

Estimación del flujo génico en insectos. El análisis de *Caledia captiva* (Orthoptera: Acrididae)

Bert Kohlmann

E.A.R.T.H. Apdo. 4442-1000. San José, Costa Rica.

(Rec. 5-IX-1994. Rev. 17-I-1995. Ac. 1-II-1995)

Abstract: An indirect method was used for analyzing patterns and levels of gene flow between two races of the Australian grasshopper *Caledia captiva* (Orthoptera: Acrididae). A site was chosen where two chromosomal races (Moreton and Torresian) of *C. captiva* meet and form a hybrid zone. Five of their enzyme systems were analyzed and the allozymic disequilibria at the centre of the hybrid zone were calculated for estimating the dispersal rates. The estimates produce a dispersal rate in the order of $93 (67-138) \text{ m (generation)}^{-1/2}$. This result evidences a rather restricted gene flow level, concordant with the narrow hybrid zone formed between the two races. Steep genetic clines that coincide with narrow hybrid zones are generally considered to have arisen either from a balance of selection gradients and gene flow, or from competitive effects. The existence of low genetic introgression levels in this species would appear to support the first possibility.

Key words: Gene flux, hybrid zones, gametic disequilibrium, allozymes, *Caledia captiva*.

La estimación de los niveles y patrones de flujo génico se basan generalmente en dos métodos. El "método indirecto" (Slatkin 1987) utiliza la distribución espacial de frecuencias alélicas, segmentos cromosómicos, rasgos fenotípicos o secuencias de DNA, para estimar niveles de flujo génico. Para este método se estiman varias estadísticas derivadas a partir de los datos y parámetros aproximados por un modelo de flujo génico (Slatkin 1985). También es factible realizar el estudio a partir de una medición de desequilibrio génico en el caso en que uno realice el análisis en el centro de una zona híbrida (Szymura y Barton 1986).

El nivel de flujo génico también puede ser estimado utilizando el "método directo", el cual se basa en una estimación directa de la dispersión de individuos o gametos durante estadíos particulares de la etapa de vida del organismo a estudiar (Southwood 1978). Estos estudios se pueden realizar utilizando varias técnicas de detección del movimiento, tal como el uso del

radar, instrumentos ópticos, observación directa, trapeo, muestreos absolutos, estudios meteorológicos, marcaje y estudios sobre comportamiento del movimiento (Southwood 1978, Farrow y Daly 1987). Estas observaciones proveen de un estimado directo del flujo génico.

Sin embargo estas observaciones deben ser interpretadas con cuidado, ya que la dispersión no es necesariamente un sinónimo de niveles de flujo génico reales. Endler (1977), ha demostrado que existe en general una falta de correlación entre el flujo génico y la dispersión de los individuos. Esto puede ocurrir en organismos que se dispersan por varias causas como la falta de familiaridad con un nuevo habitat, baja reproductiva por un "ostracismo" social, diferencias en tolerancias microecológicas, incompatibilidad genética con los residentes, mayor probabilidad de apareamiento con individuos cercanos que con lejanos, una menor reserva alimenticia y una alta probabilidad de que genes introducidos se pierdan en la población por

efectos aleatorios. Por lo tanto, se acepta generalmente (Ehrlich y Raven 1969, Endler 1977, Slatkin 1987) que el flujo génico ocurre en distancias promedio, que son mucho más cortas que la capacidad individual de dispersión, y para este fin el "método indirecto" parece proporcionar resultados más confiables (Endler 1977).

En este trabajo se utiliza un "método indirecto" para estimar el flujo génico en una zona híbrida entre dos razas del saltamontes *Caledia captiva* (Orthoptera: Acrididae) en una región del trópico de Queensland, Australia (Fig. 1.).

Este taxon se compone de cuatro razas cromosómicas (Shaw 1976, Moran y Shaw 1977) localizados en el este y norte de Australia. Las razas presentan una gran diferenciación en los rearrreglos cromosómicos pericéntricos, bandas C, alozimas, secuencias de ADN nuclear y mitocondrial, niveles de aislamiento reproductivo y condiciones climáticas (Shaw 1976, Shaw *et al.* 1976, Moran y Shaw 1977, Daly *et al.* 1981, Arnold 1986, Arnold *et al.* 1985, Marchant 1988, Marchant *et al.* 1988, Kohlmann y Shaw 1991; Kohlmann, *et al.* 1988). Las cuatro razas ("Daintree", "Torresian", "Moreton" y "South East Australian"), las cuales representan varias etapas de la diferenciación genética, se encuentran distribuidas parapátricamente.

