

## Variación genética de poblaciones de *Drosophila mercatorum* (Diptera: Drosophilidae) en ecosistemas semiáridos

Genetic variation in isolated populations of *Drosophila mercatorum* (Diptera: Drosophilidae) in semi-arid ecosystems

ANA PATRICIA ESTRADA F.<sup>1</sup> y RODRIGO PRIETO S.<sup>2</sup>

**Resumen:** Las variaciones en los genitales externos e internos pueden constituirse en barreras precigóticas que impiden el apareamiento y por ende contribuyen a la divergencia entre poblaciones de una especie, posibilitando el surgimiento de nuevas especies. Para el estudio de los procesos evolutivos involucrados en la diferenciación de la morfología de los genitales, se tuvieron en cuenta caracteres sexuales como el apareamiento realizando cruces interpopulacionales y análisis morfométricos de los genitales externos e internos de dos poblaciones de *Drosophila mercatorum* y sus híbridos colectadas en el Desierto de la Tatacoa (Huila) y el Valle del Patía (Nariño) teniendo en cuenta que estos caracteres son taxonómicamente importantes incluso a nivel de subespecies y razas. A fin de comparar la variabilidad interpopulacional en características no sexuales y obtener sus correlaciones, se realizó el análisis morfométrico del ala y la mancha abdominal, usando al igual que en el caso del aedeagus, 28 individuos por población para la morfometría geométrica y 20 para la tradicional. Se obtuvo menor variabilidad en estas estructuras y correlaciones positivas para el tamaño del ala y el aedeagus. El número de cerdas en el clasper, la forma del ala y la mancha abdominal no presentaron diferencias significativas entre las poblaciones, sin embargo, la disminución en la descendencia en cruces interpopulacionales y retrocruzas y la variación morfológica en el aedeagus, permiten diferenciarlas como razas geográficas.

**Palabras clave:** Morfometría. Genitales. Aislamiento reproductivo. Especiación.

**Abstract:** Variations in external and internal genitalia could constitute into pre-zygote barriers that prevent mating, contributing to the divergence between populations of species and allowing the emergence of new species. Sexual characteristics like mating, were taken into account to study the evolutionary processes involved in the morphology differentiation of the genitalia, for this purpose, there were conducted interpopulation crossings and morphometric analysis of external and internal genitalia of two populations of *Drosophila mercatorum* and its respective hybrids, collected in the Tatacoa Desert (Huila) and the Patía valley (Nariño), considering that these are important taxonomic characters, even to the level of subspecies and races. Morphometric analysis of non-sexual related characteristic such as wings and abdominal stains were performed to compare the variability between populations, as well as to obtain their correlations, by using 28 individuals per population for geometric morphometrics and 20 for the traditional one, as in the case of the aedeagus. Less variability in these structures and a positive correlation for the wing size and the aedeagus were found. The number of sows in the clasp, the shape of the wing and abdominal stains did not show significant differences between populations; however, the decrease in the offspring produced through the inter-population crossings and back-crossings, and the morphological variation in the aedeagus, allow differentiating them as geographic races.

**Key words:** Morphometry. Genitalia. Reproductive isolation. Speciation.

### Introducción

La divergencia entre las poblaciones hasta la formación de especies es gradual, sin marcarse un momento exacto en que se pueda decir que ambas poblaciones son ya dos especies, dándose situaciones intermedias de divergencia sin embargo, esto puede resolverse porque en organismos con fertilización interna, la divergencia en la morfología genital masculina es un carácter taxonómico aceptado para distinguir entre especies e incluso razas dada su rápida divergencia y especificidad para impedir cópulas improductivas (Arnqvist 1998; King 2003). La evolución genital ha fascinado a los biólogos por más de 150 años y se ha usado para establecer diferencias en el ámbito de estudios intraespecíficos (Arnqvist 1997). Una alternativa utilizada para su estudio es el análisis del aedeagus masculino de las especies, empleando la morfometría geométrica de contorno para monitorear procesos de especiación en marcha, pues es una herramienta que permite entender si las variaciones morfométricas en una investigación son evidencia de divergencia intraespecífica o parte de

la plasticidad fenotípica propia de la población y el ambiente en que se encuentra.

Existen tres hipótesis principales para explicar la diversificación morfológica de los órganos genitales animales, en primer lugar *El aislamiento reproductivo*, afirma que la divergencia genital causa aislamiento mecánico que evita la hibridación como estrategia de aislamiento pre-copulativo, como en el caso de un cerrojo y una llave (Eberhard 1985, Arnqvist 1998). La segunda es la hipótesis de *Pleiotropía*, según la cual, los órganos genitales son selectivamente neutrales y evolucionan por efectos pleiotrópicos a través de la selección en un conjunto de rasgos (Mayr 1963), por tanto da cuenta de cambios correlativos que tienen lugar a lo largo de la evolución. Finalmente la *Selección sexual*, propone que son favorecidas las estructuras genitales óptimas que confieren una ventaja reproductiva a los organismos (Eberhard 1985).

Aunque Eberhard (1985) ha desvalorizado la importancia del aislamiento mecánico como factor responsable de la complejidad genital en muchas especies animales, para las especies sinmorficas o gemelas, se ha encontrado que cier-

<sup>1</sup> Bióloga, Universidad de Nariño. Ciudad Universitaria Torobajo Bloque 3 cuarto piso. Tel 7311449. [anapatricaestrada@gmail.com](mailto:anapatricaestrada@gmail.com). Autora para correspondencia. <sup>2</sup> M Sc. Ciencias Biológicas. Universidad del Tolima (Ibagué), Grupo de Citogenética, Filogenia y Evolución de Poblaciones. Barrio Santa Elena Ibagué Tolima. PBX (098) 2644219. [rprietos@ut.edu.co](mailto:rprietos@ut.edu.co)

ta incompatibilidad genital refuerza el aislamiento ecológico, temporal o etológico si este falla. Fernández *et al* (2001) encontraron que *Lycosa tarentula fasciventris* (L., 1758) y *Lycosa* sp. pese a sus diferencias en el cortejo, realizan copulas heteroespecíficas que no generan descendencia fértil, lo que sugiere la existencia de aislamiento postcigótico, pero además se estima una incompatibilidad entre los genitales de machos y hembras debido a que existió diferencia significativa en la duración del inicio de la inserción del pedipalpo después de la monta. Estudios morfológicos en *Lycosa thorelli* (Keyserling, 1877) y *L. carbonelli* Costa & Capocasale, 1984 realizados por Simó *et al* (2002), atribuyen la incompleta inserción del pedipalpo a pequeñas diferencias morfológicas principalmente en el tamaño de los genitales.

Dada la importancia de los rasgos reproductivos como mecanismo de aislamiento asociado a la evolución de las especies, en esta investigación se evaluó la divergencia genital, la correlación entre ésta y otras estructuras y su efecto sobre el aislamiento reproductivo en dos poblaciones de *Drosophila mercatorum* (Patterson y Wheeler, 1942).

### Materiales y Métodos

Los especímenes de *Drosophila mercatorum* se recolectaron en dos ecosistemas semiáridos aislados (Fig. 1), el Desierto de la Tatacoa (Huila) y el Valle del Patía (Nariño). Se destaca que además de la distancia mayor a 300km entre los dos sitios, no hay puntos intermedios con posibilidad de albergar especies del grupo *repleta* debido a que están separados por la cordillera de los Andes cuyo ecosistema alto-andino no presenta zonas secas con cactáceas.

