

Tesis de Posgrado

Explotación diferencial de los recursos en especies cactófilas de *Drosophila*

Fanara, Juan José

1995

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Fanara, Juan José. (1995). Explotación diferencial de los recursos en especies cactófilas de *Drosophila*. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2767_Fanara.pdf

Cita tipo Chicago:

Fanara, Juan José. "Explotación diferencial de los recursos en especies cactófilas de *Drosophila*". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1995. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2767_Fanara.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR AL TITULO DE DOCTOR EN
CIENCIAS BIOLÓGICAS

**“Explotación diferencial de los recursos en
especies cactófilas de *Drosophila*”**

Autor: Juan José Fanara

Directores: Dr. Esteban R. Hasson y Dr. Antonio
Fontdevila

Lugar de trabajo: GIBE. Departamento de Ciencias Biológicas.
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. UBA

-1995-

67
g 2

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más profundo agradecimiento al director de esta presenta tesis de doctorado: Dr. Esteban R. Hasson, por su guía y orientación científica y académica, por la supervisión y corrección de este trabajo y por haberme permitido realizarlo en su laboratorio.

Asimismo, quisiera agradecer al codirector de la presente tesis, Dr. Antonio Fontdevila, quien me brindó toda su colaboración y apoyo, así como supervisión científica y académica.

A la Lic. Constantina Reodríguez, por su desinteresada colaboración en el desarrollo de algunas partes de las investigaciones, por su constante aliento y sincera amistad.

No quisiera olvidarme, en estos momentos, de agradecer al Dr. Osvaldo A. Reig todos los consejos brindados en mis comienzos en la actividad científica.

A mis compañeros drosofilistas: Estrella, Pedro y Fabián quiero darles las gracias por su constante aliento y colaboraciones recibidas.

Quiero dejar constancia de mi agradecimiento a la Dra. Marta D. Mudry por la lectura desinteresada de esta tesis y las sugerencias realizadas.

por otra parte, deseo dejar expresado mi reconocimiento a los Dres. Juan C. Vilardi y Mauro Santos por su participación en la implementación de algunos experimentos.

Gracias a mis compañeros del GIBE por estos años de apoyo incondicional.

La presente tesis fue posible gracias al apoyo económico recibida de la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad de Buenos Aires a través de las Becas de Iniciación Y Perfeccionamiento otorgadas oportunamente.

Este trabajo fue financiado por la Universidad de Buenos Aires a través de subsidios otorgados por la Secretaría de Ciencia y Técnica a los Dres. O.A. Reig y E. R. Hasson y la Comisión Asesora de Ciencia y Técnica de España a través de subsidios otorgados al Dr. A. Fontdevila.

a Patricia
a Christian

RESUMEN

Las especies cactófilas *Drosophila buzzatii* y *D. koepferae* son sinmórficas y utilizan como recursos para oviponer y alimentarse los tejidos en descomposición de los cactus tanto en el desarrollo larvario como en la fase adulta.

Dado que hay heterogeneidad ambiental en los recursos, fundamentalmente por las diferencias existentes entre los tipos de cactus columnares y las opuntias así como las diferencias entre las especies en ambos casos, el objetivo de la presente tesis es estudiar la adaptación de las dos especies de *Drosophila* a los diferentes escenarios ecológicos y, a partir de este conocimiento determinar las posibles causas de la biodistribución de *D. buzzatii* y *D. koepferae*.

Para alcanzar este objetivo, el trabajo experimental se dividió en 3 partes: a) determinación del efecto de la heterogeneidad ambiental sobre un parámetro de vida de gran importancia adaptativa: el tamaño del tórax, y la correlación de este parámetro con el polimorfismo cromosómico en *D. buzzatii*; b) estudio del efecto de la heterogeneidad ambiental en el mantenimiento del polimorfismo cromosómico de *D. buzzatii* en una población natural donde los potenciales hospedadores son *Opuntia quimilo* y *O. ficus-indica* y c) análisis de la selección de habitat entre las especies *D. buzzatii* y *D. koepferae* en la población de Ruinas de Quilmes en la que se encuentra *O. sulphurea* y *T. terschekii* (columnar).

De acuerdo a los resultados obtenidos, el tamaño del tórax de *D. buzzatii* mostró una relación significativa entre este carácter morfométrico con las inversiones cromosómicas y con componentes del fitness (longevidad) que sumado a la facilidad de la medición, hacen de este carácter una herramienta importante en los estudios ecogenéticos. En cuanto a los efectos de la heterogeneidad ambiental en el mantenimiento de la variabilidad, se demostró en *D. buzzatii* que los cariotipos no utilizan diferencialmente los recursos presentes en la población de Termas de Río Hondo: *O. quimilo* y *O. ficus-indica*. En cuanto a la capacidad de *D. buzzatii* y *D. koepferae* de colonizar opuntias y cactus columnares se observó que la misma es factible aunque se demostró que *D. buzzatii* preferiría las opuntias mientras que *D. koepferae* los columnares siendo estas diferencias explicadas por efectos de oviposición y viabilidad.

Agradecimientos.....	i
Resumen.....	iii
1. Introducción.....	1
1.1 Los procesos adaptativos.....	2
1.1.1 El cambio evolutivo.....	2
1.1.2 La adaptación.....	2
1.1.3 La selección natural y el Fitness.....	7
1.1.4 Los componentes del Fitness.....	10
1.1.5 Los parámetros de vida.....	12
1.2 Las especies estudiadas.....	16
1.2.1 El género <i>Drosophila</i> : generalidades y sistemática.....	16
1.2.2 El "cluster" <i>buzzatii</i>	21
1.2.3 <i>Drosophila buzzatii</i> y <i>D. koepferae</i>	22
1.3 Los polimorfismos de inversión en <i>Drosophila</i>	24
1.3.1 El carácter adaptativo de las inversiones.....	24
1.3.2 Polimorfismo cromosómico y parámetros de vida.....	32
1.3.3 Mecanismos de mantenimiento del polimorfismo cromosómico.....	33
2. Objetivos.....	39
3. Materiales y métodos.....	43
3.1 Las poblaciones estudiadas.....	44
3.2 Cepas de laboratorio.....	46
3.3 Medio de cultivo de laboratorio.....	46
3.4 Mantenimiento de las cepas y manipulación de los adultos.....	48
3.5 Obtención de huevos y larvas de primer estadio.....	48
3.6 Análisis de cromosomas politénicos.....	49
3.7 Parámetros de vida.....	50
3.8 Muestreo en poblaciones naturales.....	51
3.8.1 Captura de adultos.....	51
3.8.2 Recolección de sustratos de cría y alimentación.....	51
3.9 Diseños experimentales.....	52
3.9.1 Variación geográfica del tamaño y su correlación con el polimorfismo cromosómico en <i>D. buzzatii</i>	52
3.9.2 Efecto del tamaño del tórax sobre la longevidad en una población natural de <i>D. buzzatii</i>	52
3.9.3 Análisis de selección de hábitat y componentes de selección en <i>D. buzzatii</i> en la población de Termas de Río Hondo.....	53
3.9.4 Utilización del recurso en el par de especies cactófilas <i>D. buzzatii</i> y <i>D. koepferae</i>	56

3.9.4.1	Análisis de atracción y emergencias en la población natural.....	56
3.9.4.2	Determinación de parámetros de vida en el laboratorio.....	57
3.10	Análisis estadísticos.....	60
3.10.1	Transformaciones.....	60
3.10.2	Análisis de los datos.....	60
3.10.2.1	Variación geográfica del tamaño del tórax y su correlación con los polimorfismos cromosómicos.....	60
3.10.2.2	Efectos del tamaño del tórax sobre la longevidad en <i>D. buzzatii</i>	61
3.10.2.3	Selección de hábitat y análisis de componentes de selección (ACS) en una población natural de <i>D. buzzatii</i>	61
3.10.2.4	Explotación diferencial del recurso en <i>D. buzzatii</i> y <i>D. koepferae</i>	63
4.	Resultados.....	66
4.1	Variación geográfica del tamaño del tórax y su correlación con los polimorfismos cromosómicos.....	67
4.2	Efecto del tamaño del tórax sobre la longevidad en una población natural de <i>D. buzzatii</i>	68
4.3	Análisis de selección de hábitat y componentes de selección en <i>D. buzzatii</i> en la población de Termas de Río Hondo.....	70
4.4	Selección de hábitat en las especies cactófilas <i>D. buzzatii</i> y <i>D. koepferae</i>	73
4.4.1	Utilización del recurso.....	73
4.4.2	Estudios de los parámetros de vida: tiempo de desarrollo y tamaño del tórax.....	82
4.5	Aspectos biogeográficos de <i>D. buzzatii</i> y <i>D. koepferae</i>	85
5	Discusión.....	86
5.1	Variación geográfica del tamaño del tórax y su correlación con los polimorfismos cromosómicos.....	87
5.2	Efecto del tamaño del tórax sobre la longevidad en una población natural de <i>D. buzzatii</i>	91
5.3	Análisis de selección de hábitat y componentes de selección en <i>D. buzzatii</i> en la población de Termas de Río Hondo.....	97
5.4	Selección de hábitat en las especies cactófilas <i>D. buzzatii</i> y <i>D. koepferae</i>	103
6	Conclusiones.....	115
7	Bibliografía.....	120

1. INTRODUCCION

1.1 Los procesos adaptativos

1.1.1 El cambio evolutivo

La biología evolutiva es una ciencia extensa, que continúa en crecimiento. Los biólogos evolutivos realizan investigaciones en diversas disciplinas tales como la genética molecular, una disciplina joven y de gran impulso en estos últimos años, la morfología y la embriología, por nombrar algunas, que han acumulado sus descubrimientos desde hace mucho tiempo, acompañando a la biología evolutiva. Asimismo, los biólogos evolutivos trabajan con materiales tan diversos como compuestos químicos en tubos, el comportamiento animal en la naturaleza y colecciones de fósiles. Sin embargo, una simple y fácil idea de entender: evolución por selección natural, puede corroborarse en todas estas áreas.

La teoría de la evolución por selección natural es una de las más poderosas de toda la ciencia que, podría globalizar a la biología a punto tal que Theodosius Dobzhansky, uno de los biólogos evolutivos más reconocidos ha dicho que ... "En biología nada tiene sentido si no es visto a través del prisma de la evolución"...

La evolución significa cambio, cambio en la forma y comportamiento de los organismos entre generaciones. La forma de los organismos en todos los niveles desde la secuencia del ADN a la morfología macroscópica y el comportamiento social, se modifica respecto de ños antecesores. Pero, la modificación evolutiva es de una clase muy particular porque, depende de cambios ambientales externos y de innovaciones genéticas azarosas y por lo tanto, es impredecible

1.1.2 La Adaptación

Pocas ideas han modificado tanto el pensamiento humano como el concepto de evolución. La evolución se identifica con la evolución orgánica, pero ésta sólo es una parte de una visión más global que puede ser caracterizada como "evolucionismo" y, que modificó todas las ciencias naturales y sociales (Levins y Lewontin, 1985).

Son numerosas las definiciones de evolución que hay, dependiendo de la óptica de la disciplina desde la cual se trata de interpretar este

fenómeno. Así, por ejemplo, los genetistas de poblaciones frecuentemente definen la evolución como el cambio en la frecuencia de los alelos (Dobzhansky, 1951, citado por Lewontin, 1974), mientras que los evolucionistas moleculares (Dover, 1982) al igual que los morfólogos y paleontólogos se concentran en el origen de las variantes (Eldredge y Cracraft, 1980). Ambos grupos estarían viendo solo una parte de la evolución (Endler y McLellan, 1988).

Con una visión más global Endler y McLellan (1988) definen a la evolución como un proceso de dos pasos que consiste en: a) el origen de una nueva variante y b) el reemplazo de la vieja variante por la nueva. Los procesos y factores que afectan el origen no son muy diferentes de aquéllos que afectan el reemplazo. La evolución, se detendrá si cualquiera de los dos procesos no está presente.

Endler y McLellan (1988) clasifican a los procesos evolutivos en 6 grupos:

- 1- mutaciones
- 2- restricciones ("constraints"): eventos que restringen la variabilidad posible o probable
- 3- eventos que cambian las frecuencias de las variantes
- 4- procesos adaptativos
- 5- procesos que determinan la tasa de la evolución sin que necesariamente varíen dentro de las poblaciones (por ejemplo los elementos transponibles, especiación, entre otros)
- 6- procesos que determinan la dirección de la evolución sin que necesariamente varíen dentro de las poblaciones (por ejemplo conducción molecular o meiótica, mutualismo y parasitismo, entre otros).

Los procesos adaptativos se consideran un axioma biológico, puesto que si los organismos no están adaptados a su ambiente físico-químico y biológico, estos no sobreviven (Merrell, 1981). La adaptación puede ser

individual que es el resultado de la respuesta individual a los cambios ambientales, o poblacional, donde la población manifiesta la adaptación aún en ausencia de un estímulo ambiental.

El término adaptación es uno de los más difíciles de definir en biología a tal punto que Krimbas (1984) luego de realizar una muy rigurosa revisión de la etimología de este concepto propuso que el término adaptación se excluya de los textos científicos. Sin embargo, esta propuesta fué muy criticada por Wallace (1984) quien considera que el término es de muy amplia difusión y que la etimología es una cuestión secundaria siendo lo importante la investigación del proceso en si.

Más allá de concordar con Krimbas (1984) en que "sin el término claro no hay conceptualización de la noción", es posible distinguir tres términos: adaptabilidad ("adaptability"), adaptación y la acción de adaptarse ("adaptedness") (Dobzhansky, 1968 a y b; citado por Krimbas, 1984 y Endler, 1986a).

La adaptabilidad ("adaptability") se refiere al organismo o especie que puede permanecer o comenzar a adaptarse a un amplio rango de ambientes y sucedería por cambios en la plasticidad fenotípica de los individuos es decir, cambios en la norma de reacción (plasticidad fenotípica) de los genotipos. Futuyma (1986) define la norma de reacción como un grupo de expresiones fenotípicas de un genotipo determinado expuesto a diferentes condiciones ambientales. Como la norma de reacción de un carácter tiene base genética que puede ser seleccionada (Reznick y Bryga, 1987; Scheiner y Lyman, 1989; Hilleschein y Stearns, 1991) sería importante conocer la heredabilidad tanto de la plasticidad como del carácter en sí, porque si la heredabilidad de la plasticidad fuera mayor se esperaría un incremento en la plasticidad de los individuos como primera respuesta evolutiva ante una variación ambiental. Por el contrario si la plasticidad tuviera una menor heredabilidad se esperaría una evolución hacia la especialización (Scheiner y Lyman, 1989).

La adaptación ("adaptation") es el proceso de comenzar a estar adaptado o más adaptado, mientras que la acción de adaptarse ("adaptedness") es el grado en el cual un organismo es capaz de vivir y reproducirse en un determinado grupo de ambientes: el estado de ser adaptado, o en términos de fitness, es el fitness medio absoluto.

Según estos conceptos, la adaptación surgiría como resultado de la mutación y la selección (Endler, 1986b). Es decir que los cambios adaptativos ocurren como consecuencia del reemplazo de genes de pequeños efectos que se originan por mutación. Esta idea que según Mayr (1982) se habría originado con Darwin (1859), fue rebatida por Huxley (1860, citado por Orr y Coyne (1992) y continuó con el debate entre los genetistas mendelianos (por ejemplo Morgan y Bateson) y los biómetras (Pearson entre otros). La controversia se resolvió con el desarrollo de la teoría sintética de la evolución, que estuvo en un todo de acuerdo con que muchos genes mendelianos de pequeños efectos estarían involucrados en la adaptación. A esta visión gradualista del surgimiento de caracteres adaptativos sólo se opuso Goldschmidt (1940), (citado por Futuyma, 1986), quién sostuvo la existencia de macromutaciones de posible carácter adaptativo. Sin embargo, las ideas de Goldschmidt fueron muy criticadas durante las décadas del 40 y 50 quedando casi en el olvido en nuestros días.

El carácter adaptativo de las mutaciones mayores resurgió con los trabajos de Turner (1977), Gould (1980) y Maynard Smith (1983). Estos autores sostienen que las mutaciones sucederían en genes mayores o rectores que determinarían grandes cambios fenotípicos y estos, algunas veces, podrían ser importantes en la adaptación.

Orr y Coyne (1992), consideran que el punto de vista de los defensores de la teoría sintética de la evolución podría ser el correcto (las mutaciones involucrarían varios genes de efecto pequeño) pero, no descartan que otras adaptaciones involucren genes mayores. La pregunta es: ¿con qué frecuencia la adaptación involucra un gen mayor?.

"A priori", se esperaría que la frecuencia de mutaciones en genes mayores fuera baja ya que por los efectos pleiotrópicos de estos genes se podrían alterar los patrones de desarrollo que estarían controlados por los procesos de restricciones que restringen la variabilidad posible o probable (Endler y McLellan, 1988).

Luego de una muy exhaustiva revisión de las evidencias empíricas referidas a los análisis genéticos de la adaptación, Orr y Coyne (1992) concluyen que hay pocos estudios que realmente demuestren que la adaptación involucra muchos genes de efecto pequeño y que la mayoría de los estudios no tuvieron la potencia necesaria para detectar la presencia de

genes mayores. Tal vez, por esta razón, son pocos los ejemplos donde se demuestra los efectos de los genes mayores (ver Orr y Coyne, 1992).

Una de las ideas básicas de Darwin (1859) fue que la adaptación es un producto de la selección natural aunque, el apogeo de la selección natural como rectora de la adaptación surgió de los planteos que formularon los artífices de la Teoría Sintética de la Evolución: Dobzhansky, Mayr, entre otros. Esta visión, en donde todo es producto de la selección, se denominó "panselccionismo" y actualmente dicha conceptualización de la realidad biológica es criticada. Así, Kimura (1983) postuló que no necesariamente toda la variabilidad molecular debe ser adaptativa y que parte de la misma puede ser neutra. En otro aspecto, en un artículo ya clásico Gould y Lewontin (1979), citado por Futuyma (1986) y Krimbas (1984), postulan el desacople entre la adaptación y la selección natural y critican duramente al denominado por estos autores "programa adaptacionista". En este sentido, Gould y Vrba (1982) definen como "exaptación" al surgimiento de caracteres adaptativos sin la intervención de la selección natural, con lo cual debería agregarse este término a los diferentes conceptos de adaptación.

La respuesta al desafío de Gould y Lewontin (1979) partió rápidamente desde uno de los principales defensores de la Teoría Sintética de la Evolución: Mayr (1983), quien argumentó que en los ejemplos propuestos por Gould y Lewontin (1979) la selección natural siempre estaba presente ya sea directa o indirectamente excepto en los casos de neutralidad completa o deriva, casos que para Mayr serían raros, salvo en los eventos fundadores.

Ambas propuestas se basan en evidencias que apoyan la validez de las mismas. Por ejemplo, Nevo (1991) sostiene que es indispensable recurrir al programa adaptacionista para entender la evolución de la superespecie *Spalax*; en tanto que McNeill Alexander (1991) puntualiza que es difícil y peligroso interpretar como adaptativas algunas estructuras de animales. Sumándose a la opinión de Wallace (1984), esta situación beneficia a la teoría en general ya que los defensores de una y otra propuesta deberán extremar sus esfuerzos para certificar las mismas, impulsando de esta forma, el avance en la ciencia y en forma concomitante dando respuestas a las numerosas incógnitas que existen en estos temas.

1.1.3 La Selección Natural y el Fitness

Cuando Charles Darwin, en 1859, enunció el principio de la Selección Natural introdujo al mundo de la biología un conocimiento nuevo acerca del proceso evolutivo, que permitió comprender cómo podían perderse las variaciones individuales perjudiciales y mantenerse las favorables. Aunque, se le atribuye a Darwin la primera publicación sobre la selección natural, el naturalista inglés Alfred Russel Wallace fue también uno de los artífices de la conceptualización de la Selección Natural (Futuyma, 1986).

La idea de la selección natural tal como fue presentada por Darwin tuvo numerosas críticas (Reig, 1983), básicamente porque carecía de los principios de la herencia necesarios para explicar, cómo los diferentes caracteres beneficiosos que poseía un progenitor se transmitían en forma desigual a la descendencia. Aunque las críticas fueron muy duras, varios hechos permitieron que la teoría de la Selección Natural resurgiera más tarde. Entre estos hechos podemos destacar, el redescubrimiento de las leyes de Mendel a fines del siglo XIX, la formulación de la teoría matemática de la genética de poblaciones, desarrollada básicamente por Hardy, Weingerg, Castle, Chetverikov y en especial por Fisher, Haldane y Wrigth (ver Crow, 1987). Pero, sin lugar a dudas fue Dobzhansky quien, con los resultados expuestos en su libro "Genetics and the origin of species" publicado en 1937, demostró el fenómeno real de la expansión progresiva de los alelos más "aptos" en la población (Reig, 1983; Hedrick, 1983; Futuyma, 1986).

El libro de Dobzhansky tuvo una enorme repercusión, ya que este autor mostraba que la selección natural podía estudiarse experimentalmente y, que las diferencias de aptitud de los distintos alelos pueden cuantificarse por medio del denominado fitness (eficacia biológica). Los individuos con mayor fitness se reproducen diferencialmente y tienen más probabilidad de transmitir sus genes a la descendencia. Considerando un período temporal largo, el fitness se define como la inversa de la probabilidad de extinción (Thoday, 1953; Cooper, 1984). Con este concepto se lograría la estimación fundamental del fitness. Sin embargo el uso de esta definición trajo aparejado dos problemas. Uno de ellos es práctico, y está dado por la dificultad de repetir una determinada historia poblacional y/o el largo período que podría transcurrir hasta la extinción

de un alelo. El otro inconveniente es teórico y se refiere a que debe recurrirse a modelos especiales para mostrar que el fitness aumenta por selección natural.

La definición de fitness que actualmente se utiliza es la propuesta por Dobzhansky (1968a y b; citado por Endler, 1986a) quien la definió como la contribución promedio para la población, de un fenotipo o clase fenotípica relativo a las contribuciones de otros fenotipos. Este concepto permite una simple y rápida cuantificación del fitness ya que se estima en forma relativa y además, no es posible confundirla con el concepto de adaptación. Endler (1986a) considera que la adaptación es un fenómeno evolutivo mientras que el fitness es una cuantificación de las diferencias entre caracteres.

Muchos de los inconvenientes que hay con la interpretación de la selección natural, no así con su demostración, se deben a que la selección natural es pensada como una fuerza (Dobzhansky, 1965) que actúa sobre unidades (Lewontin, 1970, 1974). Al considerar a la selección natural como una fuerza se puede llegar a confundir las causas con los efectos es decir, quién se selecciona y por qué. Por el contrario, cuando a la selección natural se la define como un proceso, la interpretación de la misma es más sencilla. Endler (1986a) define a la selección natural como un proceso en el que si una población tiene:

- 1- variación entre individuos en algún carácter o atributo: *variación*
- 2- una consistente variación entre los caracteres en la capacidad para reproducirse y/o viabilidad: *diferencias en el fitness*
- 3- que esas características sean *heredables*

entonces:

- i- la distribución de las frecuencias de ese carácter será diferente entre grupos de edades, más allá de lo esperado por la ontogenia
- ii- si la población no está en equilibrio entonces, la distribución de las frecuencias será diferente entre la generación parental y su descendencia.

Los genetistas cuantitativos y los criadores de animales descomponen a la Selección natural en selección fenotípica y respuesta genética (Falconer, 1981; Lande y Arnold, 1983). La selección fenotípica es el cambio en la distribución de un carácter dentro de una generación y es independiente de cualquier sistema genético. En términos de la selección natural se requiere, además de la selección fenotípica (englobada por las condiciones 1 y 2), que el carácter sea heredable (condición 3), que es la distinción fundamental entre ambos procesos. Entonces, la selección natural que opera sobre los fenotipos y no sobre los genotipos (Mayr, 1963; Lewontin, 1974), modifica las frecuencias genotípicas por los cambios ocurridos en la distribución de frecuencias de los fenotipos.

La conceptualización de la selección natural como un proceso permite por otra parte, considerar diferentes niveles de selección. Futuyma (1986) describe 5 niveles de selección (tanto intra como interespecífica):

- a) individual
- b) génica
- c) parental ("kin selection")
- d) grupal o interdémica
- e) entre especies.