Una serie de rearrreglos pericéntricos transforma el cariotipo acro- y telocéntrico de la raza "Torresian" en un cariotipo metacéntrico de la raza "Moreton". Estos taxa se encuentran sólo parcialmente aislados en su reproducción. En el laboratorio la generación F₂ es completamente inviable, pero el retrocruce presenta viabilidades que van del 0% al 50% (Shaw y Wilkinson 1980). Los taxa ocupan climas muy característicos: los "Torresian" se encuentran en áreas muy calientes, secas y con una marcada estacionalidad en la precipitación; mientras que los "Moreton" se encuentran en áreas calientes, húmedas y con una precipitación más uniformemente distribuida a lo largo del año (Kohlmann *et al.* 1988).

Las razas "Moreton" y "Torresian" se encuentran en el sureste de Queensland y forman un frente de contacto de aproximadamente 200 Km. de longitud (Fig. 1), donde se forma una zona híbrida de cerca de 1 Km. de ancho (Moran 1979, Kohlmann 1993). Dentro de esta zona más del 80% de los individuos son híbridos recombinantes, el resto son formas parentales o híbridos F₁. En el centro de la zona existe un

cambio marcado y muy definido de cerca del 50% en frecuencias cromosómicas y alozimáticas, a lo largo de un transecto de tan sólo 200 m. Este cambio tan abrupto implica la existencia de una fuerte selección que actúa en contra de elementos de introgresión (Moran 1979, Shaw *et al.* 1985, Kohlmann 1993).

Para el presente trabajo se estudió una localidad en particular del frente de contacto híbrido de las razas "Moreton" y "Torresian" que se encuentra localizada al oeste del pueblo de Kilcoy, Queensland (Fig. 1).

El objetivo del estudio fue la determinación del grado de flujo génico utilizando un análisis de desequilibrio génico de alozimas, medido en el centro de una zona híbrida para entender mejor los fenómenos genéticos que se llevan a cabo dentro de estas áreas y que comprenden aquellos procesos involucrados en la divergencia evolutiva, la formación de recombinantes y la diferenciación genética. Además, estos resultados fueron comparados con la escasa información que existe sobre este proceso en otras zonas híbridas, para tratar de dilucidar patrones de tipo general.

MATERIAL Y METODOS

Muestreo.- Los saltamontes adultos fueron recolectados en enero de 1986 al oeste de Kilcoy, Queensland (Fig. 1). Se muestrearon seis localidades, cada una separada doscientos metros de la otra, a través de una zona de contacto e hibridación entre las razas genéticas "Moreton" y "Torresian"; de tal forma que tres localidades quedaban localizadas del lado de la raza "Moreton", y las otras tres del lado de la raza "Torresian". Todos los individuos fueron colocados en tubos plásticos marca NUNC, congelados en nitrógeno líquido y guardados a -90°C en un ultracongelador, hasta realizar el análisis de las alozimas.

Electroforesis.- Se analizaron cinco loci alozimáticos que muestran diferencias diagnósticas entre las razas "Moreton" y "Torresian" (Daly *et al.* 1981). Estos loci son: alozima mállica (*Me*), aspartato-aminotransferasa (*Got-2*), fosfo-manosa-isomerasa (*Mpi*), fosfo-glucosa-isomerasa (*Pgi*) y deshidrogenasa isocítrica (*Idh-1*). La metodología del análisis se encuentra descrita en Moran *et al.* (1980) y Daly *et al.* (1981).