La recolección se realizó de 5:00 a 7:00 y de 17:00 a 18:30 en dos puntos alejados para cada zona de muestreo denomi-



Figura 1. Mapa de Colombia y ubicación de las zonas de muestreo.

Tabla 1. Cruces comparados con diferencia estadísticamente significativa en la descendencia según sexo de acuerdo al contraste de múltiple de rangos (HSD de Tukey -  $\alpha$  0,05).

Descendencia Femenina	
Contraste	Diferencias
[A2 x A2] vs. [Estándar P]	*-26,5333
[Estándar Patía] vs. [♂ A1 x ♀ P]	*27,2
[♀ Patía x ♂ Tatacoa] vs. [♂ A1 x ♀ P]	*25,6
Descendencia Masculina	
Contraste	Diferencias
[♀ A1 x ♂ A1] vs. [Estándar P]	*-20,5333
[♀ A1 x ♂ A1] vs. [♀ A1 x ♂ T]	*-19,3333
[♀ A1 x ♂ A1] vs. [♂ A2 x ♀ T]	*-18,6667
[Estándar P] vs. [♂ A1 x ♀ P]	*20,5333
[Estándar P] vs. [♂ A2 x ♀ P]	*19,5333
[♀ A1 x ♂ T] vs. [♂ A1 x ♀ P]	*19,3333
[♀ A1 x ♂ T] vs. [♂ A2 x ♀ P]	*18,3333
[♂ A1 x ♀ P] vs. [♂ A2 x ♀ T]	*-18,6667

\* Indica una diferencia significativa.

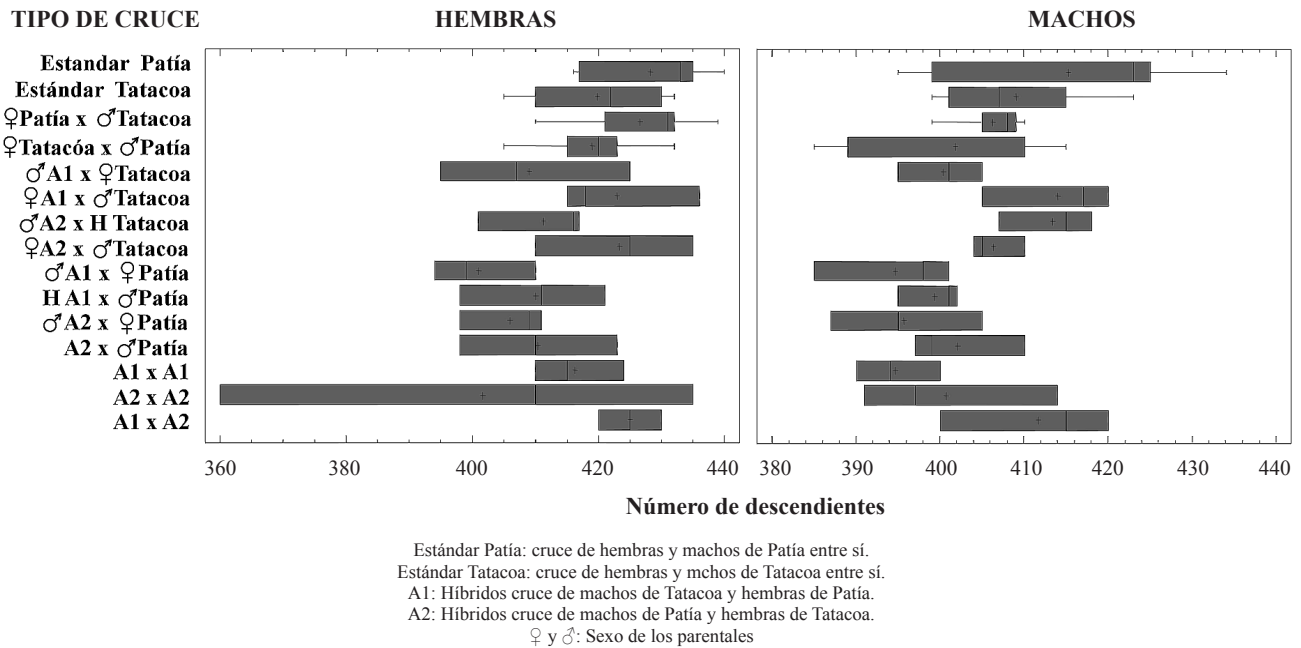
♂: Macho, ♀: Hembra, P: Patía, T: Tatacoa, A1: Híbridos entre machos de Tatacoa y hembras de Patía, A2: Híbridos del cruce de machos de Patía y hembras de Tatacoa.

nados Remolino 1 (1°39'19,3"N 77°20'53,1"W 735 m.s.n.m) y Remolino 2 (1°39'17,1"N 77°20'47,3"W 732m.s.n.m) en el Valle del Patía y Rosalía (3°14'13,8" N 75°9'52,9"W 560m.s.n.m) y Hoyos (3°13'57"N 75°7'44"W 523m.s.n.m) en el Desierto de la Tatacoa. Las trampas con cebo de fruta madura en descomposición (piña, naranja y banano) se ubicaron en lugares con alta densidad de cactus y abarcando los géneros *Opuntia*, *Pilosocereus* y *Lemairucereus* presentes en las dos zonas de muestreo.

Las moscas se transportaron en frascos de vidrio con tapón de gasa y medio de cultivo modificado del desarrollado por Sans de la Rosa *et al* (1987) al Laboratorio de Entomología de la Universidad de Nariño, donde se identificaron y sexaron según las características morfológicas descritas por Gil en De Polanco (1997) y Wasserman (1982).

Teniendo en cuenta que las hembras de *Drosophila mercatorum* son cripticas respecto a las de *D. paranaensis* se obtuvieron hembras vírgenes de los frascos de colecta y se aislaron durante 5 días para asegurar la ausencia de descendientes, posteriormente se cruzaron con machos de *D. mercatorum* debidamente identificados de acuerdo a sus características externas y posterior al cruce se analizó los genitales internos para confirmar la identificación de parentales y descendientes.

**Cruces intra e interpoblacionales:** Para asegurar que los individuos son de la especie correspondiente, se trabajó con los descendientes de la tercera generación y se utilizaron hembras vírgenes para todos los cruces estableciendo diez parejas por frasco y cinco replicas de cada tipo de cruce. El cepario se mantuvo a temperatura constante de 25°C y en medio de cultivo modificado del descrito por Sans de la Rosa *et al.*, 1987 manteniendo diez parejas por frasco, las moscas descendientes se transfirieron a un medio de cultivo fresco al emerger de la pupa.



**Figura 2.** Comparación del número de descendientes obtenidos en los diferentes tipos de cruce realizados con *Drosophila mercatorum* del Desierto de la Tatacoa (Huila) y el Valle del Patía (Nariño).