Por su parte, Hedrick y Murray (1983) utilizando al género *Drosophila* como organismo modelo para el estudio de la selección natural, reconocen 3 niveles básicos sobre los cuales puede operar la selección intraespecífica:

- I) diferencias genéticas potenciales en todos los cromosomas
- II) diferencias selectivas entre inversiones en cuyo caso dichas diferencias podrían afectar alelos de varios cientos de genes incluidos en las secuencias invertidas
- III) diferencias selectivas entre alelos de loci individuales.

1.1.4 Los componentes del fitness

Como especificué en el punto anterior, el fitness predice y estima los coeficientes selectivos pero no explica el porqué de las diferencias.

El uso del fitness para estimar la selección natural comenzó con los teóricos de la genética de poblaciones (Fisher, 1930; Wright, 1931; Haldane, 1937, citado por Crow, 1987) quienes predecían el comportamiento de un locus con dos alelos de una población a partir de valores teóricos del fitness. Esta metodología, que se denominó clásica, tiene numerosos inconvenientes ya que requiere por ejemplo, que los componentes del fitness sean independientes del sexo, situación poco probable (Prout, 1969). Sin embargo, hasta la década del 70, no había entre los genetistas de poblaciones una teoría única que explicara la dinámica evolutiva. Por un lado, estaban los que solamente consideraban el estado genotípico (los denominados mendelianos) que sostenían que el cambio de la frecuencia dependía solo de la frecuencia alélica presente y del fitness medio de los genotipos en la población. Por otro, estaban los que únicamente tenían en cuenta el estado fenotípico (los biómetras) que sostenían que los cambios en la media fenotípica se predice conociendo únicamente la intensidad de selección y la heredabilidad; unos y otros con sólo una parte de la realidad (Lewontin, 1974).

Prout (1971a y b) propuso una metodología para la estimación del fitness a partir del cambio en las frecuencias genotípicas o génicas en las generaciones. Con este modelo, que permitió que se complementaran los modelos mendelianos y biómetras, las estimaciones del fitness no es teórica sino que es empírica y se refieren a un sistema genético determinado (una excelente discusión de este tema puede encontrarse en Wade y Kalisz, 1990). Con esto último es fundamental ser muy cuidadoso puesto que es un error considerar la generalización del comportamiento del genoma partiendo de un único carácter genético tanto sea un locus como una inversión cromosómica.

Además de los problemas teóricos en la estimación del fitness hay un problema práctico referido a la imposibilidad de estimar el fitness neta (Lewontin, 1974). Una posibilidad de evitar esta dificultad es descomponer

el fitness total en componentes y poder valorar estos por separado. Sin embargo tal división no puede ser arbitraria ya que los distintos componentes deben cumplir con ciertos requisitos (Prout, 1971a y b). El hecho de diferenciar componentes del fitness (o de selección como también se los denomina) permite por una parte ponderar la importancia relativa de cada uno de ellos en el fitness total. Por otro lado, es posible relacionar los componentes con factores ecológicos que podrían ser los causantes de las diferencias adaptativas.

El estudio de la selección natural según el modelo de descomposición en episodios selectivos se efectuó principalmente en roedores e insectos, mientras que en las plantas este modelo permitió un mejor estudio de la biología poblacional (ver revisión Primack y Kang, 1989). En roedores, Falconer (1981) diferencia dos componentes: número total de descendientes (fertilidad) y calidad de los descendientes; estos a su vez se van descomponiendo en otros componentes, jerarquizando los componentes del fitness sobre los cuales la selección natural opera. En insectos, Bungaard y Christiansen (1972) descomponen al ciclo de vida de *Drosophila* en cuatro momentos: apareamiento, gametas, cigotos y adultos. En cada una de los pasajes del ciclo de vida puede estar operando la selección natural con lo cuál es posible descomponerla en:

- selección cigótica: supervivencia diferencial de los genotipos desde el estadio de huevo hasta el de adulto maduro prerreproductivo.
- selección sexual: éxito diferencial de los genotipos en el apareamiento.
- fecundidad: producción diferencial de huevos de los distintos genotipos.
- selección gamética: que opera en el estadio haploide y se expresa a través de mecanismos tales como la conducción meiótica o la unión no aleatoria de las gametas.

El efecto combinado de estos componentes de selección conforma la selección total que es la que tiene, finalmente, un sentido evolutivo.

La estimación de los componentes del fitness, además de permitir la cuantificación de la misma en forma más exacta, posibilita comprender 2

fenómenos que están concatenados. El primero, es entender cómo un polimorfismo puede mantenerse en equilibrio, cuando los efectos de una misma variante genética sobre distintos componentes están correlacionados negativamente. Este tipo de patrón de selección fue denominado endocíclico (Ford, 1979).

El segundo, puede interpretarse en términos de varianza genética. En el equilibrio, la varianza aditiva total debería ser nula lo cual explicaría que la población no experimente ningún cambio. Sin embargo, la varianza aditiva para un determinado componente del fitness puede no ser nula y ante un cambio ambiental puede llevar a la población a un nuevo pico adaptativo según la configuración de las topografías adaptativas propuestas por Wrigth (1977).

1.1.5 Los parámetros de vida

Conforme avanzaba la interrelación entre la genética y la ecología de poblaciones, el concepto puro de fitness así como su estimación no permitía una fluida interacción entre estas dos áreas de la biología poblacional. La división del fitness en componentes posibilitó, como dije en el punto anterior, una interpretación ecológica de hechos eminentemente genéticos. Por su parte los ecólogos, desligándose de cuestiones relativas a la estructura y heterogeneidad genética de las poblaciones, centraron su atención en la demografía, donde el parámetro maltusiano o tasa intrínseca de crecimiento (r) es tal vez el más importante.

Este parámetro puede relacionarse con el fitness (Merritt Emlen, 1973; Roughgarden, 1979) y, así como el fitness se lo puede descomponer en componentes, a la tasa intrínseca de crecimiento se la dividió en parámetros de vida. Por lo tanto, los parámetros de vida son equivalentes a los componentes del fitness (Roff y Mousseau, 1987).

Evolutivamente, la estrategia óptima es maximizar simultáneamente todos los parámetros de vida cuyo resultado sería un organismo ideal. Ahora bien, es posible encontrar a este "Demonio Darwiniano" (Partridge y Harvey, 1988)?.

La respuesta es no y esta respuesta se debe fundamentalmente a dos observaciones; en primer lugar, si existieran los "demonios darwiniano" no se verificarían los altos valores de varianza aditiva estimados para los

componentes del fitness (ver Roff y Mousseau, 1987) que se contraponen al corolario del Teorema Fundamental de Fisher (1930). Este teorema postula que la varianza genética aditiva será nula en proximidades del equilibrio selectivo (para una corroboración experimental ver Gustaffson, 1986). Esta contradicción es aparente pues, si bien hay varianza genética aditiva, la misma es para componentes del fitness los cuales se cancelan entre si. El efecto final es nulo de acuerdo a la teoría de la pleiotropía negativa propuesta por Williams (1957). Una revisión de este tema puede encontrarse en Rose (1984).

En segundo término, se observaron restricciones que imperirían la maximización del fitness neto puesto que un caracter determinado puede ser adaptativo en determinadas circunstancias y no adaptativo en otras circunstancias (ver Endler, 1980). Este mismo razonamiento también tiene validez en el caso de la selección sexual (Kaneshiro, 1989).

Según Rose y col. (1987) los modelos que tratan de explicar como evolucionan las restricciones de los parámetros de vida y el surgimiento de varianza aditiva para estos, son tres:

- 1- La teoría del modelo óptimo
- 2- El balance mutación-selección
- 3- La teoría de los efectos pleiotrópicos antagónicos

La teoría de la optimización, postula, en rasgos generales que hay diferentes estrategias para optimizar el esfuerzo reproductivo (Maynard Smith, 1978; Roughgarden, 1979; Parker y Maynard Smith, 1990). Si bien esta teoría tiene un gran desarrollo matemático, Rose y col. (1987) consideraron que la falta de corroboración empírica pone en duda su validez. Sin embargo, en una revisión efectuada por Partridge y Harvey (1988) se presentaron una serie de trabajos donde se demostraría que el modelo del esfuerzo reproductivo es factible pero, como lo explicitan estos autores, los efectos del "costo-beneficio" están medidos únicamente por correlaciones fenotípicas. En este aspecto, Cheverud (1988) y Pease y Bull (1988) tienen opiniones opuestas respecto de la validez de utilizar las matrices de varianza fenotípica. Cheverud (1988) sostiene la existencia de una clara similitud entre las matrices de correlaciones genéticas y fenotípicas, mientras que Pease y Bull (1988) consideran que el trueque

(trade-off) entre dos parámetros de vida se debe a una correlación genética negativa perfecta y que la correlación fenotípica negativa podría estar viciada por efectos ambientales.

El balance mutación-selección propuesto por Kimura (1965; citado por Rose y col., 1987), Lande (1977), Turelli (1984) entre otros, postula que la varianza aditiva podría mantenerse por mutación dado que la misma se perdería por un régimen de selección no óptimo.

El tercer modelo se refiere a los efectos pleiotrópicos antagónicos, y postula un trueque o compromiso (trade-off) entre distintos componentes del fitness, de modo que un determinado alelo vería incrementada su frecuencia en un componente pero lo disminuiría en otro (Williams, 1957).

Por cuestiones de factibilidad empírica, la teoría de los efectos pleiotrópicos antagónicos ha sido la más estudiada. Al primer enunciado que se hizo (Williams, 1957) se le sumaron los aportes teóricos de Roughgarden (1979), Templeton (1980), Rose (1982, 1983) entre otros y, la corroboración empírica realizada por Rose y Charlesworth (1980, 1981a y b), Luckinbill y Clare (1985) y Luckinbill y col. (1984). Sin embargo, no todos los resultados fueron concordantes con lo esperado por este modelo, tal como lo atestiguan los resultados obtenidos por Gisel y col. (1982), Murphy y col. (1983), Bell (1984a y b, 1986) quienes detectaron correlaciones genéticas positivas entre componentes del fitness. Estos resultados contradictorios podrían deberse al diseño experimental y/o a la metodología utilizada en la estimación de la variabilidad y correlaciones genéticas entre los parámetros de vida (Reznick y col., 1986; Reznick y Briga, 1987; Roff y Mousseau, 1987). Además otros factores podrían producir covariación positiva, como la consanguinidad (Rose, 1984) y el efecto de un cambio ambiental (Service y Rose, 1985; Halloway y col., 1990). Pease y Bull (1988) llaman la atención acerca de las dificultades que tiene la estimación de los trueques o compromisos (trade-off), dado que se requiere de un tamaño muestral muy grande restringiendo la aplicación de este método a pocas especies y pocos fenotipos.

Los caracteres sobre los que se formularon las hipótesis antes mencionadas, pertenecen a alguna de estas cuatro categorías (Roff y Mousseau, 1987):

a) caracteres morfológicos

- b) caracteres comportamentales
- c) caracteres fisiológicos
- d) caracteres primarios del fitness

Los caracteres que se incluirían en esta última categoría serían la fecundidad, viabilidad y el tiempo de desarrollo. Un excelente tratamiento de los componentes primarios del fitness puede encontrarse en Istock (1981). Para los otros caracteres, es fundamental demostrar una correlación consistente con los caracteres primarios del fitness (Taylor y Condra, 1980; Istock, 1981) debiéndose constatar además, que el carácter es heredable (Endler, 1986a; Roff y Mousseau, 1987).

En *Drosophila*, el tamaño corporal se correlaciona con los tres caracteres primarios del fitness: fecundidad (Grimaldi y Jaenike, 1984; Heed y Mangan, 1986; Partridge, 1988; Santos y col., 1992), tiempo de desarrollo (Atkinson, 1979; Gebhardt y Stearn, 1988) y la viabilidad de adulto (Partridge y Farquhar, 1983; Partridge, 1988; Santos y col., 1992; Hasson y col., 1993). El tamaño corporal también se correlaciona con otros parámetros de vida como la habilidad migratoria (Roff, 1977) y el éxito reproductivo (Partridge y col., 1987; Partridge y Endler, 1987; Santos y col., 1988, 1992; Ruiz y Santos, 1989). Estas correlaciones, entre el tamaño corporal y los distintos parámetros de vida, permitirían considerar a este carácter, como una imagen holística dada la multiplicidad de procesos selectivos que sufriría. De esta manera el fenotipo final será el compromiso resultante de los distintos trueques o compromisos (trade-off) (Roff, 1981, 1986).

Además, el tamaño corporal está muy influenciado por factores ambientales tales como la temperatura (Robertson, 1987; Cavichi y col., 1989; Starmer y Wolf, 1989), la densidad larvaria (Grimaldi y Jaenike, 1984; Etges 1989a; Fanara, 1988), el sitio de cría (Etges y Heed, 1987; Ruiz y Heed, 1988; Etges, 1989a) y el tipo de alimentación (Barker y col., 1983, 1987; Fogleman, 1982; Thomas, 1993). A pesar de la gran incidencia del ambiente, se ha detectado varianza genética no solo en condiciones controladas (Cowley y Atchley, 1988; Prout y Barker, 1989, Hasson y col.,

1992; Norry comunicación personal; y las referencias de Roff y Mousseau, 1987) sino también en la naturaleza (Prout y Barker, 1989; Ruiz y Santos, 1989; Ruiz y col., 1991; Rodríguez comunicación personal) donde la varianza ambiental es un componente importante de la varianza fenotípica.

Si a la facilidad en la medición del tamaño corporal se le suma la asociación con todos los componentes primarios del fitness y demás parámetros de vida y, además la posibilidad de medir la heredabilidad, este carácter se constituye en una herramienta muy útil en estudios ecogenéticos.

1.2 Las especies estudiadas

1.2.1 El género *Drosophila*: generalidades y sistemática

La utilización de las especies de este género como modelo experimental en diferentes tipos de estudios biológicos se remonta a principios de este siglo. Los trabajos de Morgan sobre mutaciones visibles fueron los primeros que mostraron la utilidad de la mosca de la fruta en estudios genéticos.

Asimismo, a partir de la descripción que en 1934 Painter hiciera de los cromosomas gigantes en los núcleos de las glándulas salivales de las larvas de *Drosophila*, el género se transformó en material de primera elección para investigaciones de citogenética y citotaxonomía.

El aporte empírico que la genética de poblaciones hizo a la Teoría Sintética de la Evolución se debió en gran medida a los trabajos de Dobzhansky y sus colaboradores que utilizaron como material de estudio especies de *Drosophila* de diferentes grupos. Con este género, no sólo se realizaron investigaciones genéticas y genético poblacionales sino, también estudios de desarrollo, diferenciación y evolución molecular (MacIntyre y Collier, 1986).

La versatilidad que ofrecen las diferentes especies de *Drosophila*, hacen de este género una herramienta de trabajo de primera elección por los especialistas de las diferentes disciplinas de la biología en general y de la biología evolutiva en particular.

La distribución del género *Drosophila* es amplia y diversa. Las especies de este género pueden encontrarse desde las altas montañas hasta el nivel del mar y, desde los trópicos hasta la tundra. La mayor abundancia de drosofilidos se observa en bosques y selvas, aunque la mayoría de los hábitats parecen ser apropiados para este género (Throckmorton, 1975). Throckmorton (1975, 1982) conjetura que el éxito evolutivo y los patrones de distribución geográfica de los drosofilidos se debería a la eficiente explotación del nicho durante los estadios inmaduros. Los estadios larvales de las especies de *Drosophila* son importantes en las cadenas alimentarias saprofiticas ya que su alimentación depende de los microorganismos que causan la fermentación de tejidos vegetales.

Los taxónomos y sistemáticos han enfrentado numerosas dificultades para clasificar las especies de este género (Throckmorton, 1962, 1975, 1982; MacIntyre y Collier, 1986), especialmente por la gran uniformidad morfológica que alcanza niveles extremos debido a la abundancia de los casos de especies sinmórficas (Throckmorton, 1962). Sin embargo, en estos casos la morfología de la genitalia de los machos, un carácter importante desde el punto de vista taxonómico permite, generalmente, diferenciar las especies (Throckmorton, 1975).

Además del morfológico, otros criterios permitieron a los taxónomos clasificar las diferentes especies de *Drosophila* (Fontdevila, 1990). La utilización de las técnicas moleculares, en particular la electroforesis de isoenzimas, permitieron discernir y descubrir nuevos taxones indistinguibles por otros métodos. Nei (1975) elaboró estadísticos a partir de las frecuencias de los alelos de los loci enzimáticos que permiten estimar el grado de identidad (I) y/o de distancia (D) entre taxones. MacIntyre y Collier (1986) empleando esta metodología obtuvieron filogenias con un alto grado de correspondencia con otras obtenidas utilizando criterios más tradicionales.

Sin lugar a dudas las comparaciones de los cromosomas politénicos es y ha sido, el criterio más empleado para definir las relaciones filogenéticas en distintos grupos de especies de *Drosophila*. Esta metodología parte de la suposición que las mutaciones cromosómicas son eventos únicos es decir, que si por ejemplo dos o más especies comparten un mismo reordenamiento se debe a que el mismo estaba presente en un ancestro

común y no a que dicho reordenamiento es recurrente. Como las filogenias que se construyen de esta forma son, usualmente, consistentes con otros conjuntos de datos (por ejemplo morfológicos), la suposición que los rearrreglos no son polifiléticos parece verdadera (Carson, 1976). Lamentablemente este método si bien es potente no es universal, ya que existen grupos dentro del género *Drosophila* donde los cromosomas politénicos no muestran diferencias interespecíficas (Wasserman, 1963; Carson y col., 1967). Estos grupos o complejos de especies se denominaron "homosecuenciales" (Carson y col., 1967).

Hay diferentes clases de rearrreglos cromosómicos: fusiones, fisiones, duplicaciones en tandem, inversiones, entre otros. Las inversiones, que surgen cuando hay dos puntos de rotura en un mismo cromosoma y el segmento entre ellos gira 180 grados pueden ser de dos tipos: pericéntricas que incluyen el centrómero y paracéntricas que no lo incluyen.

Las inversiones paracéntricas son los rearrreglos más comunes en el género *Drosophila* y constituyen polimorfismos cuando en la población la presencia de dos o más inversiones en un mismo cromosoma puede explicarse por mutación recurrente; aunque, en muchos casos las inversiones están fijadas y diferencian especies. En este sentido, Zouros (1982) observó en el grupo repleta distintos mecanismos de aislamiento reproductivo asociados a diferentes cromosomas. Sin embargo, no detectó correlaciones entre el grado con que un cromosoma afecta un dado mecanismo de aislamiento reproductivo y el número de inversiones fijadas más aún, en los mecanismos de aislamiento reproductivo de las inversiones de los cromosomas 4 y 5 es mayor la influencia que la del cromosoma 2, que tiene el mayor número de inversiones descripta. Por estas razones, Zouros (1982) sugirió que las diferencias citológicas entre las especies de *Drosophila* del grupo repleta no serían importantes en los eventos especiogénicos.

Dadas las dificultades de las diversas metodologías utilizadas para la reconstrucción de la filogenia del género *Drosophila*, es necesario emplear un método multidisciplinario con aportes de la citología, electroforesis, morfología, zoogeografía, así como experimentos de aislamiento reproductivo entre otros, para caracterizar y clasificar las especies biológicas.

Las evidencias que existen permiten plantear que el origen del género ocurrió en Asia tropical. Las mayores radiaciones fundadas por linajes tropicales habrían tenido lugar antes de la ruptura de las conexiones entre el Viejo y el Nuevo Mundo, hace aproximadamente 30 millones de años (Throckmorton, 1975, 1982).

El género *Drosophila* incluye más de 1500 especies agrupadas en 8 subgéneros (Throckmorton, 1982). Las pertenecientes a los subgéneros *Sophophora* y *Drosophila* debido a su gran diversidad se reunieron en grupos. El subgénero *Drosophila* comprende una serie de grupos que han sido objeto de intensos estudios evolutivos. Por un lado los grupos de especies de Hawaii, que pertenecen a este subgénero han dado lugar a un proyecto de investigación sobre la evolución y diversificación en islas oceánicas (Anderson y col., 1989; Yoon, 1989). Además, en este grupo se encuentran especies cuya accesible ecología las convierte en grupo de elección para estudios ecogenéticos como las especies del grupo *repleta* (Wasserman, 1992).

El grupo *repleta* es de origen americano, específicamente de las zonas áridas de México (Throckmorton, 1975; Wasserman, 1982a). La mayoría de las especies viven en el continente americano y solamente 6 especies del grupo se encuentran fuera del hemisferio occidental (Wasserman, 1982a). La habilidad de las especies de este grupo para alimentarse y oviponer en los tejidos en descomposición de cactáceas que se encuentran en los desiertos americanos, pudo ser el desencadenante de la explosiva radiación adaptativa que se observa en el Nuevo Mundo, ya que este nicho no es utilizado por la mayoría de los drosófilidos. Estas características, las convierten en modelos adecuados para el estudio de la adaptación de zonas áridas

La sistemática de este grupo se basa en la información que se obtuvo empleando distintas metodologías: morfológicas, ecológicas y reproductivas, pero el análisis citológico de los cromosomas politénicos ha sido el más importante. El análisis de los cromosomas metafásicos ha permitido detectar otros tipos de reordenamientos tales como adiciones/delecciones de heterocromatina, fusiones/fisiones e inversiones pericéntricas además de las inversiones paracéntricas que fueron los reordenamientos más comúnmente observados (Wasserman, 1992).

El cariotipo básico del grupo consiste de 4 pares de autosomas telocéntricos grandes (cromosomas 2, 3, 4 y 5) un par de cromosomas puntiformes "dot" (cromosoma 6), y un par de cromosomas sexuales telocéntricos donde el Y es mucho más pequeño que el X (Wasserman, 1982a y b). Uno de los inconvenientes principales del análisis citológico es que ésta no permite por sí sola inferir la dirección del cambio evolutivo y por lo tanto para establecer relaciones de ancestralidad es necesario recurrir a información adicional (Wasserman, 1982b).

El ordenamiento del patrón de bandeo de los cromosomas politénicos de *Drosophila repleta* descrito por Wharton (1942) fué utilizado como referencia en los estudios del grupo considerándose a este ordenamiento como la secuencia estandar. Wasserman (1960, 1982a) sugirió, basándose en los análisis cromosómicos realizados en otras especies del grupo, que la secuencia estandar de *D. repleta* no podía ser considerada como la secuencia ancestral del grupo ya que difería del hipotético ancestro PRIMITIVO I en las siguientes inversiones: Xa, Xb, Xc, 2a, 2b y 3b.

Considerando criterios morfológicos y reproductivos el grupo *repleta* se dividió en 4 subgrupos: *repleta*, *mercatorum*, *hydei* y *mulleri* (Paterson y Stone, 1952) y, por criterios citológicos se agregó el subgrupo *fasciola* (Wasserman, 1962a). Los cinco subgrupos pueden derivarse de la secuencia PRIMITIVO I (Wasserman, 1960a, b, c y d; 1982). Cada subgrupo se dividió a su vez en complejos que se caracterizan por compartir al menos una inversión. Al subgrupo *mulleri* Wasserman (1982b) lo dividió en 5 complejos: *meridiana*, *anceps*, *eremofila*, *stalker* y *mulleri*. Posteriormente Ruiz y Wasserman (1993) modificaron esta división reemplazando al complejo *stalker* por el complejo *buzzatii* que incluye a las especies que pertenecían al complejo *stalker* y al resto de las especies sudamericanas que antes se incluían en el complejo *mulleri*.

Actualmente, el complejo *buzzatii* incluye aquellas especies que tienen fijado al menos una de las siguientes inversiones 2 mnz^7e^2 , $3r^2wv$, $5d^2$, Xj derivados de la secuencia estandar del PRIMITIVO I y que antiguamente pertenecían al complejo *stalker* y al complejo *mulleri* (Ruiz y Wasserman, 1993) de acuerdo a la descripción de Wasserman (1992). La distribución de este complejo se circunscribe casi con exclusividad a América del Sur y algunas Islas del Caribe (Wasserman, 1982b; Ruiz y Wasserman, 1993),

aunque actualmente *D. buzzatii* tiene una distribución subcosmopolita (Barker, 1982; Fontdevila y col., 1981).