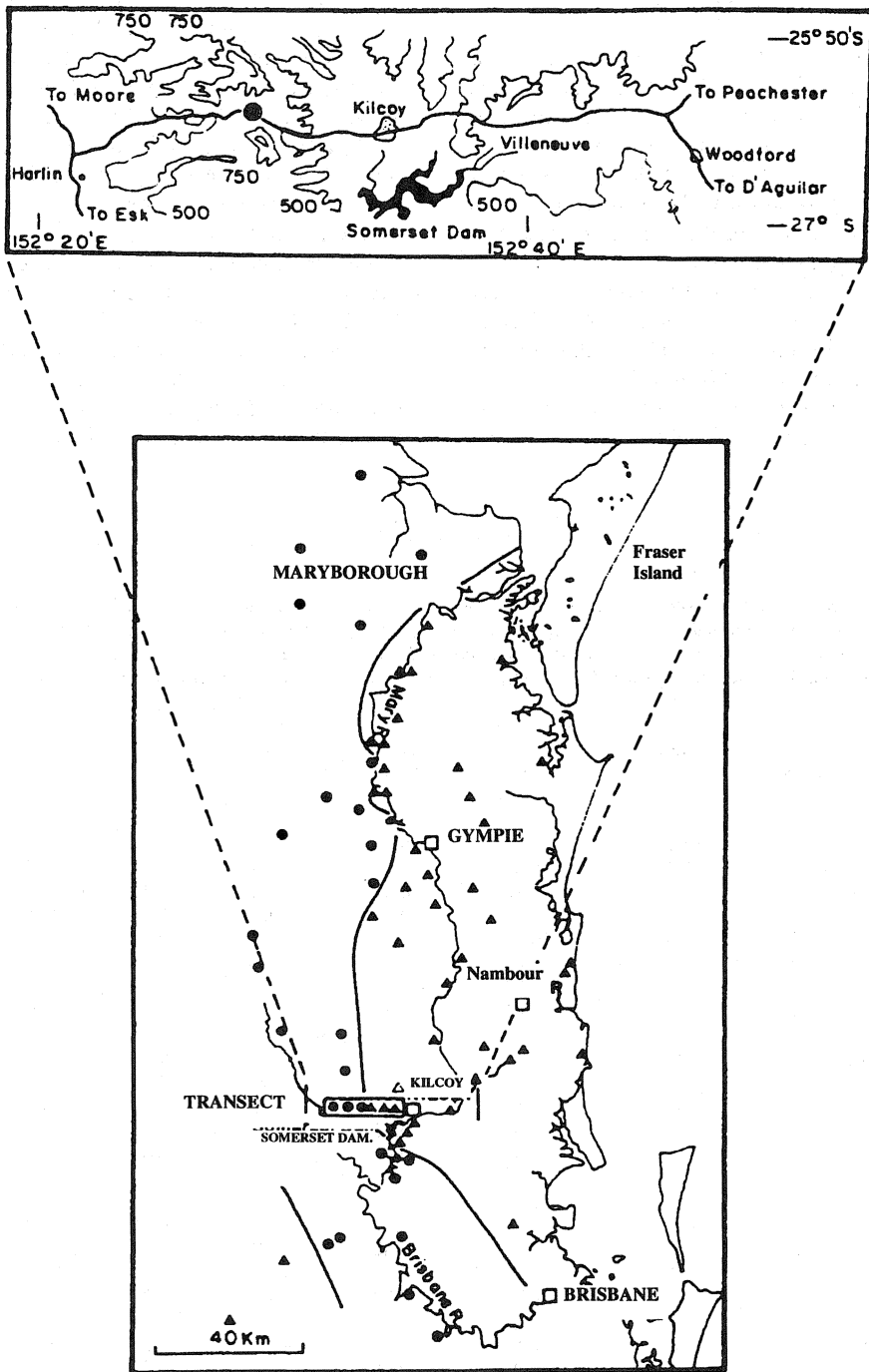


Fig. 1. Localización general del sitio de estudio en el sureste de Queensland, Australia. Áreas ocupadas por la raza "Moreton" se encuentran indicadas por triángulos en el mapa; las áreas ocupadas por la raza "Torresian" se encuentran indicadas por los círculos. La zona estimada de contacto entre las dos razas se encuentra indicada por la línea sólida. El área del transecto estudiado se encuentra indicada por un círculo negro dentro del recuadro, al oeste de la ciudad de Kilcoy. El mapa de área general del sureste de Queensland está basado en un dibujo realizado por Moran (1978, 1979).

RESULTADOS

Frecuencias alélicas.- Los resultados de las frecuencias alélicas se encuentran indicados en el cuadro 1. Las designaciones de los alelos corresponden a análisis previos (Moran *et al.* 1980, Daly *et al.* 1981). Los alelos característicos (alelo *c* para la raza "Torresian") presentan cambios simétricos similares en su frecuencia a lo largo de la zona híbrida.

Las tendencias en heterocigocidad indican que pueden existir varios patrones de diversidad genética dentro de las enzimas diagnósticas a lo largo de una zona híbrida.