Se realizaron cruces intrapoblacionales (control) con el fin de establecer un estándar reproductivo de cada población, cruces interpopulacionales para determinar la existencia de aislamiento reproductivo, cruces entre los híbridos y de estos con individuos de cada población (retrocruzas). Se contabilizó la descendencia de todos los cruces y con los datos obtenidos, se realizó contraste de Kruskal Wallis y contraste Múltiple de Rangos (método de Tukey para 95% de confianza) con el software StatGraphics Plus (versión 5.1 copyright 2002).

**Variación morfológica:** Se utilizaron 60 moscas por sexo y población tomadas al azar de los cruces intrapoblacionales (control) y se sumergieron por tres días en KOH 1N de acuerdo a las modificaciones realizadas por Prieto (2006) al método de Brower (1996a y 1996b), posteriormente se realizó el registro de imágenes de la mancha abdominal en estereoscopio con aumento de 5X y del ala y los claspers en microscopio con aumento de 10X, para la obtención de los genitales internos, se realizó la disección del abdomen y se limpió el *aedeagus* con agujas de disección e inmediatamente, se fotografiaron en microscopio de luz Carl Zeiss con el objetivo de 40X. Todas las fotografías digitales se tomaron con cámara Kodak 603 de 6,1 MP.

**Morfometría tradicional:** A partir de las fotografías de los claspers (genitales externos) de 20 machos de cada población se realizó el conteo del número de cerdas y se aplicó la prueba U de Mann Whitney usando el software Past (versión 1,38 copyright Hammer y Harper 2005).

Se midió de extremo a extremo el *aedeagus* de 20 machos y el ala derecha de 20 individuos por sexo, desde la base hasta el ápice de la vena M, en el programa MacBiophotonics ImageJ (versión 1,39o, 2008) y los datos obtenidos fueron analizados mediante la prueba U de Mann Withney en el programa Past (versión 1,38).

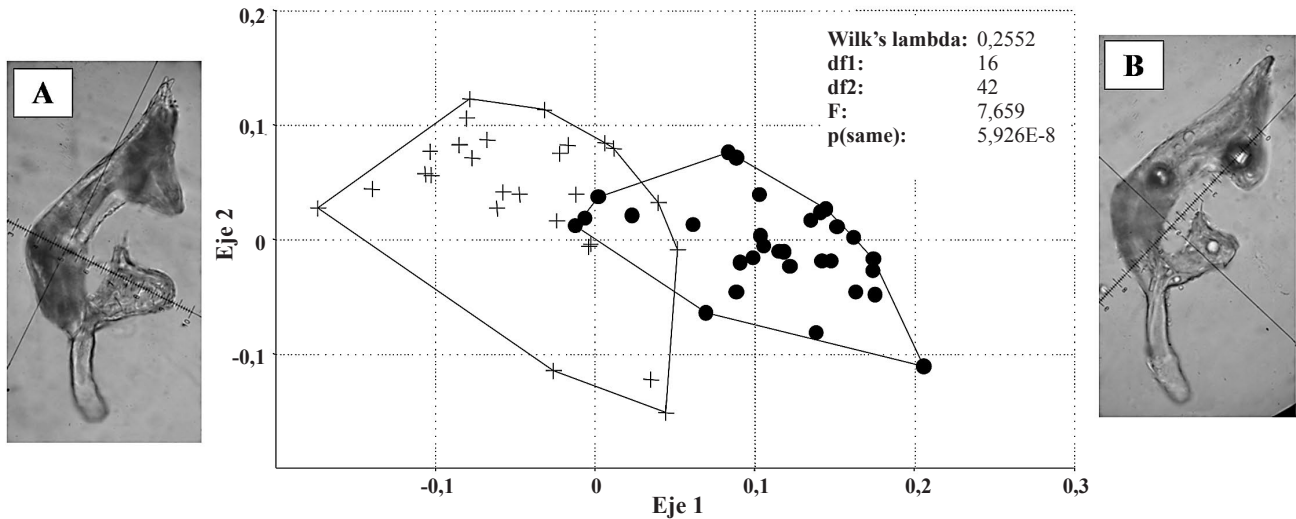
**Morfometría geométrica:** Se utilizó la figura del contorno de los genitales internos de 28 machos adultos que se procesó en el paquete TPSserie (versión 1,37) y EFAwin (copyright Rohlf y Ferson) aplicando 5 armónicas. Para el contorno de la mancha y el ala derecha de 20 individuos por sexo y población, se aplicaron 4 armónicas. En el análisis estadístico para el método "Outline" las matrices obtenidas a través de los coeficientes de Fourier, se analizaron utilizando MANOVA-CVA en el programa Past (versión 1,38 copyright Hammer y Harper 2005) y su significancia estadística se estableció mediante el índice de Shapiro Wilk.

## Resultados y Discusión

### Determinación del aislamiento reproductivo post-cigótico

El contraste de Kruskal Wallis realizado a los datos de descendencia de los cruces intra e interpopulacionales de *Drosophila mercatorum* del Desierto de la Tatacoa y el Valle del Patía, reveló que no se presentan diferencias significativas en el número de descendientes machos ( $P=0,141$ ) ni hembras ( $P=0,131$ ) de acuerdo al tipo de cruce realizado lo que indica que ninguna de las vías de fertilidad, masculina o femenina, ha sido afectada aun a pesar de la acumulación de variabilidad propia de cada población asociada con el aislamiento geográfico y las diferencias que pueden observarse en otras características como la forma del aedeago y la mancha abdominal.

Aunque los resultados del análisis global muestran que ninguno de los cruces interpopulacionales en *D. mercatorum* manifiesta incapacidad reproductiva independientemente de la procedencia del macho o de la hembra, se encontró disminución en el número de descendientes respecto al control principalmente en los cruces entre los híbridos interpopulacionales y estos con parejas de sus poblaciones de origen (retrocruzas), cuyos resultados son estadísticamente significativos (Tabla 1) lo cual probablemente se relaciona con la presión exogámica en las poblaciones y puede ser evidencia



**Figura 3.** Análisis Morfométrico del Contorno de los Genitales Internos de *Drosophila mercatorum* Desierto de la Tatacoa y Valle del Patía. + A. *D. mercatorum* Tatacoa • B. *D. mercatorum* Patía.

del inicio del aislamiento reproductivo, que de mantenerse y acentuarse, llevaría a un proceso de formación de subespecies o especies (Mayr 1942, Hey *et al.* 2005). Esto concuerda con lo reportado para *D. starmeri* que presenta una reducción en el número de híbridos interpoblacionales provenientes de los cruces entre individuos de Santa Marta (Magdalena) y Tatacoa (Rojas 2001), así como diferencias a nivel precigótico que ocasionan disminución en los híbridos o probabilidades nulas de apareamientos entre individuos de Santa Marta (Magdalena), Camarones (Guajira), Tatacoa (Huila), Los Vados (Norte de Santander) y La Vega (Cundinamarca) (Betancourt 2007).

Dada la disminución en los híbridos interpoblacionales, podría pensarse que la distancia obligada mayor a 300km entre las dos regiones (Valle del Patía y Tatacoa), ha permitido que las poblaciones presenten diferenciación genética que aun no es tan acentuada al no impedir la generación de híbridos fértiles, pero que sí refleja un proceso activo de formación de razas.