Por criterios citológicos y principalmente por relaciones reproductivas las especies de los complejos se han agrupado en "clusters". Dentro del complejo *buzzatii*, Ruiz y Wasserman (1993) reconocieron 3 "clusters": *stalkerii*, *martensis* y *buzzatii*. A partir del análisis citológico y utilizando el criterio de parsimonia, estos autores llegaron a la conclusión que el "cluster" *stalkerii* es el más cercano al ancestro común del grupo. Luego se habría originado el "cluster" *buzzatii* y que el "cluster" *martensis* habría derivado del anterior.

Una de las características más salientes del complejo es el alto número de inversiones puesto que hasta el presente se han descrito 84 inversiones, que lo convierten en el complejo más polimórfico del grupo repleta. La razón de este alto grado de polimorfismo en el complejo y el por qué de la gran variabilidad observado dentro del mismo no se conoce.

1.2.2 El "cluster" *buzzatii*

Las especies que pertenecen a este grupo son: *D. serido*, *D. borborema*, *D. buzzatii* y *D. koepferae*.

La secuencia estandar del cromosoma 2 del "cluster" difiere de la del PRIMITIVO I en 3 inversiones $2mz^7$ (Ruiz y Wasserman, 1993) siendo esta también la ordenación estandar de *D. buzzatii*. Las especies del "cluster" difieren entre sí por inversiones fijadas en diferentes autosomas.

Drosophila borborema tiene una distribución endémica en el noroeste de Brasil, difiriendo de las restantes representantes del "cluster" por la inversión fijada $2e^8$ sobre la secuencia estandar (Vilela y Sene, 1977).

Drosophila serido es una superespecie politípica que se distribuye desde el noreste de Brasil hasta el monte argentino (Baimai y col., 1983; Ruiz y col., 1982). Según los análisis de la morfología de los cromosomas efectuados por Baimai y col. (1983) y que posteriormente fueron ampliados por Tosi y Sene (1989) se pueden reconocer 4 cariotipos distintos aunque dos de estos cariotipos, presentes unicamente en Argentina, corresponden a *D. koepferae*. El tipo I, que se ubica en la Caatinga (noreste de Brasil), tiene fijada la inversión $2x^7$. El tipo IV localizado en el oeste y centro de Brasil, es polimórfico para la $2x^7$ y tiene fijada la inversión $2e^8$, que es

característica de *D. borborema*. Ambas especies comparten la misma ordenación fijada, y son distinguibles por la morfología del aedeagus.

Las otras dos especies del "cluster" son *D. buzzatii* y *D. koepferae*. *Drosophila buzzatii* difiere del ancestro del cluster por una inversión fijada en el cromosoma 5: 5g. Por su parte *D. koepferae* difiere del ancestro por una ordenación fijada en el cromosoma 2, la 2j⁹. En el siguiente punto se describirán con más detalle ambas especies.

1.2.3. *Drosophila koepferae* y *D. buzzatii*

Patterson y Wheeler (1942) describieron a *D. buzzatii* a partir de un material procedente de Tripani (Sicilia, Italia), mientras que *D. koepferae* fue descrita recientemente por Fontdevila y col. (1988) a partir de un material procedente de Vipos (Tucumán, Argentina).

Estas dos especies son sinmórficas y sólo se pueden reconocer morfológicamente por las diferencias en la genitalia de los machos (Fontdevila y col., 1988).

Si bien existen áreas donde son simpátricas (Ruiz y col., 1982; y datos aún no publicados) *D. koepferae* tiene una distribución más restringida. En efecto, esta especie habita fundamentalmente los Valles Calchaquíes de Argentina y la zona montañosa de Bolivia (Ruiz y col., 1982; Tosi y Sene, 1989; Fanara y col., 1992). El patrón de distribución de *D. koepferae* no es continuo pues no fué detectada en las capturas que se realizaron en áreas como la Quebrada de Humahuaca (Jujuy, Argentina) (Fanara y col., 1992). Tosi y Sene (1989) informaron haberla capturada en el noreste argentino (en la provincia del Chaco) aunque la información disponible acerca de la identificación de este material es escasa.

El estudio del polimorfismo cromosómico reveló que esta especie es polimórfica en todas sus autosomas, en especial en el cromosoma 2. A partir de la secuencia estándar de *D. koepferae* Xabc; 2abmz^{7j}⁹; 3b presente en una población de Bolivia (Ruiz y Wasserman, 1993) se describieron 8 inversiones para el cromosoma 2 y 1 para cada uno de las restantes autosomas (para una descripción de las inversiones ver Ruiz y Wasserman, 1993).

Cuatro de las inversiones del cromosoma 2: u⁹, v⁹, x⁹ y w⁹ son características de las poblaciones de Bolivia, en tanto que 2n⁹ y las

inversiones detectadas en los otros autosomas, 3k², 4m y 5w son endémicas de la Argentina. Las 3 inversiones restantes del cromosoma 2 (l⁹, k⁹, y m⁹) son comunes a ambas áreas (Ruiz y col., 1982; Fanara y col., 1992). Estos datos indicarían que todo el polimorfismo en las poblaciones de Bolivia se limita al cromosoma 2, mientras que en las poblaciones argentinas se extiende a todo el genoma, con lo cuál posiblemente haya diferencias en las bases selectivas del polimorfismo entre las dos subáreas de la distribución (Fontdevila y col., 1988).

También, los estudios alozímicos determinaron que hay algún grado de divergencia entre las dos poblaciones de ambas subáreas, tal como lo indica el valor de distancia genética ($D=0.13$) estimado por Fontdevila y col. (1988), que es comparable con los valores que se obtienen cuando se comparan razas geográficas. Asimismo, se detectó que las poblaciones de ambas subáreas también se diferencian por la presencia/ausencia del elemento móvil copia Francino (1988).

Aunque los datos cromosómicos y alozímicos sugirieran una incipiente diferenciación racial en *D. koepferae*, Hasson (1988) corroboró mediante pruebas de aislamiento reproductivo que las poblaciones de ambas áreas geográficas pueden cruzarse y producir abundante descendencia F1 y F2.

En conjunto, los resultados obtenidos llevaron a Fanara y col. (1992) a sugerir que las diferencias observadas en las dos subáreas de distribución de *D. koepferae* se deberían a la adaptación a nichos diferentes.

Al igual que *D. koepferae*, *D. buzzatii* es originaria de América del Sur (Fontdevila y col., 1982) aunque su distribución es mucho más amplia ya que *D. buzzatii* se encuentra en 4 de las 6 regiones zoogeográficas continentales (Barker y Mulley, 1976; Fontdevila y col., 1981, 1982; Vilela, 1983). La especie parece estar ausente únicamente en las regiones neoárticas y oriental por lo que David y Tsacas (1980) la incluyeron entre los 21 drosófilidos de distribución subcosmopolita. Solamente 3 de las especies que integran el grupo repleta (*D. hydey*, *D. repleta* y *D. mercatorum*) han alcanzado una distribución geográfica comparable (Carson, 1965).

El polimorfismo de inversión de *D. buzzatii* ha sido muy estudiado. A partir de la secuencia estandar Xabc, 2abmz⁷, 3b, 5g se describieron hasta el momento 12 inversiones en el cromosoma 2 y 1 inversión para cada uno de los restantes autosomas (Ruiz y Wasserman, 1993). Para el cromosoma 2

y el 4 (Hasson y col., 1995) demostraron que en América del Sur las ordenaciones más frecuentes varían clinalmente siguiendo gradientes latitudinales y altitudinales, observaciones que coinciden parcialmente con las de Knibb y Barker (1988) en poblaciones australianas.

Las correlaciones con factores ambientales son una evidencia indirecta del carácter adaptativo del polimorfismo cromosómico (Endler, 1986a). En *D. buzzatii*, además de las evidencias indirectas, se demostró el carácter adaptativo del polimorfismo cromosómico empleando un método más directo: la comparación entre estadios de vida (método VIII de Endler, 1986a); más aún, ésta es una de las pocas especies donde la demostración se realizó en poblaciones naturales tanto originarias (Hasson y col., 1991) como colonizadas (Ruiz y col., 1986).

Los estudios de la variabilidad cromosómica han permitido demostrar la existencia de patrones de estructura poblacional que puede explicarse por selección diferencial en distintos ambientes ecológicos (Hasson y col., 1995). Algo similar fue detectado en los estudios de la variabilidad alozímica, aunque los patrones de variación no son tan evidentes (Sanchez, 1986; Barker y col., 1985, 1986). En cambio, el ADN mitocondrial, una molécula cuya evolución se considera neutra, no presentó un patrón de estructura poblacional significativo (Rossi y col., 1995). Más aún, estos estudios sugieren un gran flujo génico o bien un origen común reciente de las poblaciones actuales poniendo de relieve la magnitud de los procesos selectivos que está operando sobre el polimorfismo cromosómico.

Drosophila buzzatii y *D. koepferae* son dos especies cactófilas cuyo recurso trófico y de cría lo constituyen las necrosis de los tejidos de varias especies de cactáceas (rots) tanto del género *Opuntia* como especies del tipo columnar de la subfamilia *Ceroideae* (Hasson y col., 1992). Además, estos autores mostraron que entre ambas especies de *Drosophila* hay un cierto solapamiento del nicho si bien, el principal recurso de *D. buzzatii* son los "rots" del género *Opuntia* mientras que *D. koepferae* utiliza preferentemente "rots" de cactus columnares.

1.3 Los polimorfismos de inversión en *Drosophila*

1.3.1 El carácter adaptativo de las inversiones

Durante más de 60 años se estuvo estudiando el carácter adaptativo del polimorfismo cromosómico en *Drosophila*. Si bien, estos estudios los inició Dobzhansky y sus colaboradores en *D. pseudoobscura* con trabajos realizados en el laboratorio, durante la década del 40 y del 50, en la actualidad la demostración de dicho carácter se extendió a una gran cantidad de especies de *Drosophila*, y fundamentalmente se lo ha demostrado en la naturaleza.

En este aspecto, la presencia de polimorfismos de inversiones cromosómicas en poblaciones naturales es el resultado de 3 estados evolutivos:

- * el origen de la inversión
- * el incremento de su frecuencia
- * el mantenimiento por selección natural.

Respecto a cómo se origina una inversión se propusieron dos teorías. Una que se denominó hipótesis tradicional propone la ruptura en 2 puntos del cromosoma, el giro de 180° del segmento y la posterior unión del mismo al resto del cromosoma. La otra, denominada hipótesis de contacto, invoca un apareamiento no homólogo (dentro de un mismo cromosoma) y posterior entrecruzamiento. Esta última hipótesis está desacreditada (Krimbas y Powell, 1992).

La hipótesis tradicional postula por un lado que las inversiones son únicas en su origen y pueden ocurrir en cualquier punto del cromosoma y, por otra parte, sostiene que la generación de inversiones sobrepuestas ocurre secuencialmente y no por rupturas simultáneas. Sin embargo, la suposición de que los puntos de ruptura se distribuyen al azar podría considerarse cuestionable (Krimbas y Powell, 1992).

En varias especies de *Drosophila* se observaron zonas en las cuales recurrentemente hay rupturas. Estas zonas se denominan puntos calientes "hot spots". Con el descubrimiento de los elementos transponibles (por ejemplo el elemento P en el caso de *Drosophila melanogaster*) se abrió una nueva perspectiva en el problema ya que dichos elementos podrían explicar la generación de las inversiones y la existencia de "puntos calientes", que serían los lugares donde los elementos transponibles se insertarían. Para un mayor desarrollo sobre el tema se recomienda la lectura de Campbell (1985).

Una vez producida la mutación la nueva ordenación cromosómica debería incrementar su frecuencia. En este punto también hay diversas teorías propuestas que explicarían dicho incremento. Una de ellas, argumenta que los causantes del incremento serían efectos de posición debido a la modificación de la expresión de los genes (Sperlich, 1966; Sperlich y Pfriem, 1986). Otra hipótesis sostiene que la nueva inversión al suprimir la recombinación y heredarse como un sólo bloque mendeliano (supergen) aumentará su frecuencia por selección génica de los alelos presentes en los loci que fueron capturados por la inversión. En esta última hipótesis que se distinguen dos tipos de modelos: el aditivo donde no habría interacción entre los genes y el interactivo o también denominado modelo epistático.

El aditivo sostiene que las inversiones no tienen valores selectivos "per se" sino que serían vehículos neutrales de alelos individuales. Por su parte, el modelo epistático postula que los genes que están dentro de la inversión tienen una combinación alélica favorable o sea que están coadaptados (Krimas y Powell, 1992). En el caso de las inversiones, los productos de la recombinación son gametas desbalanceadas, la combinación de loci favorables se heredará como un supergén coadaptado.

El término coadaptación fue propuesto por Dobzhansky (Dobzhansky, 1970; Sperlich y Pfriem, 1986; Wallace, 1991) para definir aquellas combinaciones de genes que demostraban tener un fitness mayor que el resto de las combinaciones presentes en una dada población. Los primeros trabajos en este sentido correspondieron a Dobzhansky y sus colaboradores quienes demostraron una relación causal entre viabilidad y polimorfismo cromosómico (ver revisión en Dobzhansky, 1970).

La coadaptación implica presiones selectivas tanto a nivel de algunos alelos en diferentes loci ubicados en el mismo cromosoma, como en diferentes alelos de un mismo locus ubicados en cromosomas homólogos; es decir, que la selección responsable de la conservación del polimorfismo cromosómico se ejercerá sobre todo el sistema de poligenes en su sentido más amplio, incluyendo las relaciones epistáticas, de ligamiento y sistema de regulación. Como producto de lo anterior, los genes en los cromosomas establecerán dos tipos de equilibrio: a) un equilibrio interno basado en las relaciones de ligamiento y b) un equilibrio relacional basado en las relaciones interalélicas (Brincic, 1985).

Si bien en el modelo aditivo no se hace mención a la coadaptación y, algunos autores además sugirieron que la presencia de la misma no sería necesaria para explicar los fenómenos de incremento y mantenimiento del polimorfismo (Franklin y Lewontin, 1970; Krimbas y Loukas, 1980) hay fuertes evidencias que sostienen la existencia de coadaptación en *D. subobscura* (Sperlich y Pfriem, 1986; Wallace, 1991; Krimbas y Powell, 1992). En este aspecto, Fontdevila y col. (1983) demostraron en una población natural de *D. subobscura* que las asociaciones gaméticas entre genes e inversiones no se debían a fenómenos históricos sino a coadaptación. Fontdevila y colaboradores, observaron que las asociaciones entre inversiones y alozimas no podían explicarse como una situación transitoria de disminución de un desequilibrio de ligamiento inicial (efecto histórico) ya que las asociaciones variaban estacionalmente. Estos resultados estarían indicando la existencia de familias de supergenes con una secuencia de bandas determinadas y, cada una de ellas tendría valores selectivos diferentes en distintas estaciones.

Básicamente el modelo aditivo sostiene que el segmento invertido será seleccionado favorablemente y como consecuencia aumentará su frecuencia si la carga de mutaciones deletéreas que queda atrapada en la inversión es menor que el promedio de la carga mutacional en el mismo segmento no invertido en la población (Nei y col., 1967), condición que rara vez se encuentra en poblaciones naturales (Krimbas y Powell, 1992). En el modelo interactivo la interacción génica es un requisito necesario pero no suficiente para incrementar la frecuencia porque requiere de una frecuencia inicial alta (0.05) para ser detectado por la selección (Krimbas y Powell, 1992). Entonces, en los primeros momentos de la evolución de las inversiones podría operar la selección génica es decir, a nivel de los alelos constitutivos de la inversión (Santos, 1986).

Además de la selección génica, que ya fuera demostrada (Butlin y Day, 1985; Santos, 1986) otros factores pueden influir en el incremento de la frecuencia de una nueva inversión. En efecto, la longitud del segmento invertido podría determinar el éxito de ésta tal como lo certifican Santos (1986) y Krimbas y Powell (1992), ya que habría un tamaño óptimo del segmento invertido. Esto tendría su explicación en que si el segmento invertido fuera de gran tamaño, si bien tendría una alta probabilidad de capturar alelos favorables, el contenido del segmento se perdería por dobles

entrecruzamientos. Por el contrario, un segmento invertido pequeño, tendría una menor probabilidad de capturar una combinación favorable de alelos pero una vez ocurrido esto, se retendrían con mayor eficacia.

El último punto, el referido al mantenimiento del polimorfismo de inversiones, se basa en que el mismo es adaptativo. Las primeras corroboraciones del carácter adaptativo del polimorfismo cromosómico en *Drosophila* correspondieron a Dobzhansky y sus colaboradores existiendo una amplia bibliografía que lo certifica (ver revisión en Dobzhansky, 1970; Sperlich y Pfriem, 1986; Krimbas y Powell, 1992). Sin embargo estas fueron en su gran mayoría realizadas en condiciones experimentales a tal punto, que en una recopilación realizada por Endler en su libro "Natural Selection in the Wild" (1986) no se menciona ningún trabajo que utilizando como marcador el polimorfismo cromosómico de *Drosophila*, haya demostrado diferencias de fitness entre inversiones en poblaciones naturales.

En poblaciones naturales la mayoría de los ejemplos del carácter adaptativo de este tipo de polimorfismos está referido a asociaciones con cambios temporales y/o variables espaciales, dando lugar a patrones de variación clinal. Uno de los factores que determinan la presencia de una clina es el tipo de polimorfismo que presenta la especie. En aquellas especies en las que la frecuencia de cada ordenamiento varía entre poblaciones conforme a gradientes ambientales se considera que el polimorfismo es del tipo flexible. En cambio en aquellas especies que no se observa dicha variación el polimorfismo se considera rígido (Dobzhansky, 1962; Brncic, 1985). En este último caso la estrategia adaptativa esta dada por la presencia de un genotipo con una amplia tolerancia a los cambios ecológicos, es decir un genotipo que determine una alta plasticidad fenotípica que en general son los heterocariotipos. Un ejemplo típico de polimorfismo rígido es el de *D. pavani* (Brncic, 1985).

Krimbas y Loukas (1980) sostienen que el polimorfismo de *D. subobscura* es rígido. Estos autores sostienen que el polimorfismo cromosómico de esta especie no es adaptativo y que las clinas que se observaban tienen como única causa eventos históricos. Sin embargo, los estudios del polimorfismo cromosómico de *D. subobscura* en las áreas de reciente colonización en América del Sur (Chile y Argentina) y América del Norte (California) permitieron a Prevosti y su grupo de colaboradores

demostrar la existencia de correlaciones entre diferentes rearrreglos cromosómicos y la latitud. Además, estas correlaciones son similares a las detectadas en Europa. Estos resultados apoyan la idea que el polimorfismo cromosómico que presenta *D. subobscura* es flexible (Ayala y col., 1989; Prevosti y col., 1985, 1988 y 1990).

Drosophila buzzatii se presenta como un caso similar puesto que tanto en su área de distribución original (Argentina y Bolivia) como en un área de reciente colonización (Australia) los rearrreglos más frecuentes muestran asociaciones significativas y similares con la latitud (Hasson y col., 1995; Knibb y Barker, 1988; respectivamente). Estos patrones de variación de estos patrones de variación paralelos en los 2 continentes, permiten afirmar que las clinas observadas son el resultado de selección diferencial en ambientes ecológicos diversos (Hasson y col., 1995).

Estas últimas dos especies conjuntamente con *D. flavopilosa* (Brncic, 1983) representan ejemplos de especies con polimorfismos flexibles. Sin embargo, los estudios parecen sugerir que lo correcto sería hablar de grados de flexibilidad o rigidez (Hasson y col., 1995).

La explicación de la existencia de polimorfismos del tipo flexible es que el fitness de los diferentes rearrreglos varían según escalas temporales y/o espaciales (Brncic, 1985). Para muchas especies, la mayoría de los ambientes naturales consiste en un mosaico de parches ambientales, alguno de los cuales son más habitables que otros.

Un hábitat puede ser clasificado como favorable (central) o marginal dependiendo del número relativo de individuos de una especie que la población pueda mantener. Numerosos estudios en los que se caracterizó el polimorfismo cromosómico, revelaron que en las poblaciones centrales el nivel de polimorfismo es más alto que en las marginales llegando, en estas últimas, a estar ausente esta clase de variabilidad (para una revisión ver Brussard, 1984).

Varios autores han propuesto distintas explicaciones para este fenómeno. Estas pueden resumirse en cuatro ideas básicas:

- 1) la ecológica, propuesta por da Cunha y Dobzhansky (1954), sugiere que la cantidad de polimorfismo cromosómico en una población es proporcional al número de nichos ecológicos que explota, dado que las diferentes inversiones conferirán a sus portadores una adaptación específica

a cada nicho en particular. Por lo tanto, dado que en las poblaciones centrales existe una mayor diversidad ecológica, el nivel del polimorfismo es mayor.

2) la recombinacional, propuesta por Carson (1954), sostiene que los heterocariotipos se ven favorecidos en las poblaciones centrales (heteroselección cariotípica) ya que confieren una mayor plasticidad a los individuos. La mayor plasticidad, se refleja en la posibilidad de utilizar una más amplia variabilidad de nichos ecológicos, característico de las poblaciones centrales. En las poblaciones marginales, las condiciones ambientales son más restrictivas y bajo estas condiciones se requiere de un mayor nivel de variabilidad para proveer de nuevas combinaciones de alelos. Dado que, las inversiones son supresoras de la recombinación, la selección favorece a los homocigotas estructurales (homoselección cariotípica). Sin embargo, los resultados de los análisis de variabilidad de isoenzimas en poblaciones centrales y marginales, no apoyan esta hipótesis puesto que no se observó una reducción de la variabilidad isoenzimática en poblaciones marginales (Brussard, 1984).

3) Soulé (1973) propuso una tercera hipótesis donde argumenta que un nuevo ambiente que es más probable de encontrar en las poblaciones marginales puede causar una amplia reducción de la diversidad de los complejos génicos coadaptados. Con el tiempo, el incremento de la coadaptación en esas condiciones favorecerá un aumento de nivel de la heterocigosis estructural, pero en las poblaciones marginales no habrá tiempo suficiente como para lograr niveles de heterocigosis estructural altos. Según Soulé, tanto en poblaciones centrales como marginales sería ventajoso tener altos niveles de heterocigosis génica.

4) Wallace (1984, citado por Brussard, 1984), sostiene que los heterocariotipos tienen mayor habilidad competitiva que los homocariotipos en poblaciones con mayor densidad (poblaciones centrales). En poblaciones marginales, la probabilidad que una hembra encuentre un recurso disminuye así como la probabilidad de supervivencia de su descendencia. En estas condiciones, es más probable la supervivencia

de crías de unos pocos individuos que la de una pequeña población competitivamente más apta y polimórfica.

Para detectar los procesos selectivos en poblaciones naturales Endler (1986a) propuso 12 métodos donde, las correlaciones con variables espaciales o sea la detección de una clina (método 1) es la menos potente. Sin embargo, los casos de *D. buzzatii* y *D. subobscura* son la excepción ya que se observaron patrones clinales paralelos en dos regiones diferentes (Hasson y col., 1995; Prevosti y col., 1985, 1988, 1990).

De acuerdo a Endler (1986a) y Hedrick (1983) uno de los métodos más eficaces para la detección de la selección natural en poblaciones naturales es el análisis de los componentes de selección (método 8 de Endler) que se fundamenta en el muestreo de diferentes estadíos del ciclo de vida. La comparación de distribución de las frecuencias del carácter en estudio entre 2 estadios sucesivos permite estimar el grado de correlación entre el carácter y los diferentes componentes del fitness. Aplicando este método, Ruiz y col. (1986) y Hasson y col. (1991) en poblaciones colonizadas (Carboneras, España) y originales (Arroyo Escobar, Argentina) respectivamente, demostraron que las ordenaciones del cromosoma 2 de *D. buzzatii* tienen diferencias selectivas para varios componentes del fitness. En ambas poblaciones se detectaron cambios significativos de las frecuencias de alguna ordenación en diversos componentes de selección. Sin embargo, mientras que en Carboneras se observaron fuertes diferencias para viabilidad larvaria entre ordenaciones, en Arroyo Escobar el efecto principal se observó con la viabilidad pupal. Las dos poblaciones mostraron cambios significativos cuando se analizaron los componentes de longevidad y fecundidad aunque los rearrreglos involucrados fueron diferentes; con la excepción de la ordenación 2 jz³ que en ambas poblaciones parece disminuir la fecundidad.