Asímismo el número de alelos raros varía a lo largo del transecto. Mucha de esta variación

se puede deber a selección de balance, recombinación intragénica, tasas mayores de mutación, o variación estocástica. Todas estas causas pueden elevar el número de alelos raros en zonas híbridas (Barton y Hewitt 1985).

Análisis de Hardy-Weinberg.- Los resultados del análisis de Hardy-Weinberg se encuentran indicados en el cuadro 2. El análisis se realizó utilizando una prueba de G en vez de la familiar chi-cuadrada, ya que a la primera se le considera una estadística más conservadora (Sokal y Rohlf 1969).

Los resultados de la prueba de G indican la presencia de importantes desviaciones de un equilibrio de Hardy-Weinberg en la parte central de la zona híbrida entre N2 y N5.

CUADRO 1

Frecuencias génicas del transecto. Los alelos han sido nombrados de la "a a la "g", del más rápido al más lento. En todos los casos el alelo "o" es diagnóstico para la raza "Torresian". En el caso de dos loci isozimáticos para una enzima en particular tal como ldh-1 y Got-2, el locus más cercano al ánodo se le nombra con el sufijo "1" y al más lento con el sufijo "2." Se calculó la heterocigocidad individual (H). El número entre paréntesis se refiere al tamaño de muestra

Locus enzimático	Sitio Alelo	NT (30)	N2 (31)	N3 ((39)	N4 (34)	N5 (30)	N6 (36)
Mpi	a	0	0	0	0	0.02	0
	b	0.04	0	0.03	0.03	0.02	0.01
	c	0.70	0.86	0.52	0.36	0.34	0.40
	d	0	0	0.01	0	0	0.01
	e	0.22	0.21	0.44	0.58	0.62	0.57
	f	0.02	0.03	0	0.03	0	0.01
	g	0.02	0	0	0	0	0
	H	0.46	0.21	0.53	0.53	0.50	0.51
ldh-1	b	0	0	0.03	0.03	0	0
	c	0.7	0.71	0.59	0.22	0.38	0.35
	d	0.27	0.27	0.38	0.72	0.6	0.65
	e	0.03	0.02	0	0.03	0.02	0
	H	0.42	0.42	0.51	0.43	0.49	0.45
Pgi	a	0	0	0.01	0	0	0
	b	0.18	0.18	0.26	0.84	0.92	0.81
	c	0.82	0.82	0.73	0.16	0.08	0.19
	d	0	0	0	0	0	0
	H	0.29	0.29	0.40	0.27	0.15	0.31
Me	c	0.55	0.45	0.30	0.12	0.08	0.10
	d	0.45	0.55	0.70	0.82	0.90	0.86
	e	0	0	0	0.06	0.02	0.04
	H	0.19	0.49	0.42	0.19	0.18	0.26
Got-2	b	0.47	0.52	0.74	0.87	0.93	0.99
	c	0.53	0.48	0.26	0.13	0.07	0.01
	H	0.50	0.50	0.38	0.23	0.13	0.02

CUADRO 2

Análisis de Hardy-Weinberg para los datos del transecto. Se ha utilizado una prueba de G. con un grado de libertad. Los números en paréntesis representan el tamaño de la muestra. Valores de significancia: *5%, **2.5%, ***0.1%

Enzimas	Sitios	N1 (30)	N2 (31)	N3 (39)	N4 (34)	N5 (30)	N6 (36)
Mpi		0.30	5.02*	6.63**	0.22	1.92	1.90
Got-2		0.17	0.08	0.25	0.34	0.29	0.03
ldh-1		0.38	4.13*	0.02	0.48	0.13	0.08
Pgi		4.88*	11.18***	0.13	12.00***	5.32**	2.65
Me		0.48	3.85*	0.11	1.09	3.34	3.68

Desequilibrio gamético.- El desequilibrio gamético se ha calculado entre pares de enzimas utilizando el determinante gamético:

$$D=e_1e_4-e_2e_3 \quad (1)$$

donde las frecuencias génicas predichas se determinan por $e_1=f(M_A M_a)$, $e_2=f(M_A T_b)$, $e_3=f(T_B M_a)$ y $e_4=f(T_B T_b)$, donde f representa a la frecuencia alélica, M_A y M_a representan los dos alelos complementarios de la raza "Moreton", y donde T_B y T_b representan los dos alelos complementarios de la raza "Torresian".