**Genitales.** La prueba U de Mann-Whitney para el análisis interpoblacional no mostró diferencias estadísticamente significativas ( $P=0,8$ ) en el número de cerdas de los claspers (genitales externos), lo cual indica ausencia de variación y una compatibilidad completa para la sujeción y/o estimulación de la hembra de cualquiera de las poblaciones analizadas. En *D. mercatorum* de Tatacoa se encontró un rango más amplio, de entre 10 y 13 cerdas, lo cual indica la existencia de mayor variación intrapoblacional que en la población del Patía donde se encontró entre 10 y 11 cerdas.

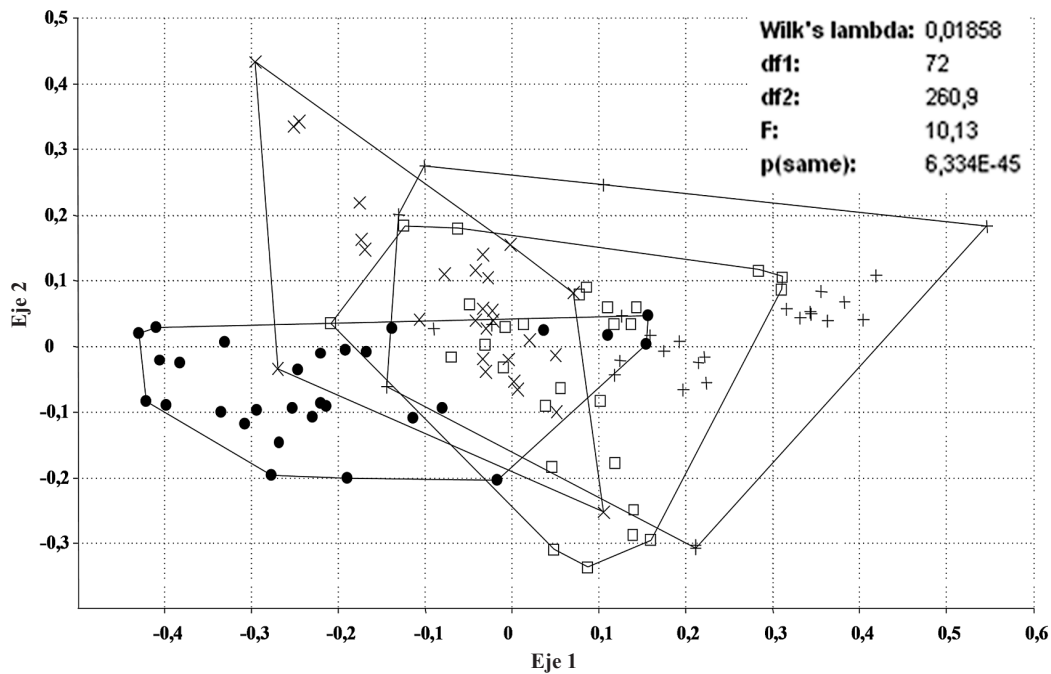
El índice de Shapiro Wilk muestra diferencias significativas ( $P<0,001$ ) para el análisis de la forma de los genitales internos de los machos de las dos poblaciones de *D. mercatorum* (Fig. 3), la variación morfológica de los individuos puede darse como consecuencia de la existencia de un acervo genético particular de cada población por la imposibilidad de flujo causada por el aislamiento geográfico, siendo el inicio de una divergencia evolutiva, pero que al ser gradual, no es aun tan marcada como para impedir la cópula y fertilización, es decir, aun no existe aislamiento precigótico de tipo mecá-

nico que impida la fecundación del óvulo (Futuyma 1998, Rojas 2001).

El hecho de que haya existido descendencia fértil indica que no hay variaciones drásticas en la conducta de las moscas o en la afinidad de los gametos. Ecológicamente, también presentan comportamientos similares en cuanto al hábitat que explotan en ecosistemas semiáridos y el uso de cactus como nicho trófico (Wasserman y Wilson 1957). Aunque no se tomaron datos de cortejo o conductas que evidencien la existencia de preferencia en cuanto a la atracción por machos o hembras de la propia población en *D. mercatorum*, la existencia de descendencia demuestra que independientemente de la población de origen los individuos tienen posibilidad de cruzarse. Buena parte de la evolución de las especies se expresa en cambios morfológicos, por tanto, es posible que la divergencia morfológica de las poblaciones de *D. mercatorum* del Desierto de la Tatacoa y del Valle del Patía se vean reflejados a través de las variaciones en la forma de los genitales internos (aedeagus).

La divergencia evolutiva rápida de la morfología genital masculina representa una de las tendencias más notables en animales con fertilización interna (Arnquist 1998), por esto, los órganos genitales proveen caracteres taxonómicos útiles para distinguir entre organismos en el nivel de especies donde ningún otro rasgo morfológico es válido (Eberhard 1985), sin embargo, la diferencia entre las dos poblaciones indica la posibilidad de un proceso de divergencia morfológica aun no acentuado entre las mismas, por lo que se concluye que se trata de la misma especie, con un grado de variación que no logra el *aislamiento reproductivo*.

En el análisis morfométrico tradicional del tamaño de los genitales internos de *D. mercatorum*, se encontró que los machos del Valle del Patía presentan un aedeagus de mayor tamaño ( $0,32\text{mm} \pm 0,005$ ) que los de Tatacoa ( $0,304\text{mm} \pm 0,012$ ) y pese a que esta diferencia es estadísticamente significativa según la prueba U de Mann-Whitney ( $P=0,0014$ ) se produjo descendencia en todos cruces por lo tanto se asume que existe compatibilidad para la cópula y fertilización.



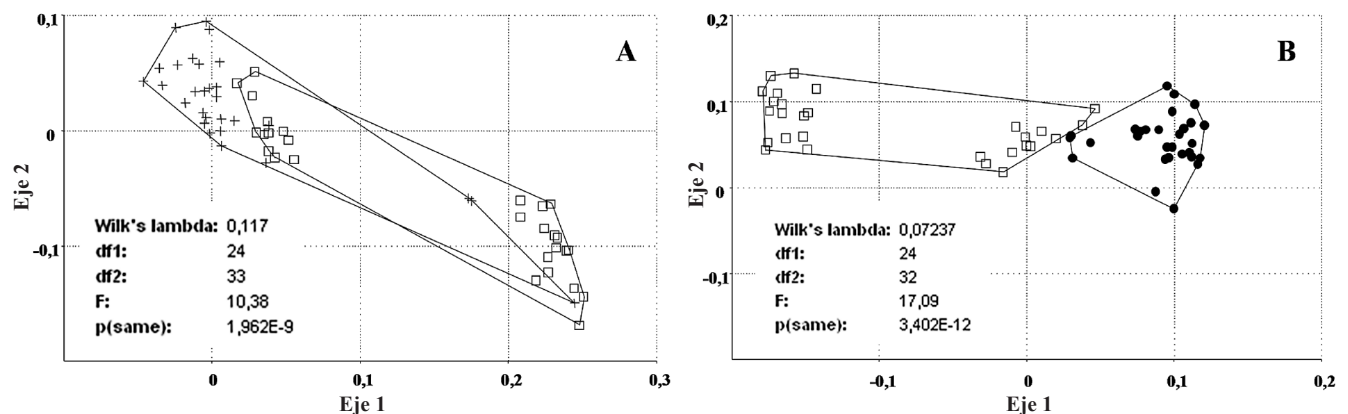
**Figura 4.** Comparación de la forma del aedeago de las dos poblaciones de *D. mercatorum* y sus híbridos. ● *D. mercatorum* Patía + *D. mercatorum* Tatacoa. □ Híbridos A1 (♀Patía x ♂Tatacoa) x Híbridos A2 (♀Tatacoa x ♂ Patía).