Los efectos de longevidad diferencial detectados entre ordenaciones en Arroyo Escobar (Hasson y col., 1991) han mostrado buena repetibilidad (Rodríguez y col., en preparación). Las diferencias observadas entre la población original (Arroyo Escobar) y la colonizada (Carbonera) en cuanto al modo de acción de la selección natural podría ser consecuencia de (Fontdevila, 1989; Hasson y col., 1991):

- el cambio del hospedador, ya que *D. buzzatii* utiliza *O. vulgaris* en Arroyo Escobar mientras que en Carboneras explota *O. ficus-indica*, que podría determinar una estrategia diferente para aprovechar el nuevo recurso

- el efecto fundador, asociado a la colonización que estaría dado principalmente por cambios en los efectos pleiotrópicos del polimorfismo cromosómico

Fontdevila (1991), considera que el efecto fundador es la explicación que cuenta con la mayor cantidad de evidencias, si bien no ha sido expresamente demostrado.

1.3.2. Polimorfismo cromosómico y parámetros de vida

Además del efecto del polimorfismo cromosómico en componentes fundamentales del fitness como viabilidad, fecundidad, etc., diversos autores demostraron que el polimorfismo cromosómico afecta diferentes caracteres morfológicos y comportamentales en varias especies de *Drosophila* (para un revisión ver Sperlich y Pfriem, 1986), en otros dípteros como *Coelopa frigida* (Butlin y col., 1982; Butlin y Day, 1985) y en otros órdenes de insectos.

Respecto al efecto del polimorfismo cromosómico en caracteres morfométricos se produjeron algunas controversias ya que diversos autores (Lande, 1979a; John, 1981) sugirieron que tal efecto era nulo o despreciable. Por otro lado, numerosos trabajos demostraron la correlación entre el cariotipo y caracteres morfométricos (ver Butlin y col., 1982; Ruiz y Santos, 1989; Hasson y col., 1992).

En el caso particular de *D. buzzatii* se ha demostrado, en poblaciones experimentales derivadas de la población natural de Arroyo Escobar, que las ordenaciones del cromosoma 2 tienen una marcada influencia sobre el tamaño del tórax (Fanara, 1988; Hasson y col., 1992) y el tiempo de desarrollo (Fanara y col., 1995). Si bien, estos resultados demuestran el efecto del polimorfismo cromosómico sobre diferentes caracteres, estos efectos podrían quedar enmascarados en la naturaleza dado el importante

componente de varianza ambiental que afecta la varianza fenotípica, para los parámetros de vida y en especial para los caracteres morfométricos. Sin embargo, los resultados obtenidos por Ruiz y Santos (1989) y Ruiz y col. (1991) en la población de Carboneras demostrarían que los efectos del polimorfismo cromosómico son detectables en la naturaleza. Más aún, el 2% de la varianza fenotípica para el tamaño del tórax se puede explicar por la varianza en la frecuencia de las inversiones del cromosoma 2 (Ruiz y col., 1991).

En ambos estudios, tanto en poblaciones experimentales como en la natural, los individuos portadores de la ordenación 2st fueron en promedio de menor tamaño que los que portaban las ordenaciones 2j, 2jz³ y 2jq⁷ (Hasson y col., 1992; Ruiz y col., 1991).

1.3.3. Mecanismos de mantenimiento del polimorfismo cromosómico

Los mecanismos selectivos que pueden explicar el mantenimiento de la variabilidad genética se agrupan bajo el nombre de selección equilibradora (Hedrick, 1983).

De todos los modelos propuestos el más simple es el equilibrio heterótico cuya condición necesaria es:

$$w_{11} < w_{12} > w_{22}$$

Es decir que el fitness del heterocariotipo debe ser mayor al de los dos homocariotipos.

A pesar de que este modelo permitió a diversos autores explicar cómo se mantienen los polimorfismos (ver revisión en Sperlich y Pfriem, 1986) no es el adecuado cuando el polimorfismo es multialélico. Lewontin y col. (1978) demostraron que las condiciones necesarias para el mantenimiento de polimorfismos multialélicos por equilibrio heterótico son:

$$w_{ij} > (w_{ii} + w_{jj})/2$$

$$w_{ij} < w_{ik} + w_{jk}$$

donde i , j y k son 3 alelos de un locus. Estas condiciones que los autores denominaron desigualdad triangular son muy restrictivas para el modelo heterótico. En *D. buzzatii*, donde coexisten 3 o más ordenaciones cromosómicas no es posible explicar el mantenimiento del polimorfismo cromosómico por equilibrio heterótico ya que las condiciones propuestas por la desigualdad triangular no se cumplen (Ruiz y col., 1986; Hasson y col., 1991; Fanara y col., 1995).

El mecanismo propuesto en esta especie fue el de la selección endocíclica (Ford, 1979) donde el fitness de un determinado rearrreglo es mayor considerando un componente selectivo y menor para otro componente, siendo los incrementos y detrimentos de las frecuencias de tal magnitud que al final del ciclo se compensan.

Otro de los modelos de selección equilibradora, es la selección dependiente de las frecuencias (Ayala y Campbell, 1974). Bajo este modelo, los valores del fitness de los genotipos dependen de la frecuencia en que se encuentran. Las únicas evidencias experimentales se obtuvieron para el componente de selección viabilidad (Anderson y col., 1986) y el éxito de los machos en el apareamiento (Petit y Ehrman, 1969; Santos y col., 1986). Una de las principales ventajas de la selección dependiente de las frecuencias es que en el equilibrio no existe carga genética, es decir que los valores de fitness de los genotipos son idénticos (Hedrick, 1983).

Un caso particular es el de la selección dependiente del sexo el cual tiene la siguiente condición de equilibrio:

$$s_m/(1 - s_m) > s_f > s_m/(1 + s_m)$$

donde s_m y s_f son los coeficientes de selección contra los machos A_2A_2 y las hembras A_1A_1 respectivamente (Hedrick, 1983).

A diferencia de los anteriores, los modelos de selección en ambientes heterogéneos consideran el hábitat donde viven los individuos con lo cual estos modelos son quizás más realistas desde el punto de vista ecológico (Brussard, 1978). Cuando la heterogeneidad ambiental es espacial, la selección puede tener un papel muy importante en el mantenimiento del polimorfismo.

Los individuos pueden percibir el ambiente de diferentes maneras. Para Lynch y Gabriel (1987) si la varianza espacial entre los individuos es

pequeña y la varianza temporal dentro de una generación es grande, o sea que los individuos pasen parte de su vida en diferentes ambientes se lo define como un ambiente de grano fino. En tanto que un ambiente de grano grueso será aquél que tenga un componente espacial grande y una varianza temporal pequeña durante la vida de un individuo. En otras palabras que los individuos pasan toda su vida en un mismo ambiente.

El primer modelo que se propuso, donde por efectos de la heterogeneidad ambiental el polimorfismo se mantiene, fué el de Levene (1953). El modelo de Levene está basado en tres suposiciones:

- 1) un ambiente de grano grueso
- 2) que los cigotos se distribuyen al azar en cada uno de los parches ambientales
- 3) la contribución de cada parche a la siguiente generación es constante e independiente del genotipo. Este tipo de selección Wallace (1975) la denominó suave ("soft selection").

La condición necesaria para que el polimorfismo se mantenga según este modelo es que las medias armónicas de los valores de fitness de los homocigotas sean menores que la del heterocigota que se considera con fitness 1. La media armónica se define como:

$$1 / \left(\sum \frac{C_x}{W_{ii,x}} \right)$$

donde C_x es la proporción de individuos del parche ambiental x , $W_{ii,x}$ son los valores del fitness del homocigota i -ésimo en el parche x .

Dempster (1955) introdujo una modificación al modelo de Levene. En este modelo se supone que una proporción constante de cigotas esta presente en cada parche en todas las generaciones antes de la selección pero, la selección modifica esa proporción. Por ejemplo, si dos nichos reciben el mismo número de cigotas pero un genotipo es letal en el nicho 1, entonces la proporción de adultos con el cual el nicho 1 contribuye al

acervo génico se reduce en un 50 %. Con este tipo de selección, que Wallace (1975) denominó selección dura ("hard selection") la condición para que el polimorfismo sea estable es que la media aritmética de los heterocigotas sea mayor que la de los homocigotas, en otras palabras: sobredominancia marginal. La media aritmética se define como

$$\sum C_x W_{ii,x}$$

donde C_x es la proporción de individuos del nicho x y $W_{ii,x}$ es el fitness del homocigota i -ésimo en ese nicho.

Por otra parte, los modelos que consideran las variaciones temporales tienen una importancia relativamente baja a la hora de explicar el mantenimiento del polimorfismo (Haldane y Jayakar, 1963; Hedrick y col., 1976; Hedrick, 1986).

Haldane y Jayakar (1963) demostraron que cuando hay dominancia genética completa el polimorfismo se mantendrá si las medias geométricas del fitness de los homocigotas son menores que el del heterocigota que se considera 1. La media geométrica se define como:

$$\pi(W_{ii,x})^{C_x}$$

donde: $W_{ii,x}$ son los valores del fitness del homocigota i -ésimo en el parche x , C_x es la proporción de individuos del parche ambiental x .

Contrastando las condiciones para el mantenimiento del polimorfismo de los tres modelos y, a igualdad de parámetros (C_x y $W_{ii,x}$) la media aritmética de un homocigota tendrá el mayor valor seguida por la geométrica y la media armónica. Es decir que las condiciones de mantenimiento del polimorfismo serán más restrictivas para el modelo propuesto por Dempster (1955). La menos restrictiva para el modelo propuesto por Levene (1953) e intermedio para el modelo propuesto por Haldane y Jayakar (1963).

En el caso en que haya simultáneamente heterogeneidad ambiental y espacial, las condiciones son menos restrictivas que con cada uno de ellos individualmente (Ewing, 1979).

Aunque estos tres modelos permiten explicar cómo se puede mantener un polimorfismo estable en ambientes heterogéneos, en poblaciones naturales este fenómeno está bastante limitado por diversas restricciones. El fitness medio de un heterocigota es probable que sea mayor sólo si los diferentes parches ambientales existen en iguales proporciones y si las relaciones de dominancia entre los alelos se invierten cuando hay un traslado de un ambiente a otro (Pamilo, 1988). Si un tipo ambiental es muy común, el homocigota que se ve favorecido en ese ambiente tendrá el mejor fitness global y la selección conducirá a un monomorfismo genético (Maynard Smith y Hoekstra, 1980; Hoekstra y col., 1985). Cuando la selección es débil, este constreñimiento puede ser muy riguroso.

La importancia del tamaño del grano ambiental en el mantenimiento del polimorfismo la estudió principalmente Gillespie (1974), quien demostró que en un ambiente donde los parches son de grano grueso, la subdivisión del ambiente puede ser causa suficiente para el mantenimiento del polimorfismo. Esto es más probable que ocurra cuando el número efectivo de parches es grande y la correlación espacial es pequeña. También es posible el mantenimiento del polimorfismo en ambientes de grano fino, aunque es menos probable.

Hasta este punto los modelos que mencioné tratan de explicar o mejor dicho determinar las condiciones del mantenimiento del polimorfismo. Sin embargo, la estrategia óptima para una población bajo determinadas condiciones tal vez no sea el mantener un polimorfismo sino incrementar la frecuencia de un particular fenotipo y por ende genotipo.

Una población podría responder a los cambios ambientales de tres formas:

a) La población puede ser monomórfica para un fenotipo el cual está adaptado a una condición ambiental promedio

b) La población puede ser monomórfica para un fenotipo que está especializado al tipo más común de las condiciones ambientales

c) La población podría evolucionar hacia una condición polimórfica, con cada morfo adaptado a un tipo ambiental.

Los modelos desarrollados en el párrafo anterior, permiten cotejar los supuestos y hacer inferencias respecto a las condiciones necesarias para el mantenimiento de la variabilidad cromosómica, cuestiones que se analizaron en el trabajo desarrollado en esta tesis, fundamentalmente en aspectos relacionados con el papel que tiene la heterogeneidad ambiental en dicho mantenimiento.

2. OBJETIVOS

Como se ha descrito en la introducción la adaptación de las especies a su medio puede definirse mediante los parámetros básicos de su ciclo vital o parámetros de vida: viabilidad, tiempo de desarrollo, longevidad, tamaño del tórax, virilidad, fecundidad, etc.. Estos parámetros de vida se pueden estudiar en forma separada o conjunta. En el primer caso, el análisis permite detectar y comprender los mecanismos que afectan al parámetro estudiado. En el estudio conjunto (que sería el caso del análisis de componentes de selección) el objetivo es esclarecer y entender la dinámica adaptativa de la especie.

Con las especies de *Drosophila*, se llevaron a cabo una gran cantidad de estudios tendientes a analizar diferentes parámetros de vida aunque, la mayoría de los mismos se hicieron en condiciones experimentales (Brncic, 1985; Sperlich y Pfriem, 1986; Krimbas y Powell, 1992). Por esta razón, comprender la adaptación y la dinámica de las poblaciones de *Drosophila* en la naturaleza y determinar el papel que juega la heterogeneidad ambiental en diferentes escenarios ecológicos, es el principal objetivo de los estudios que se realizaron en los últimos años.

El objetivo de esta tesis es determinar las posibles causas de la biodistribución de *Drosophila buzzatii* y, de *D. koepferae*. El alcanzar este objetivo, implica entender una gran parte de la ecogenética de las poblaciones en general y, de las adaptaciones de *D. buzzatii* y *D. koepferae* en diferentes poblaciones de Argentina en particular.

Dada la multiplicidad de variables que se pueden estudiar en un análisis biológico poblacional de este tipo, el objetivo principal puede dividirse en cuatro partes posibilitando un análisis más profundo de las causas e implicancias de los resultados obtenidos. Estos cuatro objetivos que corresponden a estudios individuales con resultados que se complementan, son los siguientes:

OBJETIVO 1: Análisis de los efectos biogeográficos y cromosómicos sobre el tamaño del tórax en *D. buzzatii* y la relación de este carácter morfométrico con un componente del fitness: longevidad.

Básicamente se propone medir el tamaño del tórax utilizando material biológico escasamente manipulado y en condiciones experimentales próximas a las naturales.

Para lograr este objetivo, se utilizan moscas procedentes de 2 poblaciones de *D. buzzatii* donde en una se explota un único tipo de recurso (Arroyo Escobar, Provincia de Buenos Aires) mientras que en la otra, Termas de Río Hondo (Provincia de Santiago del Estero), hay una gran diversidad de recursos. Los individuos capturados se analizaron citológicamente con el fin de establecer si existe alguna correlación entre el tamaño del tórax y el polimorfismo cromosómico.

OBJETIVO 2: Análisis de la relación entre el tamaño del tórax y el componente del fitness longevidad, en una población natural de *D. buzzatii*.

En la población de Arroyo Escobar (Pcia. de Buenos Aires) se determinó el efecto que el tamaño del tórax tiene sobre la longevidad, comparando moscas adultas y recién emergidas. Si existe una relación consistente entre estos dos caracteres, el tamaño del tórax podría ser utilizado como caracter testigo como primera aproximación de la adaptación de las poblaciones al medio.

OBJETIVO 3: Estudio comparativo de la adaptación de *D. buzzatii* en una población con diversidad de recursos.

Este objetivo comprende el estudio de diversos componentes de selección, mediante el análisis de los cambios en la frecuencia de distribución del polimorfismo cromosómico de *D. buzzatii* en la población de Termas de Río Hondo (Provincia de Santiago del Estero). Esta población, presenta gran diversidad de recursos que permite determinar si, hay diferencias en la estrategia adaptativa de *D. buzzatii* en ambientes heterogéneos. Un cambio ecológico importante en la colonización en el caso de *D. buzzatii* consiste en el salto a un nuevo nicho trófico. Este cambio se debe al paso de un cactus hospedador a otro y, como consecuencia, a la explotación de necrosis de especies de cactus diferentes con potenciales diferencias en su composición química y en la microflora correspondiente.

OBJETIVO 4: Análisis de selección de habitat en especies cactófilas de *Drosophila*.

Este objetivo comprende el análisis de 2 especies cactófilas sinmórficas: *D. buzzatii* y *D. koepferae* en la población de Ruinas de Quilmes donde la heterogeneidad ambiental está dada por la presencia de dos especies de cactus. La posibilidad de muestrear diferentes etapas del ciclo de vida de estas especies de *Drosophila* durante la explotación del recurso sumado al conocimiento de la ecología de las mismas permiten la posibilidad de detectar la existencia de utilización diferencial del recurso. Por otra parte, el hecho de poder experimentar con estas dos especies en el laboratorio permite explorar las posibles causas de la selección de habitat.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 Las poblaciones estudiadas

Los estudios que se presentan en esta tesis se realizaron en distintas poblaciones naturales de la Argentina o, con moscas provenientes de ellas. Estas poblaciones pertenecen a diferentes regiones fitogeográficas, según la descripción de Cabrera (1976), donde están presentes una gran variedad de especies hospedadoras pertenecientes principalmente a los géneros *Opuntia*, *Trichocereus*, *Cereus* y *Stetsonia*.

La descripción de las poblaciones es la siguiente (ver localización geográfica en la figura 3.1):

1) Arroyo Escobar (latitud 34°38' longitud 58°73'): población que está situada en el km 35 de la ruta nacional N° 9 en la provincia de Buenos Aires, junto a las vías del ferrocarril Mitre entre las ciudades de Escobar y Del Viso. La altitud sobre el nivel del mar es de 5 mts., pertenece a la región fitogeográfica de la Pampa y la especie hospedadora presente es *O. vulgaris*.

Colección: J.J. Fanara, E. Hasson, C. Rodríguez y J.C. Vilardi.

2) Río Hondo (latitud 27°50' longitud 65°87'): población situada a 15 km. al este de la ciudad de Termas de Río Hondo, por la ruta nacional N° 9, en la provincia de Santiago del Estero. La altitud sobre el nivel del mar es de 290 mts., pertenece a la región fitogeográfica del Chaco y las especies hospedadoras presentes son *O. quimilo* (especie característica de esta región fitogeográfica), *O. ficus-indica*, *C. validus* y *S. coryne*. La zona de muestreo se localiza en 2 áreas, Chañar Pozo y Chañar Pocito, distantes entre sí 5 km. En esta población hay plantaciones de *O. ficus-indica*, especie introducida desde España (Fontdevila, 1989) que se utiliza para la explotación comercial de su fruto (higo) conocido por los lugareños como tuna. Entre las numerosas plantaciones de *O. ficus-indica* coexisten las demás especies hospedadoras que se distribuyen en forma continua.

Colección: J.J. Fanara, E. Hasson, C. Rodríguez y M. Santos.

3) Ruinas de Quilmes (latitud 26°62' longitud 65°90'): población situada a 20 km. de la localidad de Amaicha del Valle en el noroeste de la provincia de Tucumán. Esta población, se encuentra a 2000 mts sobre el

nivel del mar y pertenece a la región fitogeográfica del Monte. Las especies hospedadores son *O. sulphurea* y *T. terschekii*, en tanto que en la población de Quilmes (distante a 7 km de las ruinas) hay plantaciones de *O. ficus-indica* al igual que en Amaicha del Valle.

Colección: (1992) J.J. Fanara, E. Hasson y A. Fontdevila; (1993) J.J. Fanara y A. Fontdevila.

Las siguientes poblaciones si bien no integran el cuerpo principal experimental de esta tesis, fueron estudiadas con el fin de complementar los resultados obtenidos

4) Mazán (latitud 28°75' longitud 66°37'): población situada a 15 km. de Villa Mazán en la provincia de La Rioja. La zona de muestreo se localiza en el Km. 1155 de la ruta nacional N° 60 en un extremo de la Quebrada de la Sébila sobre las laderas occidentales de la Sierra de Ambato. La altitud sobre el nivel del mar varía de 1100 a 1200 mts. Esta zona pertenece a la región fitogeográfica del Monte y, las especies hospedadoras que se encuentran son: *O. sulphurea* y *T. terschekii*. En una pequeña área se detectó la presencia de *O. quimilo*.

Colección: (1991) J.J. Fanara, E. Hasson, C. Rodríguez y A. Fontdevila; (1993) J.J. Fanara y A. Fontdevila.

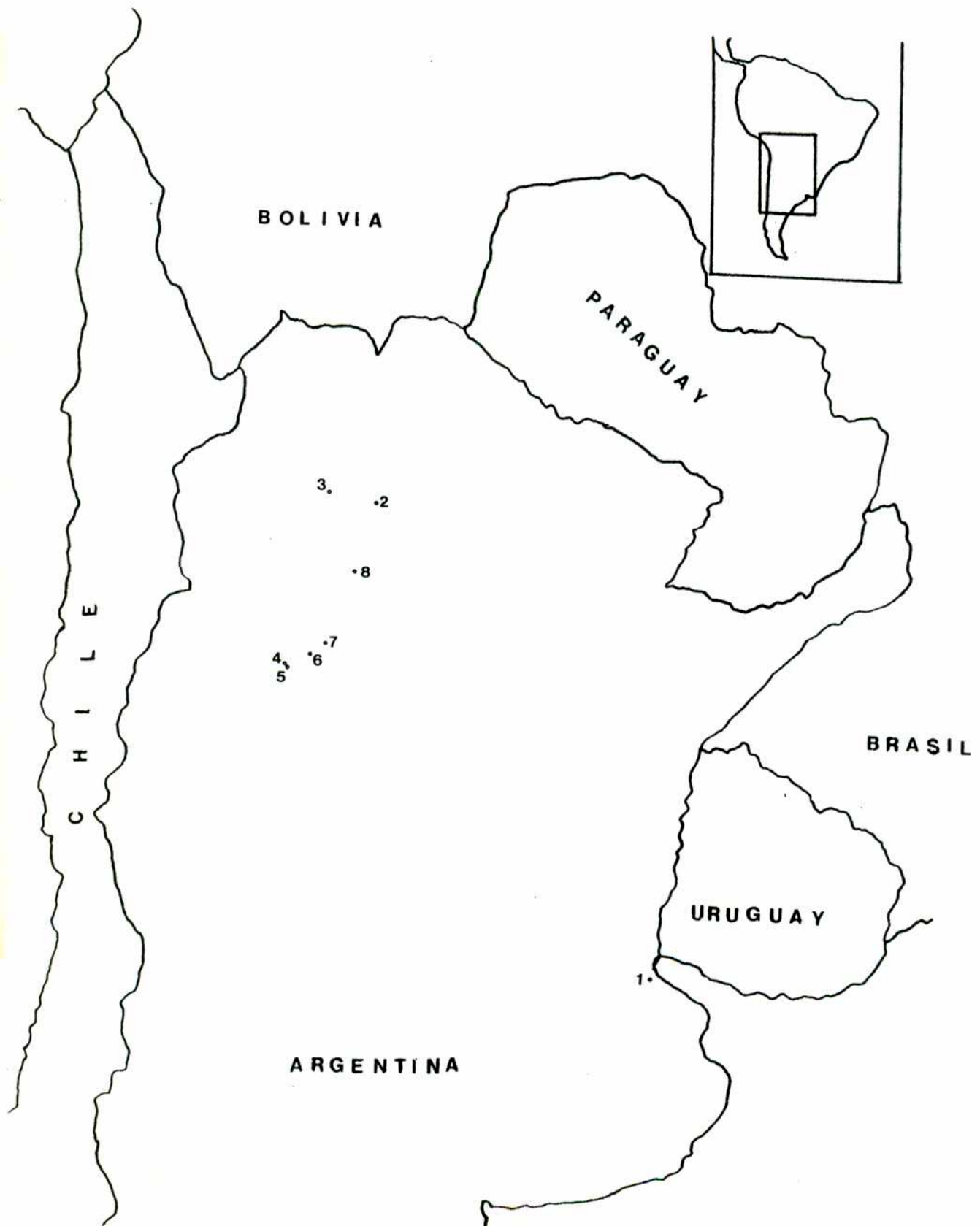
5) La Sébila (latitud 28°76' longitud 66°36'): La zona de muestreo se localiza en el Km. 1140 de la ruta nacional N° 60, donde la altitud es de 950 mts sobre el nivel del mar. Fitogeográficamente la zona pertenece al Chaco y los cactus presentes son *T. terschekii* y *O. quimilo*.