El determinante gamético (D) es sensible a frecuencias marginales (Sved 1971) por lo que el análisis se ha llevado a cabo usando el parámetro Tr^2 (donde T=número de individuos muestreados, r=correlación entre frecuencias alozimáticas), tal y como Shaw *et al.* (1985) lo recomiendan. Esta prueba estadística se aproxima a una distribución chi-cuadrada con 1 grado de libertad (Hill y Robertson 1968). La correlación entre frecuencias alozimáticas, "r", se calcula de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$r=D/[p(1-p)q(1-q)]^{1/2} \quad (2)$$

donde "p" es la frecuencia alozimática de "Moreton" y "q" lo es para "Torresian". Desequilibrios de tercer orden o mayores se asumen que toman el valor '0', para poder realizar estimaciones independientes del desequilibrio entre cada par de alozimas. Los resultados de estos cálculos junto con su nivel de significancia se reportan en el cuadro 3.

Lewontin (1974) ha argumentado, que debido a la sensibilidad de D con respecto a asociaciones de loci no homólogos y a cambios de frecuencia en cada locus, es recomendable expresar el grado de asociación como un porcen-

taje (D') del valor máximo (D_{max} , si D es positivo: $D_{max}=\{\min[f(M_A), f(T_B)]\} \cdot \{\min[f(M_a), f(T_b)]\}$; si D es negativo: $D_{max}=\{\min[f(M_a), f(T_b)]\} \cdot \{\min[f(M_A), f(T_B)]\}$) para cualquier conjunto de frecuencias gaméticas. Aunque el porcentaje del valor máximo del determinante gamético D' es siempre positivo, ya que representa una proporción (D/D_{max}), algunos valores negativos aparecen en el cuadro 3. Esto se ha hecho a propósito para diferenciar entre dos situaciones. Si el valor de D' tendía hacia una situación de acoplamiento de gametos para dos alozimas de la misma raza, se representó la situación usando un valor positivo. Si el valor tendía a una situación de repulsión de gametos, se utilizó un valor negativo.

Estimación de flujo génico.- Podemos estimar el nivel de flujo génico en esta población, calculando las tasas de dispersión necesarias para producir un desequilibrio gamético (alozimático) en el transecto estudiado. Szymura y Barton (1986) han establecido que en el centro de una zona híbrida la dispersión puede ser representada por la siguiente fórmula :

$$D'=4\alpha^2/w^2r \quad (3)$$

donde D' es la intensidad del desequilibrio, relativo a su posible valor máximo; α^2 es la tasa de dispersión (varianza en la distancia progenitor-descendencia, i.e. varianza en la distancia recorrida durante una generación; de acuerdo a Nagylaki (1975) este parámetro determina la tasa de flujo génico); w representa la anchura del clinal y r es el valor de recombinación, el cual es de 0.5 para loci no acoplados.

El valor de D' se ha calculado como un promedio para todos los pares enzimáticos en el centro de la zona híbrida (N3-N4). Utilizando los valores del cuadro 3 obtenemos un valor de

CUADRO 3

*Comparaciones entre D' y Tr con un grado de libertad calculados para asociaciones en pares entre alozimas en el trasecto.
D'=porcentaje Dmax; T = tamaño de muestra y r = correlaciones de frecuencias alozimáticas D = promedio de D' de todos los sitios
Números en paréntesis indican el tamaño de la muestra. Significancia: *5%*