Además del análisis morfométrico de los genitales de los individuos de cada población de *D. mercatorum*, se realizó la comparación de la forma de los aedeagos de los híbridos resultantes de las cruza interpoblacionales: A1= hembras (Patía) x machos (Tatacoa) y A2= hembras (Tatacoa) x machos (Patía).

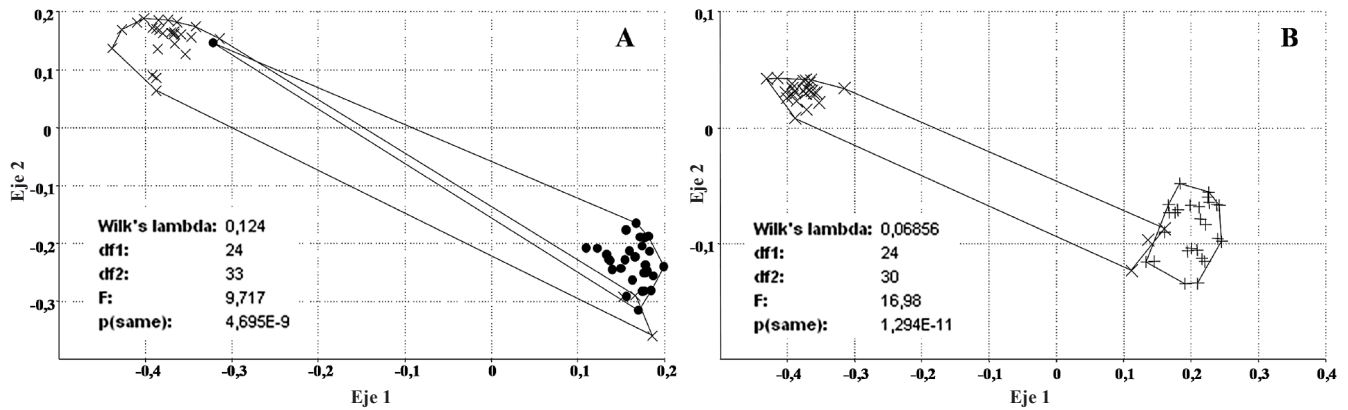
Aunque existe diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0,001$ ) en la forma del aedeago de los híbridos y las poblaciones parentales (Fig. 4), se observa que los híbridos A1 presentan una mayor cercanía morfológica con la población de Tatacoa, lo cual es más evidente en la figura 5A donde los individuos híbridos A1 se solapan con los de Tatacoa ( $P < 0,001$ ), mientras que al compararlos con los machos de Patía, no se observa una zona de intersección (Fig. 5B,  $P < 0,001$ ).

En la figura 6A se evidencia la agrupación entre los híbridos A2 con la población de Patía donde a pesar de la diferencia significativa en la comparación ( $P < 0,001$ ), existe una zona de unión, a diferencia de lo observado en la figura 6B donde hay una mayor separación entre los híbridos A2 y la población de Tatacoa ( $P < 0,001$ ).

Se destaca la presencia de algunos puntos extremos en las representaciones graficas, dado que el método utilizado (elipses de Fourier) permite eliminar el sesgo de tamaño y posición de los contornos, estos datos pueden indicar que la población no es homogénea y presenta polimorfismo, dichos individuos con “fenotipos extremos” pueden desencadenar procesos microevolutivos (Gienapp, *et al* 2008), este comportamiento de los datos es más evidente en los híbridos A1 donde se observa una división equilibrada (11 y 16 individuos).



**Figura 5.** Comparación de la forma del aedeago de los híbridos A1 respecto A. *D. mercatorum* de a) Tatacoa y B. Patía. ● *D. mercatorum* Patía + *D. mercatorum* Tatacoa. □ Híbridos A1 (♀Patía x ♂Tatacoa).



**Figura 6.** Comparación de la forma del aedeago de los híbridos A2 respecto a *D. mercatorum* de **A.** Patía y **B.** Tatacoa. ● *D. mercatorum* Patía + *D. mercatorum* Tatacoa x Híbridos A2 (♀Tatacoa x ♂ Patía).

El hecho de no presentarse una morfología completamente intermedia entre los híbridos interpoblacionales puede asociarse al componente genético distinto de los híbridos respecto al que puede presentarse en cada uno de los parentales, teniendo en cuenta que el resultado fenotípico para este carácter depende de las múltiples interacciones de los genes responsables de la forma en esta estructura y la combinación específica que resulta de la herencia de los dos genomas distintos (Soto 2008).

**Mancha abdominal.** Teniendo en cuenta el componente genético asociado con la pigmentación en las especies de *Drosophila* (Brisson *et al* 2004) y con el fin de tener evidencias de la variación genética de las dos poblaciones de *D. mercatorum* en este carácter, se realizó el análisis morfométrico de la mancha abdominal, encontrando que esta no presenta diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las poblaciones entre sexos (Shapiro Wilk's  $P=0,085$  para la población de Tatacoa y  $0,084$  para la población de Patía).

En la figura 7A se observa que los machos de ambas poblaciones no presentan diferencias estadísticamente significativas en la forma de la mancha abdominal ( $P=0,07$ ), por lo tanto, este es un carácter que además de no variar entre sexos intrapoblacionalmente, tiene la misma forma en los machos en comparaciones interpoblacionales, sin embargo, en la figura 7b la comparación interpoblacional de las hembras muestra diferencias significativas ( $P=0,003$ ) lo que posiblemente es evidencia de la diferenciación genética entre las dos poblaciones que para esta estructura es muy baja y por tanto, no permite distinguir a que población pertenece cada individuo.

Rocha, *et al* (2009), asocian la pigmentación de *D. medio-punctata* con la variación en la temperatura y muestran que el patrón de expresión fenotípica depende del valor fenotípico

promedio, además de los genes de plasticidad y su importancia en la selección natural y no encuentran una asociación con la presencia de diferentes inversiones cromosómicas. David, *et al* (2005) asocian una menor pigmentación con temperaturas altas en tanto que el aumento de la pigmentación se da como respuesta adaptativa a ambientes más fríos.

Estos resultados son similares a los encontrados por Prieto (2006), donde la variación de la pigmentación abdominal y las manchas torácicas entre las poblaciones de *D. martensis* colectadas en Camarones y Santa Marta (Colombia), presentaron poca variabilidad indicando que es un carácter poco discriminante. También puede atribuirse la baja variabilidad al control de variables ambientales en el laboratorio, teniendo en cuenta que la pigmentación del abdomen en las especies de *Drosophila* presenta variación asociada a las condiciones ecológicas en las poblaciones naturales, pues tiene un componente genético que contribuye adaptabilidad en ambientes cambiantes (Brisson 2004).