Colección: J.J. Fanara y A. Fontdevila.

6) Catamarca (latitud 28°40' longitud 66°20'): población localizada a 15 km. al sur de San Fernando del Valle de Catamarca por la ruta nacional N° 38. La población pertenece a la región fitogeográfica del Chaco y la altitud es de 550 mts. sobre el nivel del mar. Las especies hospedadoras que se encuentran son: *O. quimilo*, *O. pampeana*, *S. coryne*, *C. validus* y *T. terschekii*.

Colección: J.J. Fanara y A. Fontdevila.

Figura 3.1. Localización geográfica de las poblaciones estudiadas. 1= Arroyo Escobar, 2= Termas de Río Hondo, 3= Ruinas de Quilmes, 4= Mazán, 5= La Sébila, 6= Catamarca, 7= Palo Labrado, 8= Vipos.



7) Palo Labrado (latitud 28°35' longitud 65°62'): esta población se ubica a 20 km al norte de la capital de la provincia de Catamarca por la ruta nacional N° 38. Esta población pertenece fitogeográficamente al Chaco y la altitud sobre el nivel del mar es de 650 mts. Los hospedadores presentes son: *T. terschekii*, *S. coryne*, *C. validus*, *O. quimilo* y *O. pampeana*.

Colección: J.J. Fanara y A. Fontdevila.

8) Vipos (latitud 26°50' longitud 65°35'): población situada a 30 km. al norte de San Miguel de Tucumán por la ruta nacional N° 9. La altitud sobre el nivel del mar es de 650 mts. y fitogeográficamente la región es Chaco Serrano aunque en los alrededores hay bosques subtropicales (yunga). *Opuntia quimilo*, *T. terschekii* y *C. validus* son las especies de cactus presentes.

Colección: J.J. Fanara y A. Fontdevila.

3.2 Cepas de laboratorio

Durante el desarrollo del trabajo experimental se utilizó una cepa de laboratorio de *D. buzzatii* obtenida a partir de anteriores capturas de la población de Ruinas de Quilmes. La cepa es cromosómicamente monomórfica para el cromosoma 2 (ordenación j) y el 4 (ordenación s). Con las cepas de laboratorio es posible determinar la composición cromosómica de individuos capturados en el campo o de emergidos de sustratos naturales mediante cruzamientos y posterior análisis citológico de la descendencia.

3.3 Medio de cultivo de laboratorio

El medio de cultivo de laboratorio utilizado durante el trabajo fue una fórmula modificada por David (1962), cuya composición es la siguiente:

Harina de maiz	180	grs.
Levadura	120	grs.
Agar en polvo	8	grs.
Sal	2	grs.

Agua 1400 ml.

Este medio es muy nutritivo debido a la gran cantidad de levadura, hay que tener la precaución de hervirlo durante 20 minutos con el fin de matar estos microorganismos para que su fermentación no sea incontrolada y produzca, efectos secundarios indeseables.

Como fungicida se utilizó el ácido propiónico (2 ml), p-hidroxi-benzoato de bencilo (Nipagín; 3 grs) disuelto en etanol (10 ml). Como acaricida se empleó una solución de tedión en acetona con la cual se impregna un papel de un centímetro por un centímetro, se deja secar el papel y se lo introduce en el medio.

Mientras que *Drosophila buzzatii* no tiene un requerimiento nutricional particular siendo su cría y mantenimiento en el laboratorio muy simple, *Drosophila koepferae* requiere, en cambio, de mayores precauciones para su mantenimiento. Antes de la presente tesis, esta especie se mantenía en el medio de cultivo de laboratorio recién descrito pero los bajos rendimientos obtenidos (ver resultados) determinaron que la misma y posteriormente, también *D. buzzatii*, se mantuvieran en "medio verde".

El "medio verde" se prepara en el laboratorio con trozos de cactus traídos del campo. Estos cactus se mantienen congelados a -18°C y el líquido en putrefacción del mismo a 4°C . Cuando se necesita el medio verde se descongela un trozo del cactus, se lo licúa, posteriormente se lo coloca en el envase adecuado y se lo autoclava. Una vez retirado del autoclave, al medio verde se le agrega 2 mililitros del líquido en putrefacción con el propósito de simular las condiciones de la naturaleza. El autoclavado se realiza para evitar contaminación con otros microorganismos que naturalmente no están presentes en el sistema cactus-microorganismos.

Como el líquido en putrefacción con el tiempo va perdiendo diversidad de microorganismos, por agotamiento del recurso y por los sucesivos cambios en las comunidades de levaduras, cada 15 días se descongela un trozo de cactus, se le inyecta líquido en putrefacción, se lo aísla en una botella de plástico y, con el transcurso del tiempo se recoge el líquido que dicho trozo resume. Con este método se obtienen nuevas reservas de líquido en putrefacción.

3.4 Mantenimiento de las cepas y manipulación de los adultos

En los casos en que fue necesario el mantenimiento de cepas de laboratorio, las moscas se colocaron en frascos de vidrio con medio de laboratorio o verde. Los adultos se transfirieron cada 10 días a medio fresco para evitar problemas de mortandad larvaria denso-dependiente.

Los adultos se manipularon con un aspirador de insectos y un pincel. Cuando hubo que recurrir a la anestesia se utilizó éter.

En gran parte de los experimentos se debió disponer de hembras vírgenes de *D. buzzatii* y de *D. koepferae*. Para obtenerlas, se extraen los adultos que emergieron de los frascos de cría y, cada 24 horas en el caso de *D. buzzatii* y 48 horas en el de *D. koepferae*, se realiza el mismo procedimiento. Las hembras emergidas durante estos períodos son vírgenes.

3.5 Obtención de huevos y larvas de primer estadio

Para este fin se utilizaron cámaras de recolección de huevos. Estas consisten en recipientes de acrílico de 5x20x12 cm. cuya cara superior presenta una abertura de aproximadamente 8 cm. de diámetro. En esta abertura se coloca la caja de Petri con el medio de puesta.

Los medios de puesta que se emplearon dependían del estímulo de oviposición usado y estos fueron de 2 clases:

a) de laboratorio, constituido por:

agua destilada	175 ml.
agar en polvo	3 grs.
etanol	2 ml.
ácido acético	6 ml.

Esta preparación se vierte en cajas de Petri. Una vez gelificada la solución se efectúan estrías y se colocan granos de levadura comercial (*Saccharomyces cerevisiae*) seca que sirve como estímulo de oviposición y, también para alimento de las moscas y futuras larvas

b) verde, se obtiene descongelando un trozo de cactus y posteriormente pintando el mismo con líquido en putrefacción. Este trozo se lo aísla para evitar que sea colonizado por otras moscas. Transcurridas 36 horas del pincelado, el trozo de cactus se coloca en la caja de Petri. Los adultos y las larvas se alimentan del cactus.

Luego de transcurridas 24 horas del momento en que se ponen las cajas de Petri, estas se retiran y dependiendo del experimento, se reemplazan por otra conteniendo el mismo medio de puesta. Si el objeto es la selección de huevos, estos se retiran inmediatamente del medio. En caso de recolectarse larvas se aísla la caja de Petri y una vez que la mayoría de las larvas eclosionan se transfieren. En ambos casos el muestreo se realizó al azar.

3.6 Análisis de cromosomas politénicos

Para el estudio de los cromosomas politénicos las glándulas salivales de las larvas de tercer estadio se extraen en una solución de 3 partes de alcohol (96°):1 parte de ácido acético (60%). Las glándulas se colocan en un portaobjetos con una gota de orceína lactoacética (tres partes de orceína acética tipo Gurr y dos partes de ácido láctico (85%). Se deja teñir por unos 30 minutos, se coloca el cubreobjetos y se aplasta bajo papel de filtro para permitir el extendido de los cromosomas.

La observación de las preparaciones puede hacerse 4 o 5 días después con objetivo 40x; la interpretación de los cromosomas politénicos se realiza comparándolos con los mapas citológicos correspondientes: en el caso de *D. buzzatii* los descritos por Wasserman (1982 a y b) y Ruiz y col. (1985) y por Ruiz y col. (1982) para *D. koepferae*.

Para la determinación del cariotipo de los dos progenitores deben analizarse 13 larvas de la descendencia de una hembra inseminada en el campo para tener una certeza del 95% de cual fue el cruzamiento (Barbadilla y Naviera, 1988). En el caso de los machos salvajes, que se cruzan con hembras vírgenes de cepas de cariotipo conocido, el análisis de 5 larvas de la descendencia permite determinar cuál es su cariotipo con una probabilidad mayor al 5%. Esta misma metodología puede utilizarse

para determinar el cariotipo de una hembra recién emergida o desespermatazada.

En todos los casos, si solo se analiza una larva de la descendencia se obtienen las frecuencias cromosómicas de la muestra en cuestión.

3.7 Parámetros de vida

Todos los experimentos diseñados para el análisis de los parámetros de vida se llevaron a cabo a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e iluminación continua mientras que la humedad fue el único parámetro ambiental que no se controló.

Las muestras de individuos utilizadas para la estimación de los parámetros se obtuvieron a partir de la recolección de huevos y/o larvas de primer estadio de las cámaras de recolección. Los huevos o larvas se sembraron en número de 40 larvas por tubo con 5-6 mililitros de medio de cultivo. Esta densidad es donde se producen los menores efectos de mortandad larvaria (Fanara y col., 1995).

Los parámetros estudiados fueron:

Eclosionabilidad: este parámetro se refiere al porcentaje de huevos que eclosionan (viabilidad de huevos). Los huevos que se obtienen en la cámara de recolección se siembran en cajas de Petri con el sustrato de puesta de laboratorio en número de 100. Transcurridas 36 horas se registra la cantidad de larvas.

Viabilidad Larva-Adulto: las cajas de Petri, que se colocan en la cámara de recolección, se mantienen durante 36 horas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ para permitir la eclosión de los huevos. Posteriormente se sembraron larvas de primer estadio. Se cuentan todos los adultos emergidos y se determina el porcentaje de supervivencia.

Tiempo de Desarrollo: es el tiempo transcurrido desde que se retiran las cajas de Petri de las cámaras de recolección hasta el momento de eclosión de los adultos. Para estimar este parámetro los emergidos de los tubos se retiran cada 24 horas.

Tamaño del Tórax: estas mediciones se realizan con los adultos capturados y emergidos. En este último caso la medición se efectúa 24 horas después de que el adulto emerge de la pupa. Las moscas se colocan de perfil y se les mide el nototórax utilizando una lupa WILD con 250 aumentos la que posee un ocular con graduación (1 unidad ocular= 0.031 mm).

3.8 Muestreo en poblaciones naturales

3.8.1 Captura de adultos

Según el diseño experimental para el muestreo de adultos se emplearon 2 atractivos diferentes: 1) trampas convencionales donde el atractivo para las moscas es una papilla de banana fermentada con levadura comercial (*Saccharomyces cerevisiae*) o, 2) trampas naturales, utilizando los sustratos naturales como atractivo.

En el caso de las trampas convencionales la papilla se coloca en baldes de aproximadamente 30 cm. de diámetro. En el caso de los sustratos que se utilizaron como trampas naturales, también pueden colocarse dentro de los baldes o bien disponer de los sustratos de forma tal, que quede expuesta la mayor superficie atractiva. En ambos casos, los adultos que acudieron a las trampas se capturaron empleando redes entomológicas o un aspirador de insectos.

Dado el carácter no específico de las trampas convencionales, la diversidad de insectos que se capturan suele ser mayor que en el caso de las trampas naturales. Además, este tipo de trampas se emplean para estimar la composición de la población debido a que puede haber efectos de atracción diferencial de las trampas naturales.

3.8.2 Recolección de sustratos de cría y alimentación

Considerando que las especies del "cluster" *buzzatii* son exclusivamente cactófilas, y que los adultos y estadios inmaduros se alimentan de los microorganismos asociados a los procesos de descomposición de las cactáceas y que las hembras maduras depositan sus huevos en dichos

sustratos, la recolección de los mismos es de suma importancia ya que permite analizar diferentes eventos selectivos.

Cada área de muestreo se recorre buscando los sustratos que potencialmente pueden estar colonizados. Cuando se encuentra a uno se lo examina minuciosamente en búsqueda de larvas de *Drosophila* o de adultos que se estuvieran alimentando. Aquellos sustratos que estaban colonizados, se identificaron y aislaron de diferentes formas dependiendo del diseño experimental.

3.9 Diseños experimentales

En este punto desarrollaré los diseños y técnicas que se emplearon en los distintos experimentos que conforman la presente tesis.

3.9.1 Variación geográfica del tamaño y su correlación con el polimorfismo cromosómico en *D. buzzatii*

Las poblaciones muestreadas para desarrollar esta parte del trabajo fueron Arroyo Escobar y Termas de Río Hondo. En estas poblaciones, se midió el tamaño del tórax a los machos capturados de acuerdo al protocolo descrito en 3.7.

Por otra parte, los machos se cruzaron con hembras de la cepa homocariotípica y citológicamente se analizó 1 larva de la descendencia con lo cual se pudo obtener una correlación entre el tamaño del tórax y las frecuencias cromosómicas.

3.9.2 Efecto del tamaño del tórax sobre la longevidad

El trabajo se desarrolló en la población de Arroyo Escobar que fuera descrita en el punto 3.1. En esta población sólo está presente *D. buzzatii*.

Para realizar este estudio se tomaron 2 muestras una preselectiva y una postselectiva donde el componente selectivo en estudio fue la longevidad y el carácter medido el tamaño del tórax.

La muestra preselectiva la constituyen los adultos inmaduros (recién emergidos) y la misma se obtuvo recolectando 40 sustratos de la especie hospedadora presente en esta población (*O. vulgaris*). Como el carácter que se midió fue el tamaño del tórax, que es dependiente de factores ambientales (ver 1.1.5), los sustratos elegidos permanecieron en el campo con el fin de preservar las condiciones en las cuales se desarrollaban las larvas. Teniendo en cuenta estas consideraciones, los sustratos (que permanecieron todo el tiempo identificados) se aislaron con bolsas de "voile" ya que las de polietileno afectan el microclima del sustrato. Cada 24 horas se retiraron los adultos emergidos con un aspirador de insectos, se los sexó y se los mantuvo en tubos con medio hasta que fueron medidos.

La muestra postselectiva estuvo integrada por adultos capturados que se obtuvieron utilizando trampas convencionales y, consistió en 2 capturas una previa y otra posterior al muestreo preselectivo. El fin de esta división en esta muestra fue verificar si el tamaño del tórax se mantenía estable en la población durante el transcurso del experimento. La muestra previa podría considerarse como los progenitores de la muestra preselectiva mientras que la posterior pertenecería a la misma "cohorte" de moscas del grupo preselectivo.

Tanto para las muestras preselectiva como postselectiva, las mediciones del tamaño del tórax se hicieron según el protocolo descrito en el punto 3.7. Con las determinaciones del tamaño del tórax se compararon las 2 capturas de la muestra postselectiva y ésta con la preselectiva para los dos sexos por separado dado el dimorfismo sexual del carácter y, se calculó la intensidad de selección para cada sexo.

En todos los casos, una vez medidas las moscas se pusieron en tubos que contenían medio de laboratorio y se cruzaron con la cepa homocariotípica para experimentos posteriores.

3.9.3 Análisis de selección de hábitat y componentes de selección en *Drosophila buzzatii* en la población de Termas de Río Hondo

En esta población descrita en el punto 3.1 se efectuó este estudio, se analizó si los cariotipos del cromosoma 2 de *D. buzzatii* perciben la heterogeneidad ambiental que hay en Termas de Río Hondo. De los

potenciales recursos que *D. buzzatii* puede utilizar se hallaron únicamente sustratos de las 2 especies de *Opuntia* (*O. quimilo* y *O. ficus-indica*) ya que de los otros posibles hospedadores (*S. coryne* y *C. validus*) no se encontraron sustratos.

Para efectuar el estudio, que se realizó en Setiembre de 1988, se obtuvieron muestras de adultos capturados y de la recolección de sustratos naturales.

I) Muestreo de adultos: esta muestra se obtuvo capturando adultos con trampas naturales, cada una en su zona de distribución. Los adultos se sexaron inmediatamente después de su captura, y en ningún momento se juntaron las muestras obtenidas a partir de los dos tipos de sustratos.

Los machos se cruzaron individualmente con dos hembras de la cepa homocariotípica y se pusieron en tubos que contenían medio de laboratorio.

Las hembras que fueron capturadas, se emplearon para obtener dos tipos de muestras: huevos 1 (H1) y huevos 2 (H2). En la primera, las hembras se colocaron individualmente en tubos (isolíneas). La muestra de H2 se obtuvo colocando grupos de 100 hembras en cámaras de recolección utilizando el medio de laboratorio como medio de puesta. Las cajas de Petri se reemplazaron diariamente. Para la muestra obtenida a partir de *O. quimilo* se hicieron 2 réplicas sembrándose los huevos en 3 tubos de vidrio el primer y el segundo día y dos el tercer día. En cambio la muestra de H2 obtenidas a partir de hembras capturadas sobre *O. ficus-indica* solamente se sembraron de una cámara de las se obtuvieron 3 tubos los primeros 2 días y solo 2 el tercer día. En todos los casos por tubo se sembraron 80 huevos.

II) Sustratos naturales: se recogieron 33 cladodios (que es la hoja de las *Opuntias*) en descomposición de *O. quimilo* y 16 de *O. ficus-indica*, que fueron inmediatamente identificados y transportados al laboratorio donde se aislaron en bolsas de polietileno.

A partir de los sustratos se obtuvieron 2 tipos de muestras:

- a) Larvas: las larvas de tercer estadio se procesaron citológicamente
- b) Adultos inmaduros: por un máximo de 15 días seguidos a partir del día de recolección y utilizando necrosis diferentes de aquéllos empleados para la obtención de las larvas, se aspiraron diariamente los adultos que emergían de cada sustrato. Inmediatamente se los sexó, se los mantuvo en

medio de cultivo hasta la madurez sexual y una vez alcanzada la misma se formaron parejas entre los emergidos pertenecientes a un mismo sustrato que se colocaron en tubos.

En todos los casos, el medio de cultivo fue el de laboratorio y las moscas se transfirieron a medio fresco a las 48 horas para evitar problemas de densidad y posible competencia larvaria (Rodríguez y col., 1992). En el caso de las muestra de H1, machos y adultos inmaduros, se analizó citológicamente 1 larva en tanto que para la de H2 se analizaron 32 larvas por tubo.

El análisis de selección de hábitat se efectuó comparando las frecuencias de inversion de todas las muestras entre hospedadores (*O. quimilo* y *O. ficus-indica*) en tanto que el estudio de la dinámica selectiva se realizó mediante el análisis de componentes de selección (ACS) cuyo protocolo experimental se presentan en la figura 3.2. En esta oportunidad los componentes que analizados fueron virilidad o éxito de los machos en el apareamiento, fecundidad, viabilidad entre el estadio de huevo y larva de tercer estadio o viabilidad larvaria, viabilidad entre los estadios de larva de tercer estadio y adulto inmaduro o viabilidad pupal y longevidad o viabilidad entre los estadios de adulto inmaduro y adulto (este último se puede realizar con este modelo sólo en los machos, para una explicación ver Ruiz y col., 1986).

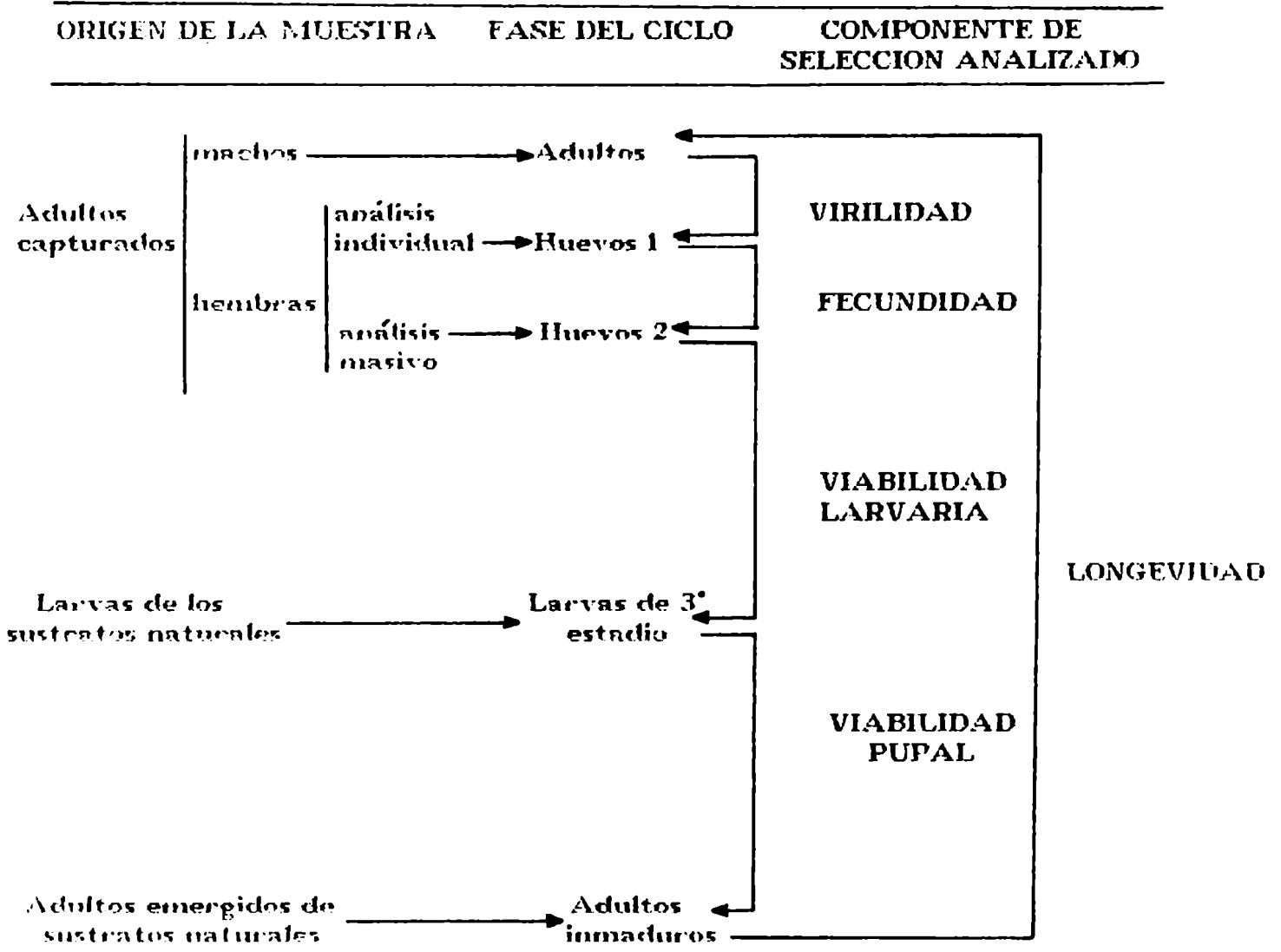
La comparación de las frecuencias cromosómicas entre las muestras H1 y H2 permite determinar si existen diferencias selectivas entre ordenaciones cromosómicas para el componente de fecundidad. En la muestra de H1 todas las hembras tuvieron la misma oportunidad para dejar descendencia en cambio, en la muestra de H2 las hembras podrían oviponer diferentes cantidades de huevos.

El componente de viabilidad larvaria se obtuvo comparando las frecuencias cromosómicas entre las muestras H2 y larvas. En este caso la muestra de H2 representaría la población de huevos que hubieran sido ovipuestos mientras que las de larvas representaría la población que se habría desarrollado a partir de aquéllas.

La comparación de las frecuencias cromosómicas de las muestras de adultos inmaduros y larvas permite detectar efectos de viabilidad pupal diferencial.