Sitios	N1		N2		N3		N4		N5		N6	
	D'	Tr	D'	Tr	D'	Tr	D'	Tr	D'	Tr	D'	Tr
Par Enzimático												
Mpl vrs Got-2	0.0321		0.0987		0.1915		0.2622		0.2116		0.2156	
		(30)		(26)		(39)		(34)		(30)		(36)
Mpi vrs Idh-1	-0.0041		-0.0815		0.0923		0.1706		0.2085		0.0720	
		(30)		(31)		(39)		(34)		(31)		(36)
Mpi vrs Pgi	-0.0220		-0.1842		0.0033		0.1053		-0.1077		-0.3418	
		(30)		(32)		(39)		(34)		(30)		(36)
Pgi vrs Idh-1	0.0260		0.2581		-0.0311		0.0128		-0.5396		-0.2799	
		(30)		(41)		(39)		(34)		(29)		(36)
Pgi vrs Got-2	0.1477		-0.1249		-0.0031		0.0227		0.1666		-1.0000	
		(30)		(29)		(39)		(34)		(30)		(36)
Idh-1 vrs Got-2	-0.0991		-0.2765		-0.3127		1.4564		0.6798		-1.0000	
		(30)		(31)		(39)		(34)		(30)		(936)
Mpi vrs Me	0.3900		0.2783		0.1556		0.3485		0.2380		-0.7715	
		(30)		(31)		(39)		(34)		(30)		(36)
Pgi vrs Me	0.2217		-0.2022		-0.0375		0.0519		-1.0000		-0.3575	
		(30)		(31)		(39)		(34)		(30)		(36)
Idh-1 vrs Me	0.0404		-0.0347		-0.0924		-0.2034		0.5955		-0.9999	
		(30)		(31)		(39)		(34)		(30)		(36)
Got-2 vrs Me	0.0625		-0.0035		0.3043		1.7485		0.3684		4.0715*	
		(30)		(31)		(32)		(34)		(30)		(36)
D		0.1046		0.1542		0.1224		0.1525		0.4116		0.6038

$D'=0.1374$. El valor w es calculado como el inverso de la pendiente máxima de las frecuencias de los alelos diagnósticos (c) en el centro de la zona híbrida de tal forma que $w=709$ (512-1052) m. Sustituyendo estos valores en la ecuación (3), obtenemos el valor de α , la estimación de flujo génico, $\alpha=93$ (67-138) m (generación)^{-1/2}.

Tal y como Szymura y Barton (1986) indican, no se pueden otorgar límites de confianza para D' , ya que la incertidumbre está generada por variación entre-sitio y entre-locus, y no tanto por error de muestreo. Los valores entre paréntesis representan límites de una desviación estándar, los cuales se calcularon a partir de la contribución del error generada por la estimación de la anchura del clinal.

DISCUSION

Frecuencias génicas.- Las frecuencias génicas presentan un patrón de introgresión aproximadamente simétrico, que junto con los bajos valores de desequilibrio gamético sugieren que las alozimas presentan un comportamiento neutro en relación a la estructura de la zona híbrida. Sin embargo, las alozimas pueden estar siendo seleccionadas independientemente de la estructura zonal. Una posibilidad es la existencia de un efecto anti-"hitch-hiking" (Maynard-Smith y Haig 1973), ya que los genes residen en los cromosomas, y éstos presentan una muy baja introgresión. Esto se ve apoyado por la deficiencia de heterocigotos indicada en el desequilibrio de Hardy-Weinberg.

Análisis de Hardy-Weinberg.- Los resultados del análisis indican la existencia de desviaciones significativas de un estado de equilibrio en la zona híbrida. Todos estos valores significativos representan deficiencias en heterocigotos (selección en contra de híbridos). Resultados similares fueron encontrados por Kocher y Sage (1986) y Howard (1986) en sus análisis de zonas híbridas de ranas leopardo y grillos respectivamente.

El desequilibrio gamético puede aumentar la probabilidad de que los *loci* de una misma población muestren desviaciones aparentes. Sin embargo, el análisis de Hardy-Weinberg muestra desviaciones a lo largo de todo el transecto, mientras que el desequilibrio es un poco mayor hacia el centro. Muy probablemente las desviaciones de las proporciones de Hardy-Weinberg se deben a

efectos de migración entre las localidades con diferentes frecuencias de alozimas, generándose un efecto Wahlund, aunque no podemos descartar la posibilidad de un proceso selectivo.

En general, en zonas híbridas anchas (circa 6 Km) casi no se ha detectado la existencia de desviaciones de proporciones de Hardy-Weinberg (Szymura y Barton 1986), mientras que en zonas más estrechas (300-600 m) se han detectado fuertes desviaciones (Kocher y Sage 1986, Howard 1986).

Desequilibrio gamético.- En la mayor parte del transecto no existen valores significativos, por lo que esto sugiere que las alozimas se están segregando y recombinando con respecto a la estructura de la zona, independientemente de la depresión híbrida a nivel cromosómico que se está generando en el transecto.

Por otro lado, los valores de D' representan una mezcla de signos positivos y negativos, por lo que esto sugiere la existencia de deriva génica y ausencia de selección de un desequilibrio gamético (Lewontin 1974).