**Morfometría del ala.** La comparación de la forma del ala de los machos de *Drosophila mercatorum* (Fig. 8) no muestra variación entre las dos poblaciones de Tatacoa y Patía, siendo, al igual que la mancha, un carácter que presenta una forma estable. Respecto al tamaño la prueba de Kruskal Wallis indica que existen diferencias significativas en los tamaños de las alas en al menos uno de los grupos de individuos comparados ( $P<0,001$ ) lo cual se corrobora con la prueba U de Mann Whitney (Tabla 2) donde los machos de Tatacoa son similares en tamaño a los del Patía (2,05–2,3 mm) pero presentan diferencias en todas las comparaciones con las hembras, igualmente las hembras de Tatacoa son similares a las del Patía (2,25–2,45mm), pero se diferencian de los machos en todas las comparaciones.

**Tabla 2.** Prueba U de Mann Whitney para tamaño del ala de *D. mercatorum* (Patía vs Tatacoa).

	♂T vs ♀T	♂P vs ♀P	♂P vs ♀T	♂T vs ♀P	♂P vs ♂T	♀P vs ♀T
N	15	15	15	15	15	15
T=Ub	16	44	22	44	89	75
Valor P	6,84E-05	0,004795	0,0001892	0,004795	0,3401	0,1249

♂: Macho, ♀: Hembra, P: Patía, T: Tatacoa.

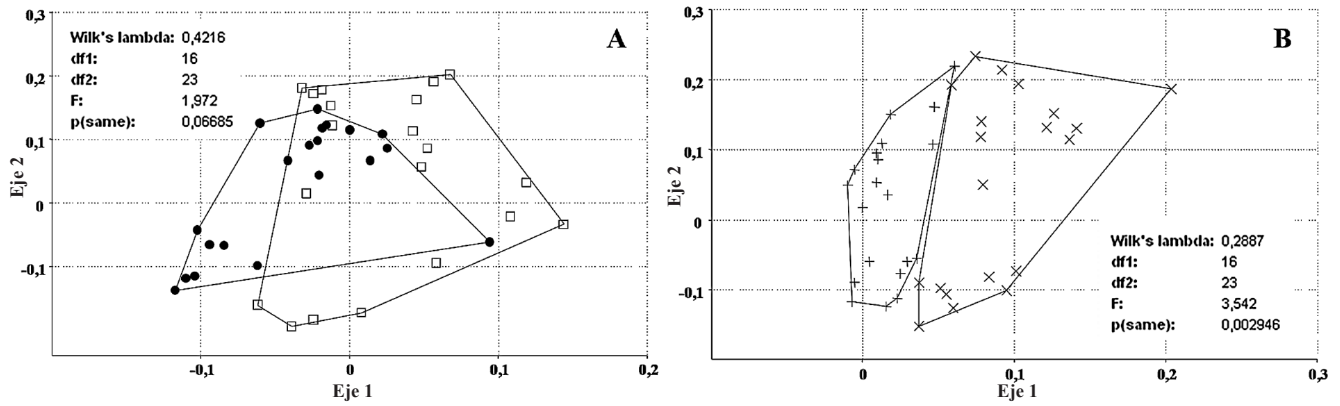


Figura 7. Comparación de la forma de la mancha abdominal entre poblaciones por sexos. ● Machos Tatacoa □ Machos Patía + Hembras Tatacoa x Hembras Patía.

Hay evidencias que indican que diferentes aspectos del ala (tamaño y forma) de especies del género *Drosophila* son blanco de la selección natural, comprobadas en estudios de variación clinal (Gilchrist *et al.* 2004) y relación con el cactus hospedador (Soto *et al.* 2008), por lo tanto es un carácter importante para evidenciar variación genética y relación con el ambiente, sin embargo, dicha variación principalmente atribuida a la plasticidad no se presenta dadas las condiciones controladas en laboratorio.

Teniendo en cuenta que el tamaño del ala es usado para estimar el tamaño del cuerpo, se puede asumir que no hay diferencias en el tamaño de los individuos del mismo sexo entre poblaciones. En la comparación entre sexos se destaca que, al igual que en muchas especies de insectos, las hembras son más grandes que los machos, por lo tanto, esta es una característica que puede representar dimorfismo sexual.

Para la población de *D. mercatorum* del Desierto de la Tatacoa, la correlación canónica del tamaño del aedeagus y el ala

es de 0,9 y para el Valle del Patía es de 0,66 mostrando una correlación positiva en las dos poblaciones (Tabla 3), esto indica que la variación en el tamaño del aedeagus puede atribuirse en parte a la del cuerpo y el resto de su variación puede deberse a otras causas como la pleiotropía o la selección.

**Análisis evolutivo.** En los cruces interpoblacionales de *D. mercatorum* el contraste múltiple de rangos, muestra diferencias significativas en algunos cruces de los híbridos entre sí o con su población de origen, lo cual puede resultar de la presión exogámica o la divergencia genética de las poblaciones asociada a procesos evolutivos particulares, como mutaciones no compartidas por la falta de flujo genético y que al reunirse en los individuos híbridos pueden generar cierto aislamiento gamético.

La forma del aedeagus de los machos híbridos no fue fenotípicamente intermedia respecto a las poblaciones de origen y su afinidad morfológica varió según el tipo de cruce, es

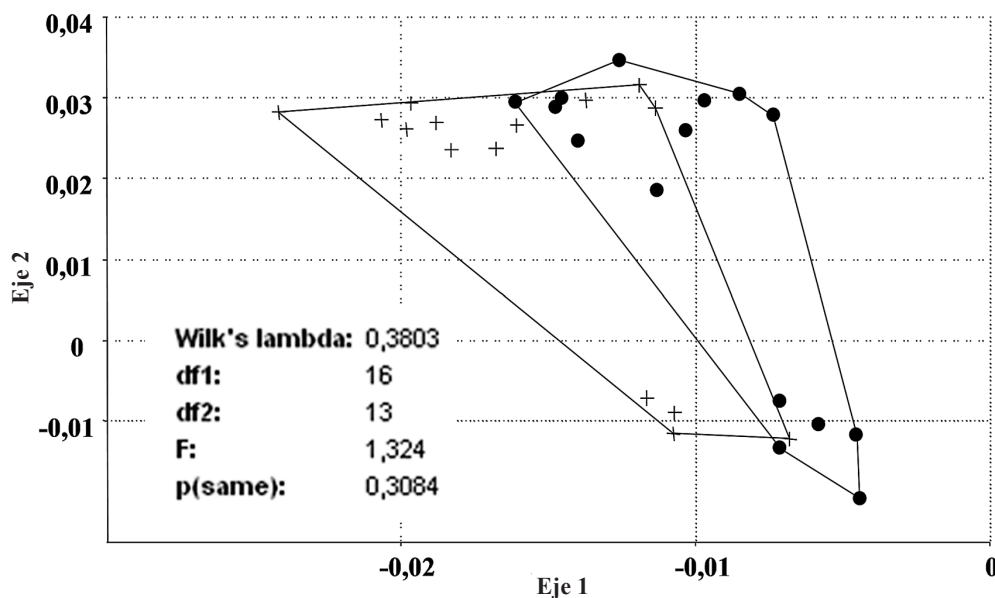


Figura 8. Comparación interpoblacional de la forma del ala de los machos de *D. mercatorum* de Tatacoa y Patía. ● Machos Tatacoa + Machos Patía.