Figura 3.2

Esquema del protocolo experimental utilizado para el análisis de algunos componentes de selección en una población natural de *Drosophila buzzatii* (según Ruiz y col., 1986).



El componente de longevidad se puede analizar comparando las frecuencias de las muestras de adultos inmaduros y machos adultos. Sin embargo, esta metodología para estimar la longevidad podría provocar una subestimación ya que la muestra de capturados, es con toda seguridad una muestra de composición heterogénea y podría haber machos recién emergidos.

Finalmente, las comparaciones de las frecuencias cromosómicas de las muestras de machos capturados y de H1 nos permite estimar el efecto del componente de virilidad ya que la muestra de H1 representaría, en este caso, la resultante de la descendencia de los apareamientos ocurridos en el campo.

3.9.4 Utilización del recurso en el par de especies cactófilas *D. buzzatii* y *D. koepferae*

Esta parte del trabajo experimental se desarrolló en 2 fases: una en la población natural de Ruinas de Quilmes donde coexisten *D. buzzatii* y *D. koepferae* y en la que los potenciales sustratos lo constituyen *O. sulphurea* y *T. terschekii* (ver descripción en 3.1)

La otra fase del trabajo se llevó a cabo en el laboratorio, con moscas de ambas especies provenientes de la población natural.

3.9.4.1 Análisis de atracción y emergencias en la población natural

Se realizaron 2 muestreos, uno en Mayo de 1992 y otro en Diciembre de 1993. La metodología consistió en capturas de adultos y recolección de sustratos. Para la captura de los adultos se emplearon trampas convencionales y trampas naturales donde los atractivos fueron sustratos de las 2 especies hospedadoras.

En todos los casos se identificaron las especies capturadas. Dado que *D. buzzatii* y *D. koepferae* son especies sinmórficas, solamente pueden identificarse los machos ya que la genitalia de los mismos sirve como carácter diagnóstico mientras que, las hembras son morfológicamente indistinguibles y debe recurrirse a técnicas electroforéticas o citogenéticas

para poder diferenciarlas. Esta última fue la elegida y a tales efectos las hembras se colocaron individualmente en tubos con medio de cultivo de laboratorio. Se realizó el análisis citológico de una larva de la descendencia que permite la determinación de la especie.

Los sustratos recogidos fueron identificados, aislados en bolsas de polietileno y cada 24 horas se aspiraron las moscas emergidas. Estas fueron inmediatamente sexadas y mantenidas en frascos de vidrio con medio de laboratorio. Al cabo de 8 días se cruzaron los machos y las hembras emergidas pertenecientes a un mismo sustrato o grupo de sustratos. Las hembras se identificaron mediante el análisis citológico.

En mayo de 1992 se recogieron 7 brazos en descomposición de *T. terschekii* y 14 cladodios de *O. sulphurea*. Estos últimos se dispusieron en grupos de 2 o 3 sustratos conformando 5 grupos de sustratos. En la campaña realizada en diciembre de 1993 los sustratos de *T. terschekii* que se recogieron fueron 3 mientras que de *O. sulphurea* se recogió sólo un sustrato.

En esta parte del trabajo se comparó la proporción de adultos capturados de *D. buzzatii* y *D. koepferae* cuando los atractivos fueron las 2 especies hospedadoras. Además, se analizó la proporción de ambas especies emergidas.

La comparación de las proporciones de *D. buzzatii* y *D. koepferae* atraídas y emergidas de cada sustrato podría indicar si existen efectos de atracción, oviposición y/o viabilidad diferencial de ambas especies de los dos tipos de recursos. Con el fin de separar estos posibles efectos se diseñaron los experimentos que se detallan a continuación.

3.9.4.2 Determinación de parámetros de vida en el laboratorio

El estudio de la oviposición y la viabilidad diferencial así como de otros parámetros de vida se efectuó en el laboratorio con cepas de ambas especies de *Drosophila*. Las cepas se obtuvieron a partir de las isolíneas fundadas con las hembras capturadas y emergidas. Una vez identificada la especie a la que pertenecía cada hembra, cada 24 horas se retiraron los emergidos y se los sexó. De este modo, para cada especie de *Drosophila*, se mantuvieron separados machos y hembras descendientes de 73 isolíneas de

D. koepferae y 48 de *D. buzzatii*. En el momento de emplear estas moscas para la obtención de las cepas de *D. buzzatii* y *D. koepferae* se cruzaron los machos y las hembras siguiendo un diseño que permite evitar los cruzamientos endogámicos.

Con estas poblaciones se realizaron 2 experimentos en el laboratorio. En uno de ellos que se denominará de ahora en adelante "monoespecífico", 100 parejas de la misma especie se colocaron en cámaras de recolección de huevos. Para cada especie se hicieron 2 réplicas y el medio de puesta fue el de laboratorio. De cada una de las réplicas para ambas especies de *Drosophila* se determinó la viabilidad de huevo según el protocolo detallado en el punto 2.3.

De cada réplica, transcurridas 36 horas, se sembraron en tubos de vidrio 40 larvas de primer estadio en 5 cc. de medio de cultivo. Los medios de cría que se emplearon fueron de tres tipos: 1) medio de laboratorio que se lo consideró como control, 2) medio verde de *O. sulphurea* y 3) medio verde de *T. terschekii*. Se sembraron 5 tubos por clase de medio de cultivo por réplica.

De esta manera se sembraron por especie de *Drosophila*

2 réplicas x 3 medios x 5 tubos x 40 larvas = 1200 individuos

En este experimento se analizaron los siguientes parámetros (según el protocolo descrito en el punto 3.7): viabilidad de larva primer estadio - adulto, tiempo de desarrollo y tamaño del tórax.

En el segundo experimento, que se denominará de ahora en adelante "biespecífico", se colocaron simultáneamente en cámaras de recolección hembras de las dos especies de *Drosophila* que estaban previamente fecundadas, ya que 2 horas antes se colocaron en frascos con machos sexualmente maduros. En este experimento se emplearon 2 tipos de cámaras que se diferenciaron por el atractivo que llevaban, ya que en una se usó como estímulo el medio verde de *O. sulphurea* y en la otra el de *T. terschekii*. La proporción de hembras de *D. buzzatii* y *D. koepferae* que se pusieron en cada una de las cámaras fue la misma que la estimada en la población natural cuando se utilizaron como atractivos *O. sulphurea* y *T. terschekii* (ver resultados).

De cada cámara de recolección se hicieron 2 réplicas. De cada réplica se sembró en tubos 40 larvas de primer estadio por tubo (densidad óptima). Los medios de cultivo empleados fueron de dos tipos: el de laboratorio utilizado como control y el medio verde, que fuera concordante con el recurso utilizado como estímulo en la cámara de recolección.

En resumen y tomando como ejemplo una cámara donde el atractivo fue *O. sulphurea*, se pusieron hembras fecundadas de ambas especies según la proporción en que fueron capturadas en el campo cuando el atractivo fue *O. sulphurea*. Las larvas de primer estadio se sembraron en condiciones de densidad óptima en tubos con medio de laboratorio y medio verde de *O. sulphurea*.

Las hembras se dejaron durante 3 días en las cámaras de recolección y diariamente se cambió la caja de puesta. Como en las cámaras sólo se pusieron hembras, el número de tubos sembrados dependió de la cantidad de huevos que las hembras ovipusieron ya que la misma fue disminuyendo día a día.

Los trozos de cactus de ambos hospedadores que fueron empleados como medio de puesta el primer día, se conservaron luego de extraer las muestras de larvas de primer estadio que se sembraron. Estos trozos de cactus, se aislaron en bolsas de polietileno y transcurridos 3 días desde que fueron empleados en las cámaras de recolección, se suplementaron con más cactus de la misma especie.

En los experimentos "bienespecíficos" los parámetros de vida sólo se estimaron en los machos, dada la imposibilidad de determinar la especie a la que pertenecían las hembras. Como no se conocía la proporción de las dos especies presentes en las muestras de larvas de primer estadio sembradas, en lugar de viabilidad el parámetro que se consideró fue la relación *D. buzzatii*-*D. koepferae*. Una vez identificado cada macho emergido, se determinó el tiempo de desarrollo y el tamaño del tórax. Todos los parámetros se calcularon tanto en los tubos como en los trozos de cactus.

Para todos los experimentos llevados a cabo en el laboratorio la temperatura fue de $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, la humedad fue la ambiental y la iluminación continua.

3.10 Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos empleados en esta tesis fueron tanto pruebas paramétricas como no paramétricas. Para los primeros se corroboraron los supuestos pertinentes en cada caso y cuando no se cumplieron, se reemplazó por un análisis no paramétrico.

3.10.1 Transformaciones

Los cambios de escala (transformaciones) se realizaron con el fin de normalizar la distribución de la frecuencia de los datos, que es uno de los supuestos de los análisis paramétricos.

Los casos donde se aplicaron transformaciones generales fueron aquéllos en los que se analizaron los parámetros de vida: viabilidad, tiempo de desarrollo y tamaño del tórax, que fueron transformados de la siguiente manera:

viabilidad: $\text{arc sen } (p)^{1/2}$

tiempo de desarrollo: $\log (\text{tiempo de desarrollo})$

tamaño del tórax: $\log (\text{tamaño del tórax})$

3.10.2 Análisis de los datos

3.10.2.1 Variación geográfica del tamaño del tórax y su correlación con los polimorfismos cromosómicos

Las comparaciones de los tamaños del tórax de los machos capturados en Termas de Río Hondo, para determinar si los dos hospedadores mostraban diferencias en la atracción respecto del tamaño se realizó, mediante el análisis de la varianza (ANOVA). Asimismo, con un ANOVA se analizaron las posibles diferencias en los tamaños del tórax

entre machos capturados en Arroyo Escobar y Termas de Río Hondo, así como el efecto de las inversiones sobre este carácter morfométrico. Este diseño permite estudiar también la existencia de efectos interacción entre las poblaciones y los rearrreglos cromosómicos.

3.10.2.2 Efectos del tamaño del tórax sobre la longevidad en *D. buzzatii*

Los análisis estadísticos que se utilizaron en este experimento fueron tanto paramétricos como no paramétricos. Concluida la medición de las moscas emergidas y capturadas se analizó el sesgo y la kurtosis de las distribuciones de los tamaños, y se estudió su ajuste a la distribución normal mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov (Lillesford) para cada sexo y muestra. Como la muestra postselectiva (adultos capturados) incluía dos submuestras, una previa y otra posterior a la muestra preselectiva, se corroboró con el estadístico t de Student que ambas no difirieran significativamente; para tal fin los datos debieron ser transformados.

Para comparar las muestras pre y post-selectivas se utilizó el test de Mann-Whitney para cada sexo por separado, dado el alto grado de dimorfismo sexual que hay en esta especie. No pudo emplearse un estadístico paramétrico porque no fue posible efectuar una única transformación para normalizar los datos.

3.10.2.3 Selección de hábitat y análisis de componentes de selección (ACS) en una población natural de *D. buzzatii*

Previos a estos estudios en todas las muestras donde las frecuencias estimadas fueron las cariotípicas (larvas de tercer estadio, adultos emergidos, H1 y H2) se llevaron a cabo pruebas de chi-cuadrado de Bondad de Ajuste, para corroborar si la distribución de las frecuencias observadas difería de las esperadas por el principio de Hardy-Weinberg. En este tipo de muestras si a es el número de ordenaciones:

$a(a + 1)/2$ es el número de clases (cariotipos)

$a(a-1)/2$ es el número de grados de libertad

Entre los dos hospedadores se compararon las frecuencias cromosómicas obtenidas en todas las muestras (larvas de tercer estadio, adultos emergidos, machos capturados, H1 y H2). Para las muestras de machos capturados, H1 y H2 las comparaciones se realizaron mediante pruebas de chi-cuadrado de contingencia donde las filas correspondieron a las ordenaciones presentes en cada una de las muestras y las columnas representaron los dos hospedadores (*O. quimilo* y *O. ficus-indica*).

Las muestras obtenidas a partir de los sustratos naturales, larvas de tercer estadio y emergidos, se compararon mediante un análisis de la varianza (ANOVA). Como los tamaños muestrales obtenidos de cada especie de sustrato fue muy diferente, las frecuencias de las inversiones se transformaron a desviaciones estandarizadas de acuerdo a la fórmula propuesta por Christiansen y col. (1976) de la siguiente forma:

$$(p_i - p_o) (2N_i / (1 - p_o) p_o)^{1/2}$$

donde p_i es la frecuencia de un cierto rearrreglo en el sustrato i -ésimo,

p_o es la frecuencia media de ese rearrreglo en la especie de cactus a la que pertenece el sustrato i -ésimo y

N_i es el tamaño muestral del sustrato i -ésimo.

En el caso del ACS las comparaciones de las frecuencias cromosómicas entre fases consecutivas del ciclo vital se realizaron mediante un análisis de chi-cuadrado de contingencia. En este caso las tablas conformadas eran de $a \times b$ celdas, donde a es el número de ordenaciones y b las etapas del ciclo de vida que se compararon para cada uno de los componentes de selección. Dado que esta prueba estadística es poco sensible, también se utilizó el método propuesto por Anderson y col. (1979) que, consiste en el cálculo de las diferencias de frecuencias (Δp) entre fases consecutivas para cada ordenación en forma individual.

La comprobación de la significación estadística de los valores de Δp se obtiene del siguiente modo:

- en primer lugar se calcula el valor de delta p como

$$p_1 - p_2$$

cuyos valores representan las frecuencias de una dada ordenación en dos muestras distintas

- en segundo lugar se calcula la varianza de delta p como

$$\text{var } \Delta p = p(1 - p) \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)$$

donde p es la frecuencia media entre las muestras consideradas y n_1 y n_2 son los respectivos tamaños muestrales

- por último se realiza el cociente

$$\Delta p / (\text{var } \Delta p)^{1/2}$$

que se distribuye en forma normal pudiéndose obtener entonces la probabilidad asociada a cada valor estimado, a partir de la tabla de función de densidad de la distribución normal.

3.10.2.4 Explotación diferencial del recurso en *D. buzzatii* y *D. koepferae*

En el muestreo realizado en la población natural las diferencias que se observaron entre *D. buzzatii* y *D. koepferae* para cada medio atractivo (convencional, *O. sulphurea* y *T. terschekii*) se analizaron mediante un chi-cuadrado de bondad de ajuste donde, las composiciones de las filas y columnas dependieron de cada caso en particular puesto que las comparaciones fueron numerosas.

Respecto a los individuos emergidos de los sustratos naturales, una vez identificada la especie de *Drosophila* se determinó el porcentaje de emergencias de *D. buzzatii* y *D. koepferae* de cada uno de los dos recursos (*O. sulphurea* y *T. terschekii*). Además, se estimaron las ventanas de

emergencia de las dos especies de *Drosophila* en ambos hospedadores. La ventana de emergencia se define como el tiempo transcurrido desde la primera emergencia hasta la última.

Los métodos estadísticos empleados consistieron en tablas de chi-cuadrado de contingencia. Con esta prueba se compararon los dos recursos disponibles en cuanto a la atracción que los mismos ejercen sobre ambas especies de *Drosophila* y también para determinar si los cactus tenían algún efecto en la oviposición y/o posterior desarrollo de las larvas. En esta última comparación las clases que se consideraron fueron moscas capturadas y moscas emergidas y el chi-cuadrado de contingencia se realizó para cada hospedador.

En el caso de los experimentos de laboratorio, los análisis estadísticos utilizados variaron entre el experimento monoespecífico y el biespecífico. En el monoespecífico, exceptuando la eclosionabilidad o viabilidad de huevo que se analizó con un chi-cuadrado de contingencia, los restantes parámetros (viabilidad larva primer estadio - adulto, tiempo de desarrollo y tamaño del tórax) se analizaron mediante análisis de la varianza (ANOVA) encajado o anidado utilizando las transformaciones correspondientes. Para el tiempo de desarrollo y el tamaño del tórax los ANOVA se hicieron para cada sexo por separado dado el dimorfismo sexual que hay para estos caracteres.

En los experimentos biespecíficos, el parámetro que se consideró fue el porcentaje de machos de *D. buzzatii* respecto del total de machos emergidos. A partir de este dato se realizó un análisis de regresión para cada hospedador por separado, donde el factor independiente correspondió al tiempo que estuvieron las hembras de ambas especies de *Drosophila* oviponiendo en las cajas de puesta (en este caso 3 días) mientras que el factor dependiente fue el porcentaje de machos de *D. buzzatii* arriba mencionado. Este análisis permitió determinar si las hembras de *D. buzzatii* y las de *D. koepferae* oviponían proporcionalmente la misma cantidad de huevos y si la misma era constante en el tiempo.

Por último, con las moscas que emergieron de los trozos de los cactus de *O. sulphurea* y *T. terschekii* utilizados como estímulo en las cajas de oviposición (desarrollo en condiciones no controladas) y las moscas emergidas de los tubos del experimento biespecífico (desarrollo en condiciones controladas), que fueron sembrados a partir de los trozos de

cactus antes mencionados, se hicieron estudios comparativos considerando el tiempo de desarrollo y el tamaño del tórax para determinar si existían efectos denso-dependientes.

4. RESULTADOS

4.1 Variación geográfica del tamaño del tórax en *D. buzzatii* y su correlación con el polimorfismo cromosómico.

El diseño experimental de este punto de la tesis, tal como lo explicité en los materiales y métodos, consistió en la medición del tamaño del tórax con la posterior caracterización citogenética de los machos de *D. buzzatii* capturados en las poblaciones de Termas de Río Hondo y Arroyo Escobar.

En la población de Termas de Río Hondo los machos se capturaron utilizando 2 tipos de atractivos: los cladodios en descomposición de *O. quimilo* y de *O. ficus-indica*. Dada la baja frecuencia de la ordenación $2jz^3$ en Termas de Río Hondo, se reunieron las moscas portadoras de $2j$ y $2jz^3$ denominándose a este grupo filada $2j$, ya que filogenéticamente la ordenación jz^3 deriva de la j . La filada j se comparó con la otra ordenación presente en ambas poblaciones: 2 estandar (st).

Los tamaños medios del tórax para las 2 ordenaciones cromosómicas del par 2 se detallan en la tabla 4.1.1. El análisis estadístico (tabla 4.1.2) demostró que entre los machos capturados en los 2 sustratos no había diferencias significativas.

Los machos portadores de la filada $2j$ fueron significativamente más grandes que los portadores de la 2 ordenación estandar (st). La interacción no fue significativa con lo cual, el atractivo de captura no tiene influencia en la atracción de los machos de diferentes tamaños del tórax.

De acuerdo a este resultado, se pueden comparar las poblaciones de Termas de Río Hondo (que presenta 2 atractivos) y Arroyo Escobar (donde *O. vulgaris* es el único recurso).

Los valores medios del tamaño del tórax para la filada $2j$ y la ordenación $2st$ en ambas poblaciones se muestran en la tabla 4.1.3.

Los resultados del ANOVA, en el cual poblaciones e inversiones fueron los efectos principales y la interacción entre ambos se muestra en la tabla 4.1.4. Si bien los tamaños del tórax de los machos pertenecientes a las 2 poblaciones (Arroyo Escobar y Termas de Río Hondo) no mostraron diferencias significativas, los portadores de la filada j fueron significativamente más grandes que los portadores de la standard. Tampoco, la interacción inversión población tuvo efectos significativos.

TABLA 4.1.1

Tamaños medios del tórax (x) de machos capturados en ambos sustratos en la población de Termas de Río Hondo expresada en mm. con su correspondiente error estandar (E.S.) por ordenación. N= tamaño de la muestra.

----- TERMAS DE RIO HONDO -----				
	<i>O. ficus indica</i>		<i>O. quimilo</i>	
	j	st	j	st
N	60	111	77	102
X	0.983	0.968	0.987	0.960
E.S.	0.0079	0.0058	0.0070	0.0060

TABLA 4.1.2

Análisis de varianza del tamaño del tórax en machos capturados en Termas de Río Hondo

Fuente de Variación	SC	gl	CM	F	P

INVERSIONES (I)	0.0076	1	0.0076	9.911	0.002
SUSTRATOS (S)	0.0002	1	0.0002	0.234	0.634
I por S	$5.7 \cdot 10^{-4}$	1	$5.7 \cdot 10^{-4}$	0.749	0.397
DENTRO	0.2650	346	$7.7 \cdot 10^{-4}$		

TABLA 4.1.3

Tamaños medios del tórax (x) de machos capturados en ambas poblaciones expresada en mm. con su correspondiente error estandar (E.S.) por ordenación. N= tamaño de la muestra.

	TERMAS DE RIO HONDO		ARROYO ESCOBAR	
	j	st	j	st
N	137	213	278	65
X	0.985	0.964	0.996	0.980
E.S.	0.0063	0.0051	0.0047	0.0092

TABLA 4.1.4

Análisis de varianza del tamaño del tórax de los machos capturados en ambas poblaciones

Fuente de Variación	SC	gl	CM	F	P
INVERSIONES (I)	0.0098	1	0.0098	8.637	0.0034
POBLACION (P)	0.0028	1	0.0028	2.544	0.112
I por P	$1.94 \cdot 10^{-4}$	1	$1.94 \cdot 10^{-4}$	0.170	0.6844
Dentro	0.7850	689	0.0011		

En conclusión, los machos portadores de la filada 2j tienen un tamaño del tórax mayor que aquellos portadores de la inversión 2st más allá de las variaciones micro y macroambientales.

4.2 Efectos del tamaño del tórax en la longevidad en una población natural de *Drosophila buzzatii*.

Una vez determinado que las ordenaciones del cromosoma 2 tienen efecto sobre el tamaño del tórax y dada la facilidad de su medición, es necesario determinar si el tamaño del tórax tiene efecto sobre algún componente del fitness para emplear este carácter como un parámetro adaptativo.

El objetivo de este punto es analizar la relación que hay entre el tamaño del tórax y la longevidad. La metodología consistió en el análisis de las posibles diferencias en el tamaño medio del tórax entre 2 muestras capturadas en la naturaleza: recién emergidos y adultos capturados.

Los valores del tamaño medio con su correspondiente error standard, número de individuos medidos así como los estadísticos muestrales que miden el sesgo y la curtosis (g_1 y g_2 , respectivamente) para todas las muestras, se presentan en la tabla 4.2.1. El sesgo (g_1) y la curtosis (g_2) son estadísticos que se emplean para establecer si la distribución de frecuencia obtenida sigue una distribución normal (Sokal y Rohlf, 1981).

Las moscas capturadas, tanto en Marzo como en Abril, fueron en promedio de mayor tamaño que las emergidas. En el caso de las capturadas, las de Abril tuvieron en promedio un mayor tamaño que las capturadas en Marzo. Por otra parte existe un alto dimorfismo sexual en este carácter, como lo corroboran las diferencias significativas que se obtuvieron para este componente entre los emergidos (ver componente sexo en la tabla 4.2.3)

Los valores obtenidos de sesgo y curtosis fueron distintos en las 3 muestras de ambos sexos, sugiriendo que las distribuciones son distintas. Las distribuciones pueden observarse en las figuras 4.2.1, 4.2.2 y 4.2.3 para las muestras de capturados en Marzo, capturados en Abril y emergidos, respectivamente.