Flujo génico.- La estimación de dispersión necesaria para producir el desequilibrio gamético en el centro de la zona híbrida arrojó un resultado de 93 (67-138) m (generación)^{-1/2}. Esta estimación es menor a la anchura observada (aprox. 1 Km) de la zona híbrida, sin embargo la dispersión estimada es suficiente para mantener la anchura de la zona híbrida mencionada.

Este nivel de dispersión es en forma general bajo para un insecto. Sin embargo, comparando contra otro acrido como *Myrmeleotettix maculatus*, cuyo valor de dispersión generacional fue calculado por Hewitt y John (1967) en 1.5 m; y para los grupos de morabinos "*Morabra*" *scurra* y *viatica*, estimados por White *et al.* (1964, 1967) en 5 m; observamos que *Caledia captiva* no llega a niveles extremos de sedentarismo.

En general, la existencia de clinales génicos abruptos que coinciden con zonas híbridas, se considera que puede originarse por un balance entre un gradiente de selección y un flujo génico, o por efectos competitivos. La existencia de un bajo nivel de flujo génico apoyaría la primera posibilidad.

AGRADECIMIENTOS

Mis más sinceros agradecimientos a D. Shaw por haberme introducido y guiado en el tema de la genética poblacional de insectos. A

la técnico P. Wilkinson por enseñarme la metodología de estudios de alozimas. A.D. Shaw, J. Endler, M. Austin, D. Colgan, B. Wellington, A. Marchant y M. Cerrato por revisar el manuscrito. A I. Hidalgo por dibujar la figura. A la E.A.R.T.H. por brindarme las facilidades para terminar el trabajo. Por último quisiera agradecer a la Universidad Nacional de Australia la beca que hizo posible mi estudio de doctorado.

RESUMEN

Se utilizó un método indirecto para estudiar el nivel de movimiento y flujo génico en las poblaciones del saltamonte *Caledia captiva* (Orthoptera: Acrididae), insecto abundante donde forrajea el ganado en Australia. Se escogió un sitio en la región tropical del estado de Queensland donde dos razas cromosómicas del saltamonte, las razas Moreton y Torresian, se encuentran formando una zona híbrida. Para el estudio se muestrearon seis localidades. Posteriormente utilizando el método de desequilibrio alozimático, se llegó a una estimación de $93(67-138) \text{ m (generación)}^{-1/2}$ de desplazamiento, lo cual representa un nivel bajo de flujo génico, en concordancia con la anchura (1 Km) de la zona híbrida. El bajo nivel de dispersión génica, aunado a bajos niveles de introgresión genética, parecen apoyar la existencia de una zona híbrida originada por un balance entre gradientes de selección y flujo génico.