**Tabla 3.** Correlaciones canónicas para tamaño del ala y el aedeago de *D. mercatorum*.

	Nº	Autovalor	Correlación canónica	Wilks Lambda	Chi-cuadrado	G.I.	P-Valor
Tatacoa	1	0,807407	0,89558	0,192593	28,8256	1	7,44E-08
Patía	1	0,431178	0,656641	0,568822	9,87327	1	0,001661

Número de casos completos: 20 por población. 95% de nivel de confianza.

decir, los híbridos fueron morfológicamente más similares a la población de donde provenía el padre, siendo: los híbridos A1 más parecidos a la población de Tatacoa y los híbridos A2 a la de Patía. Estos resultados son incompatibles con la idea de que las diferencias en la morfología de órganos genitales propios de los machos se deben a poligenes con efectos aditivos pequeños y que dan como resultado formas intermedias en los aedeagus de los híbridos, reportada por Coyne y Orr (2004) para *D. simulans* y *D. mauritiana*, sin embargo, los autores admiten algún grado de dominancia y epistasis que puede mostrar una tendencia de similitud de los genitales de los híbridos con uno de sus parentales. Estas diferencias en los resultados pueden deberse a que existan diferencias en el tiempo de divergencia entre los miembros de los dos grupos de especies.

Otro argumento para el agrupamiento de los híbridos con las poblaciones de las que proviene el macho usado en el cruce es la posible relación de los genitales internos con genes del cromosoma sexual Y, con posibles inversiones en los cromosomas autosómicos no compartidas entre las poblaciones o con una arquitectura genética más compleja, como ha sido reportado para *D. koepferae* y *D. buzzatii* (Soto *et al.* 2007). Es importante mencionar que los híbridos A2 presentaron una agrupación alejada de los parentales indicando posible variación genética debida a la distinta combinación de los genes de las poblaciones parentales.

La forma de la mancha y las alas no revelan diferenciación genética entre las poblaciones de *D. mercatorum*, así mismo, el tamaño del ala como estimativo del tamaño del cuerpo, tampoco presenta diferencias interpoblacionales en comparaciones de individuos del mismo sexo, sin embargo, el tamaño de las hembras es mayor al de los machos lo cual puede tomarse como un carácter de dimorfismo sexual.

La evolución requiere la sucesión de una serie de hechos que generalmente se hallan distribuidos en un periodo considerable de tiempo por lo que resulta difícil determinar todos y cada uno de estos (Prieto 2006). En este trabajo se señalan algunas evidencias del cambio fenotípico de las poblaciones geográficamente aisladas (Tatacoa y Valle del Patía), que está dado por la variación inter-poblacional que se manifestó en la reconstrucción geométrica de la forma del aedeagus, la medición de su tamaño y el conteo de claspers. Teniendo en cuenta que en el caso de los análisis presentes el ambiente está controlado bajo las condiciones del laboratorio y todas las especies y poblaciones se mantuvieron bajo el mismo tratamiento (temperatura, medio de cultivo, horas de luz/oscuridad, etc), se puede afirmar que dicha variación se debe en mayor parte al componente genético.

Para explicar la evolución de órganos genitales masculinos se han discutido tres hipótesis principales, la hipótesis llave-cerradura (Eberhard 1985, Arnqvist 1998), pleiotropía (Mayr 1963) y selección sexual (Eberhard 1985). Para argumentar qué tipo de hipótesis explica mejor la evolución de

las poblaciones estudiadas, se tiene en cuenta la existencia o no de variación morfológica y correlaciones entre aedeagus y otras características del cuerpo de los individuos por población.

La hipótesis de llave-cerradura propone que el desarrollo de los órganos genitales debería ser altamente canalizado, por lo tanto, se esperaría muy poca variación fenotípica en los rasgos genitales debido a la selección direccional, muy poca plasticidad y además, deben ser relativamente independientes de otros rasgos, como el tamaño del cuerpo; por lo tanto se esperaría bajas correlaciones entre estas características, esto es descartado en este trabajo porque en ambas poblaciones de *D. mercatorum* se presenta alta variabilidad y politipismo, además, existió una correlación positiva en el tamaño del las alas y el aedeagus. Teniendo en cuenta que la variación intra e interpoblacional de la forma y el tamaño del aedeagus es incluso mayor a la de otros caracteres no sexuales (alas y manchas), y que además existió correlación positiva en el tamaño del aedeagus y del ala es posible apoyar la hipótesis de pleiotropía según la cual, los órganos reproductivos tienen correlaciones positivas respecto a otros órganos no relacionados que dependen del mismo gen y por tanto, se ven afectados por el proceso selectivo.

Según la hipótesis de selección sexual, la variación en los rasgos relativos a los genitales está relacionada con el éxito del macho en la fertilización, competencia entre los machos y elección propia de las hembras, lo que sugiere que los rasgos bajo selección sexual muestran variabilidad fenotípica alta. Los resultados de este trabajo se ajustan a esta teoría, puesto que la variabilidad de la forma del aedeagus a nivel intra e interpoblacional fue más alta que la de las alas y las manchas, resultados similares se han reportado en especies del género *Hystriochophora* (Lepidoptera: Tortricidae) donde los órganos genitales presentan una alta variación morfológica intraespecífica lo cual apoya la hipótesis de selección sexual y rechaza la hipótesis de llave-cerradura (Gilligan & Wenzel 2008).

En esta investigación se presentó correlación en el tamaño del aedeago y el ala, lo cual no se esperaría según la hipótesis de selección sexual, aunque dicha correlación no es necesariamente imposibilitada, puesto que es una teoría muy permisiva debido a que depende del tipo de selección que actúe y de la posibilidad de que existan inversiones cromosómicas influyendo en los caracteres morfológicos. Para *D. mediopunctata* se ha reportado correlación altamente positiva entre el tamaño del cuerpo medido usando como parámetro el ala y el aedeago, de acuerdo a esto, los autores proponen que para esta especie la evolución de los genitales se ajusta a la hipótesis de pleiotropía y de selección sexual (Andrade *et al.* 2009). Arnqvist *et al.* (1997) encontraron correlaciones positivas en el tamaño de los genitales de *Gerris incognitus* y el tamaño del cuerpo y las patas, lo cual evidencia que la morfología de los genitales no fue altamente canalizada como supone la hipótesis de llave-cerradura sino que su evo-



lución se explica mejor según la hipótesis de selección sexual y de pleiotropía.

Las poblaciones de *Drosophila mercatorum*, a pesar de presentar diferencias significativas en la forma del aedeagus, se cruzaron exitosamente y generaron descendencia fértil, en la cual se destaca que el número de individuos híbridos inter-poblacionales fue similar al estandarizado, pero presentó disminución en los cruces entre híbridos y las retrocruzas, dicha disminución podría explicarse por la acumulación de variación propia de cada población, que da como resultado la iniciación del surgimiento de barreras reproductivas post-cigóticas que afecten la viabilidad de los híbridos. El hecho de no encontrar una forma intermedia en los aedeagos de los híbridos respecto a las poblaciones de origen, sino una agrupación separada y con mayor parecido al cruce donde se encontraba el progenitor macho, hace pensar que existen diferencias importantes en los genes, posiblemente del cromosoma Y entre las poblaciones, y que además, la interacción de genes autosómicos en combinaciones diferentes pueden influir en dicha estructura y generar la diferenciación significativa en la forma.