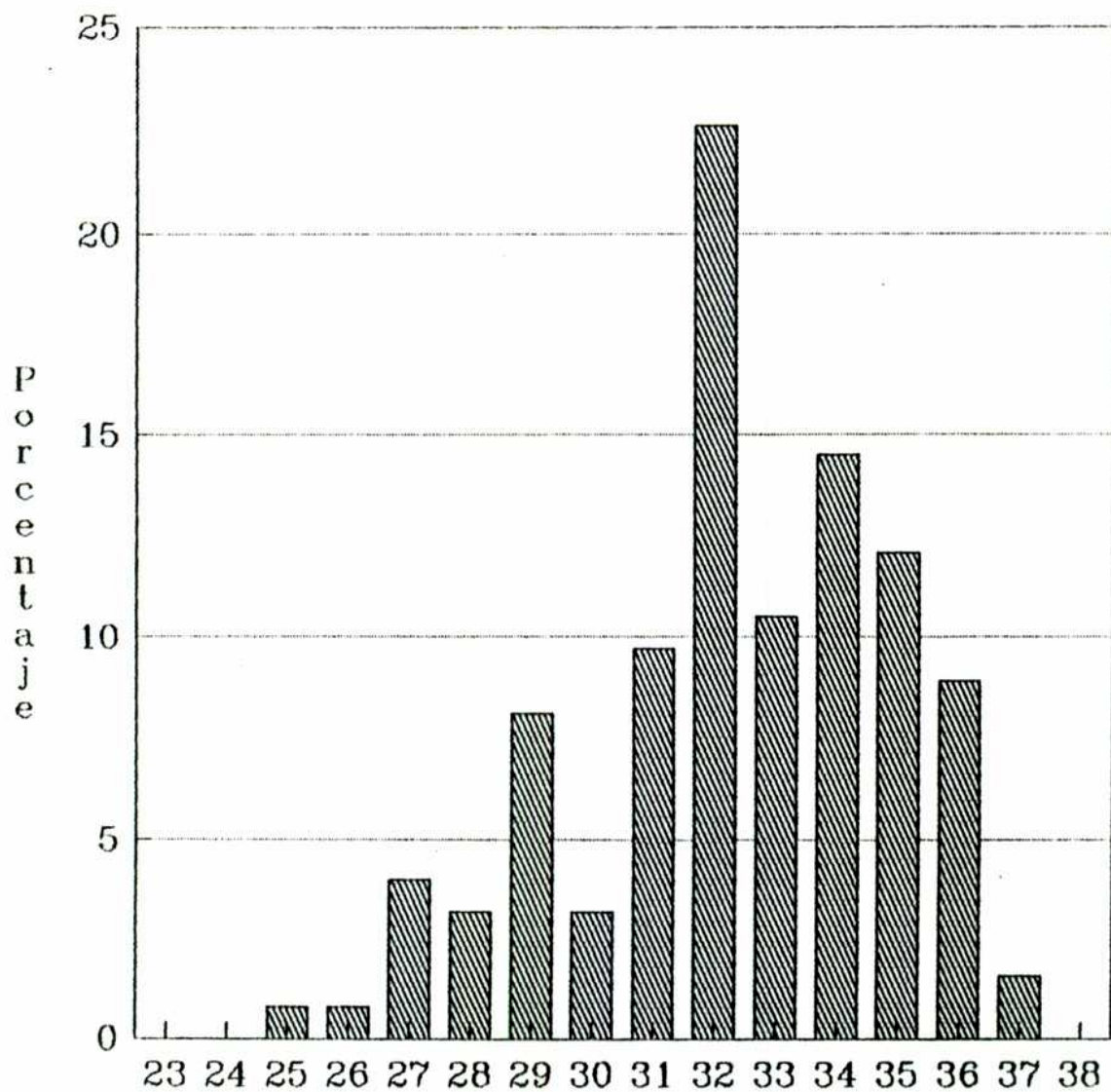
TABLA 4.2.1

Tamaño medio del tórax en mm de los individuos emergidos de los sustratos de *Opuntia vulgaris* y de los adultos que se capturaron antes y después de las emergencias. También se presentan los valores del sesgo (G1) y curtosis (G2) y los resultados de la prueba de Kolmogorov-Smirnoff (K-S) de ajuste a la distribución normal. El error estandar se presenta entre paréntesis. N: Tamaño muestral.

Muestra	N	X	G1	G2	K-S (D _{MAX})
MACHOS					
Emergidos	305	0.9507 (0.0046)	-0.050 (0.140)	-0.612* (0.218)	0.101***
Capturados (Marzo)	291	0.9841 (0.0053)	-0.689*** (0.144)	-0.101 (0.287)	0.075***
Capturados (Abril)	137	1.0001 (0.0068)	-0.543** (0.209)	-0.154 (0.419)	0.074***
HEMBRAS					
Emergidos	282	0.9844 (0.0058)	0.089 (0.146)	-0.748** (0.292)	0.110**
Capturados (Marzo)	263	1.0555 (0.0065)	-0.438** (0.151)	-0.561*** (0.302)	0.054***
Capturados (Abril)	96	1.0776 (0.0090)	-0.404 (0.246)	-0.595 (0.489)	0.084***

*= p<0.05, **= p<0.01, ***= p<0.001

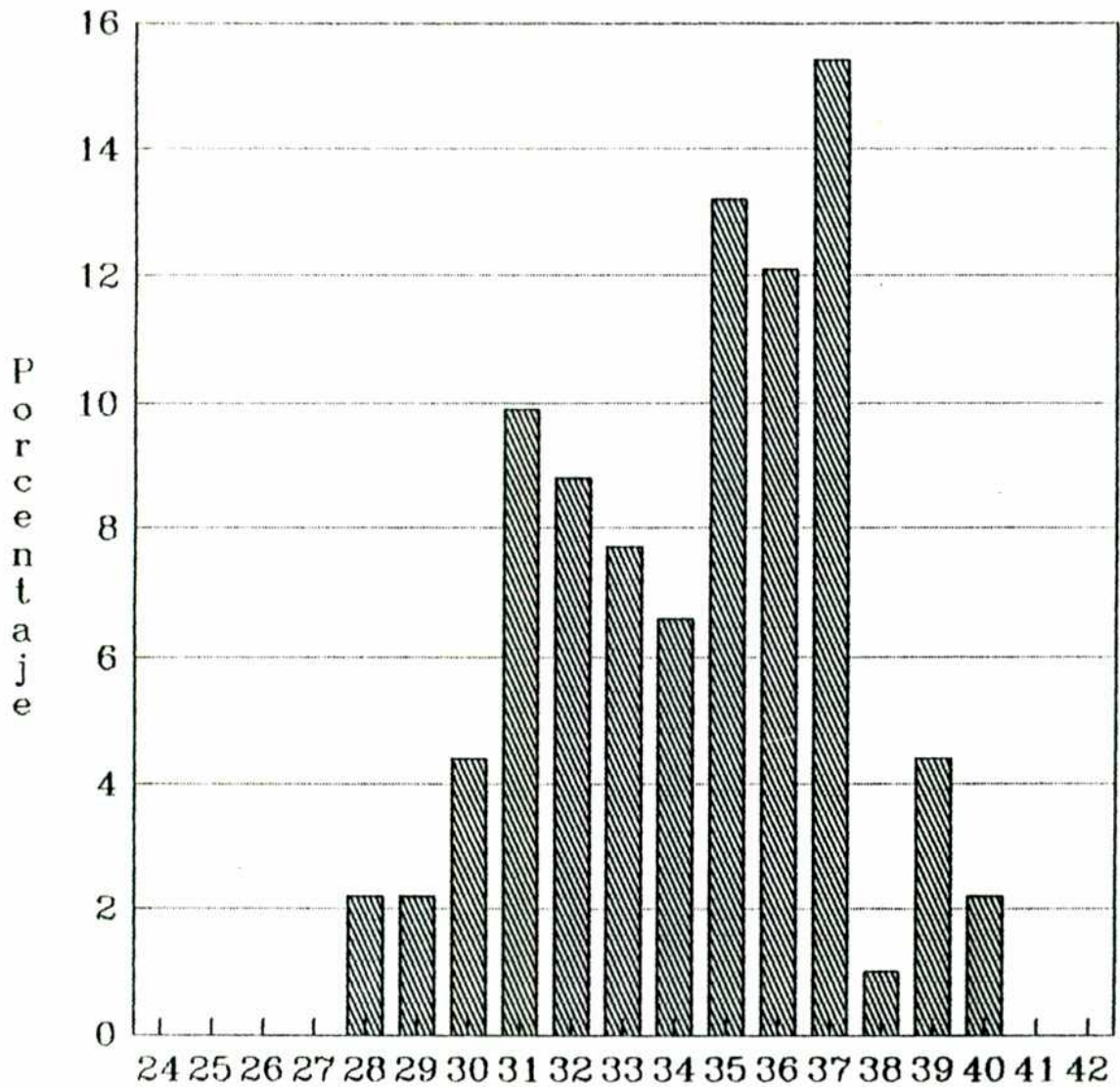
Figura 4.2.1 a (machos)
Distribución de las frecuencias de los
tamaños del tórax. Capturados en Marzo




▨ Machos Capturados

En unidades oculares (1 u.o.=0.031 mm.)

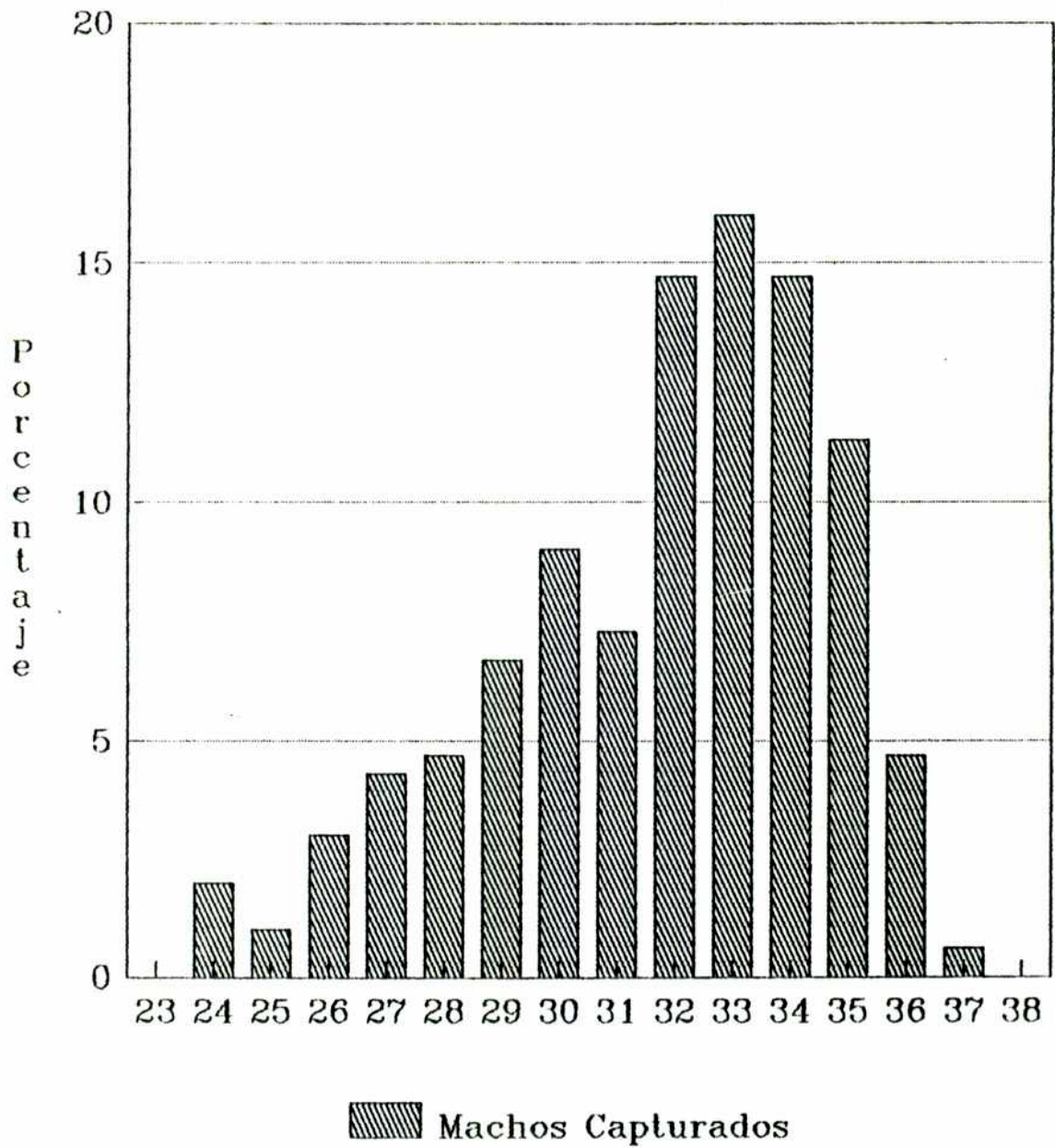
Figura 4.2.1 b (hembras)
Distribución de las frecuencias de los
tamaños del tórax. Capturadas en Marzo



 Hembras Capturadas

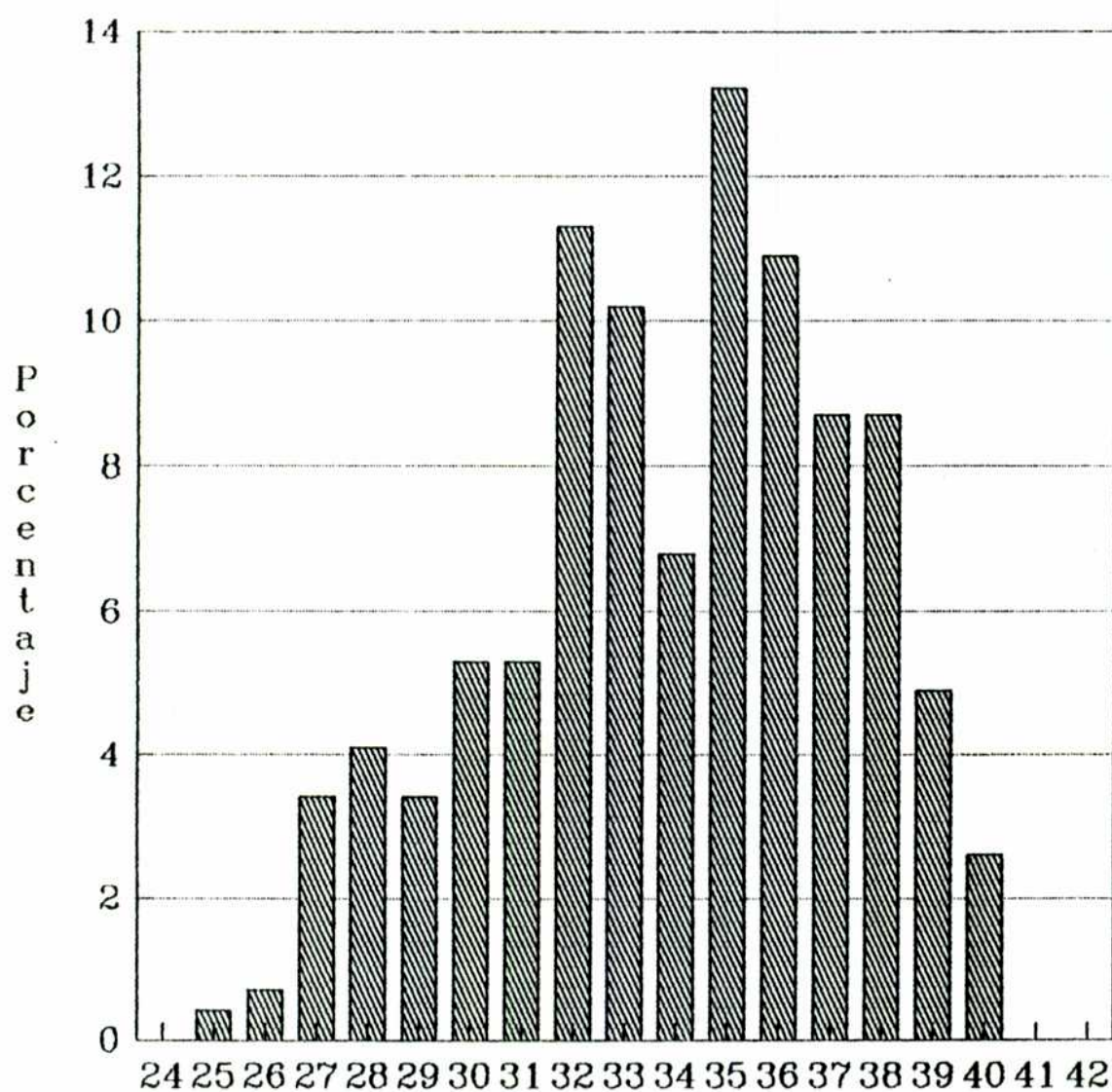
En unidades oculares (1 u.o.=0.031mm.)


Figura 4.2.2 a (machos)
Distribución de las frecuencias en el
tamaño del tórax. Capturados en Abril



En unidades oculares (1 u.o.=0.031 mm.)

Figura 4.2.2 b (hembras)
 Distribución de las frecuencias de los
 tamaños del tórax. Capturadas en Abril



 Hembras Capturadas

En unidades oculares (1 u.o.=0.031 mm.)

Figura 4.2.3 a (machos)
Distribución de las frecuencias de los
tamaños del tórax. Emergidos

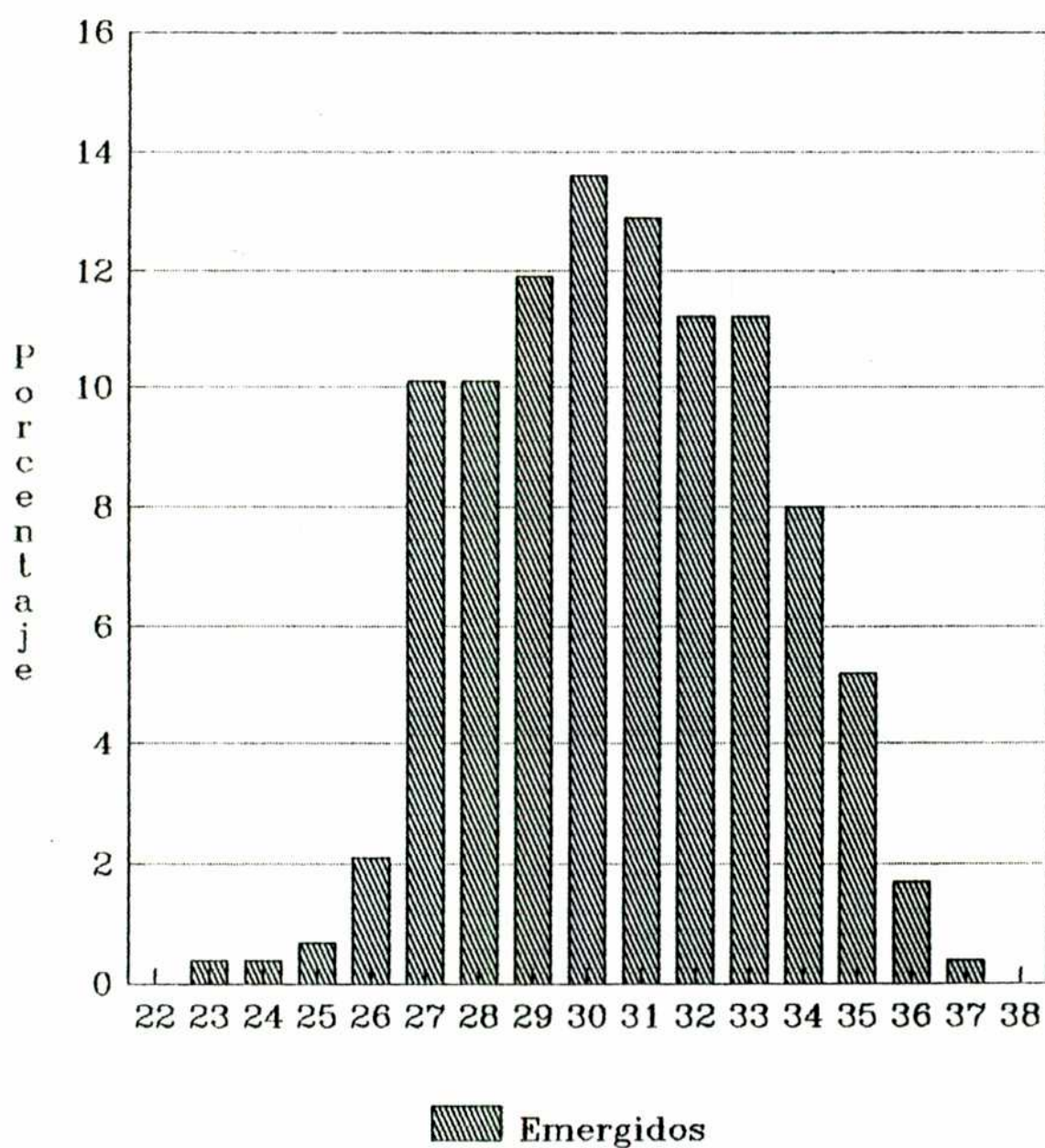
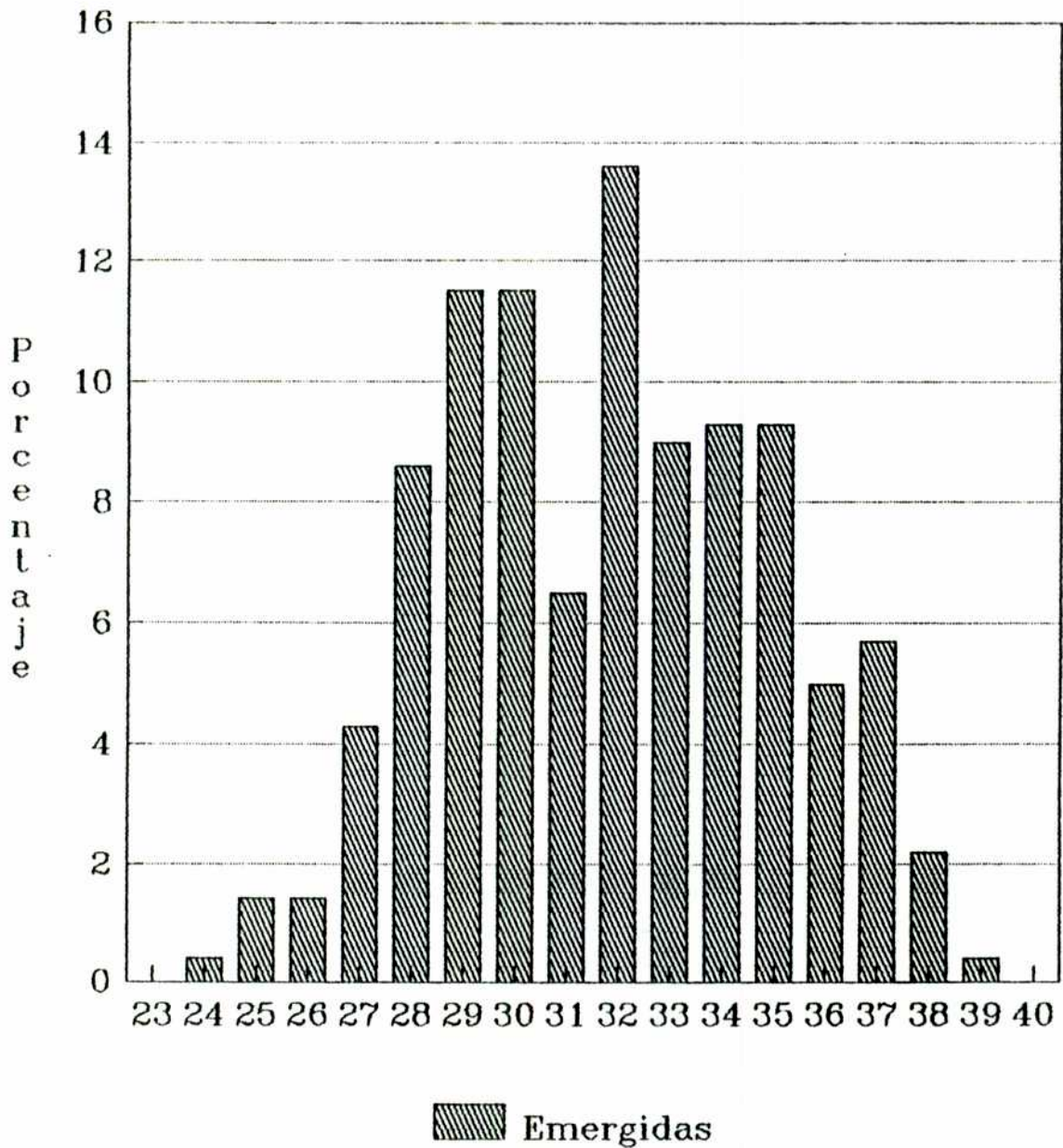


Figura 4.2.3 b (hembras)
Distribución de las frecuencias de los
tamaños del tórax. Emergidas



La muestra de moscas emergidas no es sesgada contrastando con el significativo sesgo en dirección de tamaños del tórax menores observados en ambas muestras de adultos capturados. En cuanto a la curtosis, la muestra de emergidos presentó una distribución platicúrtica que no fue observada en las muestras de capturados (excepto la muestra de hembras capturadas en Marzo). Según estos resultados, las muestras no se ajustarían a una distribución normal (ya que los valores de g_1 y g_2 deberían ser 0 o presentar un intervalo de confianza que contenga al cero). Este desajuste se vio corroborado con la prueba de Kolmogorov-Smirnov (K-S) que determinó que la distribución de los datos no es normal (tabla 4.2.1, columna 5).