REFERENCIAS

- Arnold, M.L. 1986. The heterochromatin of grasshoppers from the *Caledia captiva* species complex. III. Cytological organisation and sequence evolution in a dispersed highly repeated DNA family. *Chromosoma* 94: 183-188.
- Arnold M.L., R. Appels & D.D. Shaw. 1985. The heterochromatin of grasshoppers from the *Caledia captiva* species complex. I. Sequence evolution and conservation in a highly repeated DNA family. *Mol. Biol. Evol.* 3: 29-43.
- Barton, N.H. & G.M. Hewitt. 1985. Analysis of hybrid zones. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 113-148.
- Daly, J.C., P. Wilkinson & D.D. Shaw. 1981. Reproductive isolation in relation to allozymic and chromosomal differentiation in the grasshopper *Caledia captiva*. *Evolution* 35: 1164-1179.
- Ehrlich, P.R. & P.H. Raven. 1969. Differentiation of populations. *Science* 165: 1228-1232.
- Endler, J.A. 1977. *Geographic variation, speciation and clines*. Princeton University Press, Princeton N.J.
- Farrow, R.A. & J.C. Daly. 1987. Long-range movements as an adaptive strategy in the genus *Heliothis* (Lepidoptera: Noctuidae): a review of its occurrence and detection in four pest species. *Australian Journal of Zoology* 35: 1-24.
- Hewitt, G.M. & B. John. 1967. The B-chromosome system of *Myrmeleotettix maculatus* (Thunb.) III. The statistics. *Chromosoma* 21: 140-162.
- Hill, W.G. & A. Robertson. 1968. Linkage disequilibrium in finite populations. *Theoretical and Applied Genetics* 38: 226-231.
- Howard, D. 1986. A zone of overlap and hybridization between two ground cricket species. *Evolution* 40: 34-43.
- Kocher, T.D. & R.D. Sage. 1986. Further genetic analyses of a hybrid zone between leopard frogs (*Rana pipiens* complex) in central Texas. *Evolution* 40: 21-33.
- Kohlmann, B. 1993. El análisis de las zonas híbridas y la evolución. p 105-128. In J. Núñez-Farfán y C. Cordero (eds.). *Tópicos de Biología Evolutiva*. Centro de Ecología, UNAM, México, D.F.
- Kohlmann, B., H. Nix & D.D. Shaw. 1988. Environmental predictions and distributional limits of chromosomal taxa in the Australian grasshopper *Caledia captiva* (F.). *Oecologia* 75: 483-493.
- Kohlmann, B. & D.D. Shaw. 1991. The effect of a partial barrier on the movement of a hybrid zone. *Evolution* 45: 1606-1617.
- Lewontin, R.C. 1974. *The genetic basis of evolutionary change*. Columbia University Press. New York and London.
- Marchant, A.D. 1988. Apparent introgression of mitochondrial DNA across a narrow hybrid zone in the *Caledia captiva* species-complex. *Heredity* 60: 39-64.
- Marchant, A.D., M.L. Arnold & P. Wilkinson. 1988. Gene flow across a chromosomal tension zone I. Relicts of ancient hybridization. *Heredity* 61: 321-328.
- Maynard-Smith, J. & J. Haig. 1973. The hitch-hiking effect of a favourable gene. *Genetic Research* 23: 23-35.
- Moran, C. 1979. The structure of the hybrid zone in *Caledia captiva*. *Heredity* 42: 13-32.
- Moran, C. & D.D. Shaw. 1977. Population cytogenetics of the genus *Caledia* (Orthoptera: Acridinae). III Chromosomal polymorphism, racial parapatry and introgression. *Chromosoma* 63: 181-204.
- Moran, C., D.D. Shaw & P. Wilkinson. 1980. Allozyme variation across a narrow hybrid zone in the grasshopper, *Caledia captiva*. *Heredity* 44: 69-81.

- Nagylaki, T. 1976. Clines with variable migration. *Genetics* 80: 595-615.
- Shaw, D.D. 1976. Population cytogenetics of the genus *Caledia* (Orthoptera: Acridinae). I. Inter- and intraspecific karyotype diversity. *Chromosoma* 54: 221-243.
- Shaw, D.D., G.C. Webb & P. Wilkinson. 1976. Population cytogenetics of the genus *Caledia* (Orthoptera: Acridinae) II. Variation in the pattern of C-banding. *Chromosoma* 56: 169-190.
- Shaw, D.D. & P. Wilkinson. 1980. Chromosomal differentiation, hybrid breakdown and the maintenance of a narrow hybrid zone in *Caledia*. *Chromosoma* 80: 1-31.
- Shaw, D.D., D.J. Coates, M.L. Arnold & P. Wilkinson. 1985. Temporal variation in the chromosomal structure of a hybrid zone and its relationship to karyotypic re-patterning. *Heredity* 55: 293-306.
- Slatkin, M. 1985. Rare alleles as indicators of gene flow. *Evolution* 39: 53-65.
- Slatkin, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* 236: 787-292.
- Sokal, R.R. & F.J. Rohlf. 1969. *Biometry*. W.H. Freeman and Co., San Francisco.
- Southwood, T.R.E. 1978. *Ecological Methods*. Chapman and Hall, London and New York.
- Sved, J.A. 1971. Linkage disequilibrium and homozygosity of chromosome segments in finite populations. *Theoretical Population Biology* 2: 125-141.
- Szymura, J.M. & N.H. Barton. 1986. Genetic analysis of a hybrid zone between the fire-bellied toads *Bombina bombina* and *B. variegata*, near cracow in southern Poland. *Evolution* 40: 1141-1159.
- White, M.J.D., H.L. Carson & J. Cheney. 1964. Chromosomal races in the Australian grasshopper *Moraba viatica* in a zone of geographic overlap. *Evolution* 18: 417-429.
- White, M.J.D., R.E. Blackith & R.M. Blackith. 1967. Cytogenetics of the *viatica* group of morabine grasshoppers I. The "coastal" species. *Australian Journal of Zoology* 15: 263-302.