### Agradecimientos

Al Sistema de Investigaciones VIPRI de la Universidad de Nariño por el financiamiento de la fase de campo en el curso Alberto Quijano Guerrero. A los grupos de investigación en Genética de Poblaciones y evolución de las Universidades del Tolima y los Andes. Al Dr. Ignacio Soto del departamento de Ecología, Genética y Evolución de la Universidad de Buenos Aires.

### Literatura citada

- ANDRADE, C.; VIEIRA, R.; ANANINA, G.; KLACZKO, L. 2009. Evolution of the male genitalia: morphological variation of the *aedeagi* in a natural population of *Drosophila mediopunctata*. *Genética* 135(1): 13-23.
- ARNQVIST, G. 1998. Comparative evidence for the evolution of genitalia by sexual selection. *Nature* 393: 784-786.
- ARNQVIST, G. 1997. The evolution of water strider mating systems: causes and consequences of sexual conflicts. En: Choe, J.C.; Crespi, B.J. (eds). *The evolution of mating systems in insects and arachnids*. Cambridge University Press. 387 p.
- ARNQVIST, G.; THORNHILL, R.; ROWE, L. 1997. Evolution of animal genitalia: morphological correlates of fitness components in a water strider. *Journal of Evolutionary Biology* 10: 613-640.
- BETANCOURT, L. 2007. Aislamiento Reproductivo en Poblaciones Alopátricas Colombianas de *Drosophila starmeri*. Tesis Maestría. Universidad de los Andes, Instituto de Genética. Bogotá, Colombia. 69 p.
- BRISSON, J.; TEMPLETON, A.; DUNCAN, I. 2004. Population Genetics of the Developmental Gene *optomotor-blind* (*omb*) in *Drosophila polymorpha*: Evidence for a Role in Abdominal Pigmentation Variation. *Genetics* 168: 1999-2010.
- BROWER, A. 1996a. Parallel race formation and the evolution of mimicry in *Heliconius* Butterflies: a phylogenetic hypothesis from mitochondrial DNA sequences. *Evolution* 50(1): 195-222.
- BROWER, A. 1996b. A new mimetic species of *Heliconius* (Lepidoptera: Nymphalidae), from southeastern Colombia, revealed by cladistic analysis of mitochondrial DNA sequences. *Zoological Journal of the Linnean Society of London* 116: 317-332.
- COYNE, J.; ORR, A. 2004. *Speciation*. Sinauer Associates, Inc., Massachusetts, USA. 545 p.
- DAVID, JR.; GIBERT, P.; LEGOUT, H.; PÉTAVY, G.; CAPY, P.; MORETEAU, B. 2005. Isofemale lines in *Drosophila*: an empirical approach to quantitative traits analysis in natural populations. *Heredity* 94: 3-12.
- DE POLANCO, M. 1997. Guía teórico-práctica para el estudio de la genética. Universidad del Tolima.
- EBERHARD, W. 1985. *Sexual Selection and Animal Genitalia*. Harvard University Press, Cambridge, USA. 256 p.
- FERNÁNDEZ, C.; RUANO, J.; GONZÁLES, J. 2001. La existencia de diferencias en el cortejo no garantiza su intervención en el aislamiento reproductor en dos arañas lobo (*Lycosa*, Araneae, Lycosidae). *Madrid, España. Etología*, 9: 1-8.
- FUTUYMA, D. 1998. *Evolutionary Biology*. 3rd edition, Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts: 763 p.
- GIENAPP, P.; TEPLITSKY, C.; ALHO, S.; MILLS, A. 2008. Climate change and evolution: disentangling environmental and genetic responses. *Molecular Ecology* 17: 167-178.
- GILLIGAN, T.; WENZEL, J. 2008. Extreme intra-specific variation in *Hystrichophora* (Lepidoptera: Tortricidae) genitalia - questioning the lock-and-key hypothesis. *Annales Zoologici Fennici*. 45: 465-477.
- GILCHRIST, G.; HUEY, R.; BALANYÀ, J.; PASCUAL, M.; SERRA, A. 2004. A time series of evolution in action: A latitudinal cline in wing size in South American *Drosophila subobscura*. *Evolution* 58: 768-780.
- HEY, J.; FITCH, W.; AYALA, F. 2005. Systematics and the origin of species: An introduction. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102: 6515-6519.
- KING, L. 2003. The Evolution of Insect Mating Structures through Sexual Selection. *Florida Entomologist* 86(2): 124-133.
- MAYR, E. 1942. *Systematics and the Origin of Species*. Columbia University Press, New York, USA. 334 p.
- MAYR, E. 1963. *Animal Species and Evolution*. Harvard University Press. New York, USA. 797 p.
- PRIETO, R. 2006. Análisis morfométrico (tradicional y geométrico) de las alas y los patrones de pigmentación dorsal de cuatro especies del grupo *repleta*. Tesis de Maestría Biología, Universidad del Tolima, Ibagué. 110 p.
- ROCHA, F.; MEDEIROS, H.; KLACZKO, LB. 2009. The reaction norm for abdominal pigmentation and its curve in *Drosophila mediopunctata* depend on the mean phenotypic value. *Evolution* 63: 280-287.
- ROJAS, A. 2001. Análisis del Aislamiento reproductivo en las especies cactofílicas del Cluster *martensis*, en dos regiones Colombianas (Costa Norte y Desierto de la Tatacoa). Tesis Maestría. Instituto de Genética, Universidad de los Andes. Bogotá. 105 p.
- SANS DE LA ROSA, M.; MORENO-ROSSI, A.; BUSTOS, E. 1987. Nuevo medio de cultivo para las especies de *Drosophila starmeri*, *Drosophila uniseta*, *Drosophila martensis*, y *Drosophila venezolana* del grupo *repleta* del enjambre *martensis*, recientemente colectadas en los desiertos de la Guajira Colombiana. *Evolución Biológica* 2: 305-306.
- SIMÓ, M.; SEGUÍ, R.; PÉREZ-MILES, F. 2002. The copulatory organs of the cryptic species *Lycosa thorelli* and *Lycosa carbonelli* and their hybrid progeny, with notes on their taxonomy (Araneae, Lycosidae). *The Journal of Arachnology* 30: 140-145.
- SOTO, I.; CARREIRA, V.; FANARA, J.; HASSON, E. 2007. Evolution of male genitalia: environmental and genetic factors affect genital morphology in two *Drosophila* sibling species and their hybrids. *BMC Evolutionary Biology* 7: 77.
- SOTO, I.; CARREIRA, V.; HASSON, E. 2008. Wing morphology and fluctuating asymmetry are dependent of the host plant in cactophilic *Drosophila*. *Journal of Evolutionary Biology* 21: 598-609.
- SOTO, I. 2008. Evolución morfológica asociada al proceso de divergencia entre especies: el cluster *Drosophila buzzatii* (Diptera, Drosophilidae). Tesis Doctoral. Departamento de Ecología, Genética y Evolución. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina. 234 p.
- WASSERMAN, M. 1982. Evolution and speciation in selected groups: the *repleta* species group. *The genetics and biology of Drosophila* 3(b): 61-139.
- WASSERMAN, M.; WILSON, F. 1957. IX Further studies on the *repleta* group. *University Texas Publications* 5721: 132-156.