres noves i antigues, i resultat de les proves dels signes realitzades.

	Groningen	Louvain	Villars
A _{ST}	-0,1165	-0,2536	-0,1010
A ₂	0,0992	0,0889	0,0857
J _{ST}	-0,1481	0,0152	-0,0470
J ₁	0,1481	-0,0152	0,0470
U _{ST}	-0,2901	-0,1755	-0,2200
U ₁	-0,0047	-0,0325	-0,0049
U ₁₊₂	0,2553	0,2800	0,1920
U ₁₊₂₊₈	0,0299	-0,0720	0,0141
E _{ST}	-0,1549	-0,1678	-0,0969
E ₁₊₂₊₉₊₃	-0,0201		
E ₁₊₂₊₉₊₁₂	-0,0042	0,0625	0,0371
O _{ST}	-0,3591	-0,3073	-0,0867
O ₆	0,0054	0,1802	
O ₅	-0,0336	0,9009	
O ₃₊₄	0,1390	0,0747	0,1161
O ₃₊₄₊₈	0,2264	0,2065	0,0164
O ₃₊₄₊₁₂	0,0243	-0,0033	

Grup 1 (correlació positiva amb la latitud)

Grup 2 (correlació negativa amb la latitud)

Ordenaments considerats: A_{ST}, J_{ST}, U_{ST}, U₁, E_{ST}, O_{ST}, O₆, O₅, O₃₊₄₊₁₂, O₃₊₄₊₂₃

Ordenaments considerats: A₂, A₂₊₆, A₂₊₃₊₅₊₇, J₁, U₁₊₂, U₁₊₂₊₈, E₁₊₂₊₉₊₃, E₁₊₂₊₉₊₄, E₁₊₂₊₉₊₁₂, O₃₊₄, O₃₊₄₊₈

Diferències: 5 positives, 19 negatives.

Diferències: 18 positives, 4 negatives.

Prova dels signes: $P = 0,007$ (significació exacta bilateral)

Prova dels signes: $P = 0,004$ (significació exacta bilateral)

Prova de Wilcoxon: $Z = -3,429^{***}$

Prova de Wilcoxon: $Z = -3,458^{***}$

significatives almenys al nivell del 0,01 en tots els casos. Per tant, podem concloure que en totes les àrees els ordenaments típics de latituds càlides tendeixen a augmentar la seva freqüència en les mostres noves.

Taula 13. Diferències entre les freqüències dels diversos ordenaments de les poblacions centreeuropees entre les mostres noves i antigues, i resultat de les proves dels signes realitzades.

	Tübingen	Wien	Leuk
A _{ST}	0,0623	0,0048	0,0315
A ₂	0,0152	-0,3448	0,0204
J _{ST}	-0,0170	-0,0047	-0,0553
J ₁	0,0170	0,0047	0,0553
U _{ST}	-0,2099	-0,1036	-0,0067
U ₁	0,0051	-0,0058	-0,0156
U ₁₊₂	0,2358	0,1293	0,1412
U ₁₊₂₊₈	-0,0246	0,0250	-0,0671
E _{ST}	-0,0492	-0,0596	0,0295
E ₁₊₂₊₉₊₃			0,0039
E ₁₊₂₊₉₊₁₂	0,0262	0,0105	0,0158
O _{ST}	-0,2214	-0,1728	-0,0648
O ₆	-0,0060	-0,0301	0,0198
O ₅		-0,0217	-0,0040
O ₃₊₄	0,0874	0,1161	0,0385
O ₃₊₄₊₈	0,1248	0,0523	0,0066
O ₃₊₄₊₁₂	-0,0056		
O ₃₊₄₊₂₃			0,0079

Grup 1 (correlació positiva amb la latitud)

Ordenaments considerats: A_{ST}, J_{ST}, U_{ST}, U₁, E_{ST}, O_{ST}, O₆, O₅, O₃₊₄₊₁₂, O₃₊₄₊₂₃

Diferències: 7 positives, 18 negatives.

Prova dels signes: $P = 0,043$ (significació exacta bilateral)

Prova de Wilcoxon: $Z = -2,274^*$

Grup 2 (correlació negativa amb la latitud)

Ordenaments considerats: A₂, A₂₊₆, A₂₊₃₊₅₊₇, J₁, U₁₊₂, U₁₊₂₊₈, E₁₊₂₊₉₊₃, E₁₊₂₊₉₊₄, E₁₊₂₊₉₊₁₂, O₃₊₄, O₃₊₄₊₈

Diferències: 19 positives, 3 negatives.

Prova dels signes: $P = 0,001$ (significació exacta bilateral)

Prova de Wilcoxon: $Z = -2,613^{**}$

ANNEX

Canvis a llarg termini en el polimorfisme per inversions de *Drosophila subobscura*. I. Poblacions mediterrànies del sud-oest d'Europa

Long-term changes in the chromosomal inversion polymorphism of *Drosophila subobscura*. I. Mediterranean populations from Southwestern Europe

Evolution, 56(4), 2002, pp.830-835