La comparación entre ambas muestras de adultos capturados, para establecer si se podía considerar una sola muestra post-selectiva, se realizó mediante una prueba de "t" de Student. Como esta prueba es paramétrica y supone distribución normal, los datos de ambas capturas se normalizaron con la transformación logarítmica. El resultado mostró que las diferencias entre ambas capturas fueron marginalmente significativas ($t=-1.786$, $p=0.075$ y $t=-1.834$, $p=0.067$; para machos y hembras respectivamente). Con estos valores se podría suponer que no habría diferencias entre ambas capturas y por lo tanto que el tamaño permanecería constante durante el período en que se realizó el experimento. Para realizar un análisis más exhaustivo, la muestra de emergidos se comparó con ambas muestras de capturados por separado.

Los resultados obtenidos con la prueba de Mann-Whitney (Sokal y Rohlf, 1981 pág. 432) confirmaron que el tamaño del tórax en ambas muestras de adultos capturados fue significativamente mayor que la de las moscas emergidas: $z=-5.25$, $p<0.0001$ y $z=-5.81$ $p<0.0001$ para las comparaciones realizadas entre machos emergidos y capturados en Marzo y Abril, respectivamente. En el caso de las hembras el valor del estadístico fue para ambos casos: $z=-7.8$, $p<0.001$ y $z=-7.55$, $p<0.0001$.

Estos resultados sugieren que la selección por longevidad estaría favoreciendo a las moscas más grandes (selección direccional).

Una de las predicciones que la teoría de la genética de poblaciones hace en cuanto a los efectos que tendría la selección direccional es la disminución de la varianza posterior al evento selectivo. En este caso tal reducción no se detecta, dado que las varianzas de las muestras de

emergidos, capturados en Marzo y capturados en Abril no se diferenciaron significativamente, cuando se probó la homogeneidad de varianzas (homocedacia) mediante la prueba de Bartlett ($\chi^2=4.44$, g.l= 2, $p<0.25$; $\chi^2=4.35$, g.l= 2, $p<0.25$ para machos y hembras respectivamente). Este resultado indica que no hubo selección direccional para el tamaño entre las dos capturas (Marzo y Abril).

La desviación platicúrtica que se observó en la distribución de las frecuencias de la muestra de emergidos (tabla 4.2.1, figura 4.2.3) sería producto fundamentalmente de una distribución multimodal que podría estar reflejando la alta heterogeneidad que hay entre rots.

Con el fin de establecer cuál fue la incidencia de la heterogeneidad de los sustratos sobre los tamaños del tórax se realizó un ANOVA de 2 factores, donde un factor correspondió al sexo y el otro a los sustratos. Los resultados del ANOVA mostraron (tabla 4.2.2) que además del dimorfismo sexual, el tamaño del tórax fue significativamente diferente entre las moscas que emergieron de diferentes sustratos. En este ANOVA como el factor sustratos y la interacción son aleatorios se puede determinar qué porcentaje de la varianza total se explica por cada uno de los factores aleatorios. El error, es decir la variación dentro, explicaría el 51.55%, la interacción sólo el 1.04% mientras que el 47.41% restante de la varianza total observada en los tamaños del tórax de los individuos emergidos corresponde a las diferencias entre sustratos.

Este último resultado, está marcando la importancia del efecto de las condiciones del sustrato donde se desarrollan las larvas sobre el tamaño, que afecta por lo tanto los componentes tardíos del fitness del individuo.

4.3 Análisis de selección de hábitat y componentes de selección en *Drosophila buzzatii* en la población de Termas de Río Hondo

El carácter adaptativo del polimorfismo cromosómico de *D. buzzatii* se demostró en 2 poblaciones naturales: una del área de origen, Arroyo Escobar, donde el hospedador es *O. vulgaris* (Hasson y col., 1991) y la otra en una población del Viejo Mundo, Carboneras (España), donde el recurso es *O. ficus-indica* (Ruiz y col., 1986). Estas dos poblaciones mostraron diferencias en las frecuencias de inversión y en algunos

TABLA 4.2.2

Análisis de la varianza entre moscas de ambos sexos que emergieron de diferentes sustratos

Fuente de variación	SC	gl	CM	F	p
Sexo	0.1549	1	0.1549	28.16	<0.001
Sustratos	1.7206	13	0.1324	32.59	<0.001
Interacción	0.0717	13	0.0055	1.36	0.175
Dentro	1.9375	477	0.0041		

componentes selectivos cambios significativos entre dos estadios sucesivos del ciclo de vida.

Hasson y col. (1991) sugirieron tres explicaciones alternativas para las diferencias observadas entre Arroyo Escobar y Carboneras: 1) cambio de hospedador, 2) efecto fundador o 3) la combinación de ambos eventos.

El objetivo de este punto fue analizar en la población de Termas de Río Hondo donde *D. buzzatii* utiliza dos hospedadores diferentes: *O. quimilo* y *O. ficus-indica*, si el polimorfismo cromosómico percibe la heterogeneidad ambiental y, de confirmarse esto, si la utilización diferencial del recurso puede explicar los cambios observados en la colonización del Viejo Mundo. Para alcanzar este objetivo se realizó un análisis de componentes de selección que permitió además estudiar la dinámica selectiva del polimorfismo cromosómico en Termas de Rio Hondo.

Las frecuencias cariotípicas absolutas en las muestras de larvas de tercer estadio en cada uno de los sustratos se muestran en las tablas 4.3.1 (a, *O. quimilo* y b, *O. ficus-indica*). Mientras que las frecuencias en las muestras de los adultos emergidos se pueden observar en las tablas 4.3.2 (a, *O. quimilo* y b, *O. ficus-indica*).

Las frecuencias absolutas de los cariotipos del cromosoma 2 para las muestras huevos-1 (H1), huevos-2 (H2), larvas y adultos emergidos obtenidas sobre cada uno de los sustratos, se muestran en la tabla 4.3.3. En estas tablas puede observarse que las muestras obtenidas sobre ambos sustratos fueron polimórficas para 3 ordenaciones: j, jz³ y standard (ST). Las pruebas de chi-cuadrado de bondad de ajuste no mostraron diferencias significativas respecto de las frecuencias esperadas por el principio de Hardy-Weinberg para ninguna de las muestras estudiadas. Particularmente, para la muestra de H1, este ajuste estaría sugiriendo que en la población los apareamientos ocurren al azar es decir, que son independientes del cariotipo.

Con estos datos es posible determinar si existe algún efecto debido a la heterogeneidad ambiental, sobre el polimorfismo cromosómico de *D. buzzatii* por medio de la comparación entre muestras obtenidas sobre ambos tipos de recursos.

En la tabla 4.3.4 (a y b) se presentan las frecuencias cromosómicas relativas para cada una de las muestras obtenidas sobre cada especie de cactus. En general, las frecuencias cromosómicas no son significativamente

TABLA 4.3.1

Frecuencias cariotípicas para el cromosoma 2 en muestras de larvas obtenidas de las dos especies hospedadoras: *Opuntia quimilo* y *O. ficus-indica*

a) *Opuntia quimilo*

Sustrato	Cariotipos					Total
	st/st	st/j	st/jz3	j/j	j/jz3	
1	4	5	-	4	-	13
2	7	13	1	16	-	37
3	13	16	-	3	1	33
4	17	18	-	3	-	38
5	20	8	-	1	-	29
6	--	12	2	10	-	24
7	11	25	-	5	-	41
8	--	1	-	-	-	1
9	17	17	-	5	-	39
10	11	23	-	3	-	37
11	4	4	1	2	-	11
12	--	2	-	-	-	2
13	17	13	-	6	-	36
14	8	20	-	6	4	38
15	3	7	-	2	-	12
16	-	3	-	1	1	5
17	8	19	1	11	-	39
18	1	4	2	-	1	8
Total	141	210	7	78	7	443

b) *Opuntia ficus-indica*

Sustrato	Cariotipo					Total
	st/st	st/j	st/jz3	j/j	j/jz3	
1	9	10	2	12	1	34
2	9	9	2	3	-	23
3	3	1	-	-	-	4
4	3	3	-	2	2	10
5	11	23	1	1	-	36
6	8	18	4	7	1	38
7	13	16	1	4	-	34
8	10	21	-	-	-	31
9	10	9	1	3	1	24
10	3	5	-	-	-	8
11	10	13	-	3	-	26
Total	89	128	11	35	5	268

TABLA 4.3.2

Frecuencias cariotípicas para el cromosoma 2 en muestras de individuos emergidos de las dos especies hospedadoras: *O. quimilo* y *O. ficus-indica*.

a) *Opuntia quimilo*

Sustrato	Cariotipo					Total
	st/st	st/j	st/jz3	j/j	j/jz3	
1	4	9	1	3	-	17
2	2	5	-	-	-	7
3	1	5	-	4	-	10
4	11	15	-	6	-	32
5	2	4	1	1	-	8
6	6	11	1	3	2	23
7	1	3	-	6	-	10
8	6	17	-	3	-	26
9	3	5	-	1	-	9
10	17	27	-	3	-	47
11	14	13	1	8	1	37
12	4	6	-	1	-	11
13	-	4	-	-	1	5
Total	71	124	4	39	4	242

b) *Opuntia Ficus-indica*

Sustrato	Cariotipo					Total
	st/st	st/j	st/jz3	j/j	j/jz3	
1	5	10	-	4	-	19
2	2	3	-	-	-	5
3	2	4	-	-	-	6
4	5	7	1	2	2	17
5	4	11	-	-	-	15
6	1	4	-	1	-	6
7	2	1	-	1	-	4
8	3	2	-	1	-	6
9	7	16	-	6	1	30
10	24	46	3	18	1	92
Total	55	104	4	33	4	200

TABLA 4.3.3

Frecuencias cariotipicas en las muestras de Huevos 1 (H1), Huevos 2 (H2), larvas (L) y Adultos emergidos (Ae) en ambos hospedadores. Se presentan los valores del chi-cuadrado de bondad de ajuste (grados de libertad= 3) de acuerdo a las frecuencias esperadas por la Ley de Hardy-Weinberg.

Cariotipo	<i>Opuntia quimilo</i>					<i>Opuntia ficus-indica</i>			
	H1	H2	L	Ae		H1	H2	L	Ae
st/st	68	147	141	71	°	100	81	89	55
st/j	109	195	210	124	°	112	118	128	104
st/jz3	2	13	7	4	°	4	4	11	4
j/j	40	84	78	39	°	34	35	35	33
j/jz3	6	6	7	4	°	6	4	5	4
jz3/jz3	-	-	-	-	°	1	-	-	-
Total	225	445	443	242		257	242	268	200
χ^2	0.15	1.97	0.23	1.81		0.18	0.57	1.50	1.66

TABLA 4.3.4

Frecuencias cromosómicas en las muestras: Huevos 1 (H1), Huevos 2 (H2), Larvas (L), Adultos emergidos (Ae) y machos capturados (machos) en: *O. quimilo* y *O. ficus-indica*

a) *O. quimilo*

Ordenación	machos	H1	H2	L	Ae
st	0.5633	0.5489	0.5640	0.5632	0.5578
j	0.4061	0.4333	0.4146	0.4210	0.4256
jz3	0.0306	0.0178	0.0213	0.0158	0.0166
total	229	450	890	886	486

b) *O. ficus-indica*

Ordenación	machos	H1	H2	L	Ae
st	0.6253	0.6148	0.5868	0.5914	0.5450
j	0.3555	0.3619	0.3967	0.3787	0.4351
jz3	0.0202	0.0233	0.0165	0.0299	0.0219
total	248	514	424	536	410

diferentes, siendo la ordenación jz3 la más rara en todas las muestras obtenidas sobre ambas especies de *Opuntia* mientras que la 2 st fue la más frecuente en todos los casos.

Para comprobar si había diferencias entre las frecuencias cromosómicas de las muestras de adultos capturados sobre la necrosis de cada una de los dos hospedadores, se hicieron comparaciones por medio de pruebas de chi-cuadrado. Los resultados (tabla 4.3.5) mostraron que para las muestras H1, H2 y machos capturados las diferencias no fueron significativas.

Con respecto a las muestras derivadas de los sustratos naturales (larvas y adultos emergidos) de ambas especies de sustratos, el análisis que se efectuó en este caso fue un ANOVA que se realizó para cada estadio por separado.

Para poder realizar los ANOVAs correspondientes las frecuencias de las muestras de larvas y adultos emergidos, se transformaron para compensar las diferencias en los tamaños muestrales provenientes de las 2 especies hospedadoras que podrían afectar el ANOVA. Los sustratos que se incluyeron en este análisis fueron aquéllos en los que el tamaño muestral fue mayor o igual a 5 individuos. Los resultados de estos análisis de la varianza mostraron que las frecuencias de inversiones estimadas en ambos estadios no son significativamente diferentes entre muestras obtenidas en ambas especies de *Opuntia* (tabla 4.3.6, a y b).

En resumen, los análisis efectuados mostraron que no hay diferencias en las frecuencias cromosómicas entre muestras provenientes de los dos hospedadores naturales que *D. buzzatii* utiliza en la población de Termas de Rio Hondo, tanto en las muestra de adultos capturados como en las de sustratos naturales. Estos resultados permiten reunir las muestras derivadas de las necrosis de *O. quimilo* y *O. ficus-indica* para realizar el análisis de componentes de selección.

Las frecuencias absolutas de los cariotipos del cromosoma 2 para las muestras huevos-1, huevos-2, larvas y adultos emergidos resultantes se muestran en la tabla 4.3.7. Al igual que en los análisis individuales, las frecuencias cariotípicas del conjunto de los individuos de esta población (*O. quimilo* más *O. ficus-indica*) no fueron significativamente diferentes de las frecuencias esperadas por el principio de Hardy-Weinberg, en ninguna de las muestras, de acuerdo a los valores del chi-cuadrado de bondad de

TABLA 4.3.5

Resultados de las pruebas de chi-cuadrado de contingencia para las comparaciones de las frecuencias cromosómicas entre muestras de adultos obtenidos sobre *O. quimilo* y *O. ficus-indica* para las muestras de machos capturados, Huevos 1 (H1) y Huevos 2 (H2) (grados libertad = 2).

muestra	χ^2	p
machos	2.05	n.s.
H1	5.20	0.1 > p > 0.05
H2	0.89	n.s.

TABLA 4.3.6

Análisis de la varianza de las frecuencias cromosómicas transformadas (según el método de Christiansen y col. (1976)) estimadas en las muestras obtenidas de los sustratos naturales: a) larvas de tercer estadio y b) adultos emergidos obtenidas de los 2 cactus hospedadores: *O. quimilo* y *O. ficus-indica*.

a) larvas

Componente	SC	GL.	CM	F	p
Entre cactus	0.3669	1	0.36687	0.1254	0.1254
Dentro	78.9810	27	2.92522		

b) adultos emergidos

Componente	SC	GL.	CM	F	p
Entre cactus	1.7296	1	1.72964	1.3269	0.2623
Dentro	27.3738	21	1.30351		

TABLA 4.3.7

Frecuencias cariotípicas globales en las muestras Huevos 1 (H1), Huevos 2 (H2), Larvas (L) y Adultos emergidos (Ae) sumando los datos obtenidos de *O. quimilo* y *O. ficus-indica*. Se presentan los valores de las pruebas de chi-cuadrado de bondad de ajuste respecto a las frecuencias esperadas por la ley de Hardy-Weinberg (grados de libertad: 3).

Ordenación	H1	H2	L	Ae
st/st	168	228	230	126
st/j	221	313	338	218
st/jz3	6	17	18	8
j/j	74	119	113	72
j/jz3	12	10	12	8
jz3/jz3	1	--	--	--
total	482	687	711	432
χ^2	4.47	1.01	1.48	2.08

ajuste. Este resultado es el esperado dado que la población de Termas de Río Hondo no se encuentra estructurada.

Las frecuencias cromosómicas, de la población de Termas de Río Hondo se presentan en la tabla 4.3.8. Con estos datos es posible realizar el análisis de componentes de selección comparando las frecuencias cromosómicas entre estadios sucesivos del ciclo de vida. Estas comparaciones se realizaron por medio de tablas de chi-cuadrado de contingencia y, los resultados de estas pruebas que se muestran en la tabla 4.3.9 (columna 1) indican que las inversiones del cromosoma 2 no tendrían efecto sobre ninguno de los componentes analizados.

Sin embargo, como la prueba de chi-cuadrado podría estar subestimando un cambio de frecuencia (ver materiales y métodos) se hizo un análisis de variación de las frecuencias para cada una de las inversiones. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 4.3.9, donde puede observarse que las variaciones de frecuencias entre estadios no fueron significativas para ninguna de las ordenaciones presentes en esta población, excepto el caso de la ordenación 2j para el componente de longevidad que fue la única comparación que mostró cambios significativos de las 15 comparaciones efectuadas.

Estos resultados contrastan con las observaciones realizadas en las poblaciones de Carboneras (Ruiz y col., 1986) y Arroyo Escobar (Hasson y col., 1991), en las que sí se detectaron numerosos efectos significativos.

4.4. Selección de habitat en las especies cactófilas *D. buzzatii* y *D. koepferae*.

4.4.1 Utilización del recurso

En la población de Ruinas de Quimes se encuentran las especies sinmórficas *D. buzzatii* y *D. koepferae* que utilizan para alimentarse y oviponer los mismos recursos. Con el objetivo de establecer si entre las dos especies existe selección de habitat y las posibles causas de la misma, se llevaron a cabo trabajos que consistieron en diversos experimentos realizados tanto en la población natural como en el laboratorio.

TABLA 4.3.8

Frecuencias cromosómicas de las muestras Huevos 1 (H1), Huevos 2 (H2), Larvas (L), Adultos emergidos (Ae) y machos capturados (machos) para la población de termas de Río Hondo sumando las muestras obtenidas de las 2 especies hospedadoras de cactus.

Ordenación	machos	H1	H2	L	Ae
st	0.595	0.584	0.572	0.571	0.553
j	0.379	0.397	0.408	0.403	0.428
jz3	0.026	0.019	0.020	0.026	0.019
total	477	964	1374	1422	864

TABLA 4.3.9

Resultados de las pruebas de chi-cuadrado de contingencia para las comparaciones entre muestras correspondientes a los 5 estadios del ciclo de vida analizados en la población de Termas de Río Hondo. Asimismo, se detallan los resultados de la variación de las frecuencias entre estadios para cada una de las inversiones presentes en la población. Entre paréntesis se indican los valores del estadístico $\Delta p / \text{Var} (\Delta p)^{1/2}$

Componente de Selección	χ^2	st	j	jz3
virilidad (H1-machos)	0.16	-0.0113 (0.356)	0.0158 (0.499)	-0.0045 (0.465)
fecundidad (H2-H1)	1.67	-0.0121 (0.459)	0.0131 (0.505)	-0.0010 (0.134)
viab. larval (L-H2)	2.16	-0.0006 (0.032)	-0.0007 (0.038)	0.0013 (0.243)
viab. pupal (Ae-L)	3.07	-0.0206 (0.970)	0.0235 (1.113)	-0.0029 (0.489)
longevidad (machos-Ae)	4.00	0.0445 (1.584)	-0.0516* (1.850)	-0.0071 (0.859)

En la población natural se capturaron moscas adultas utilizándose como atractivos: *Opuntia sulphurea*, *Trichocereus terscheckii* y banana (trampas convencionales) para establecer si hay atracción diferencial. Los resultados de esta captura se presentan por día en las tablas 4.4.1 a, b y c para los 3 atractivos antes mencionados respectivamente. Tanto *Drosophila buzzatii* como *D. koepferae* son atraídos por ambos sustratos naturales y por las trampas convencionales. También, en los tres tipos de trampas, se capturaron otras especies de drosofilidos (como por ejemplo *D. melanogaster* y *D. serenensis*) así como de otros dípteros (tabla 4.4.2).

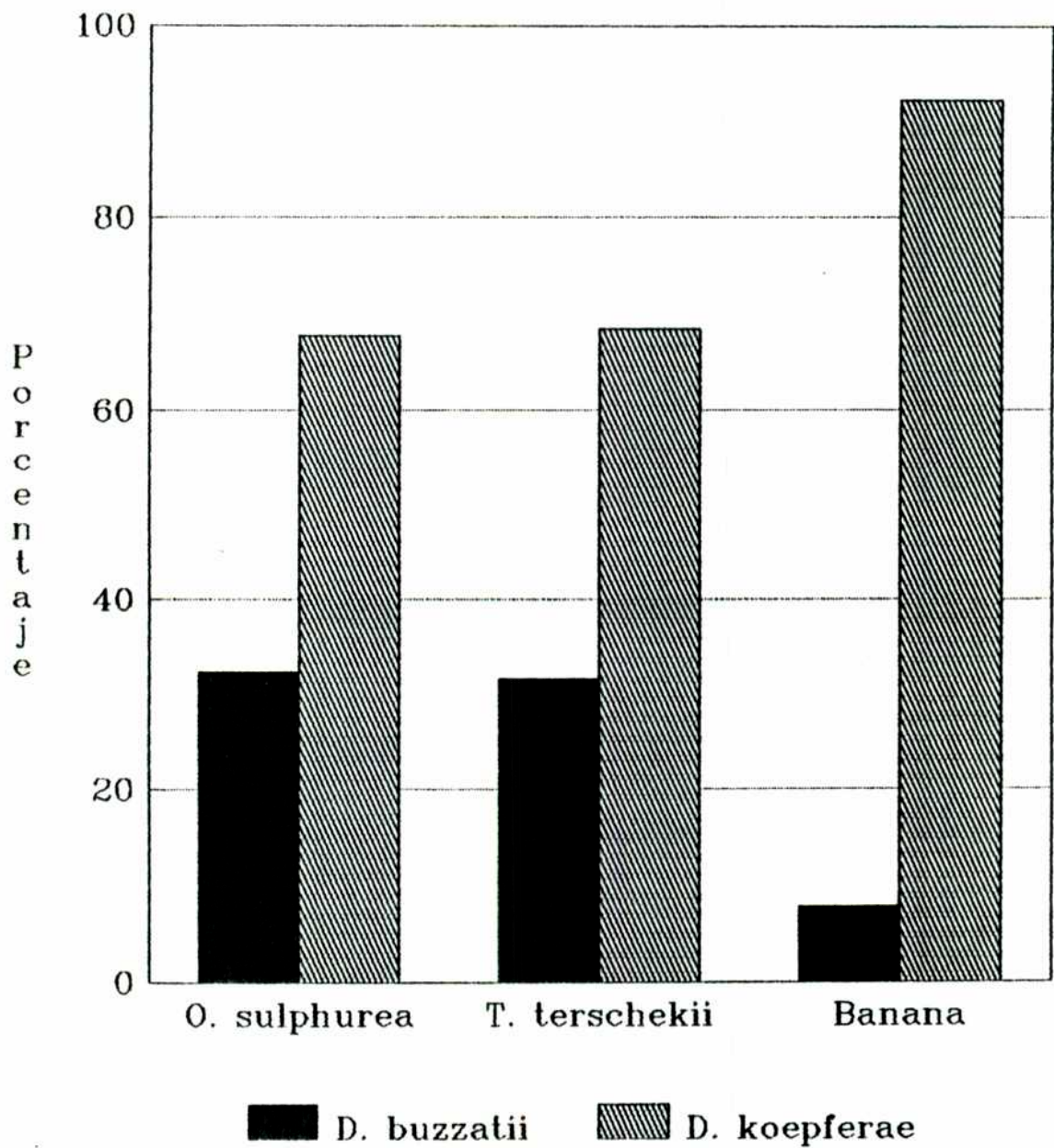
Tal como se suponía las trampas con atractivos naturales fueron más específicas que las trampas convencionales. Esto puede observarse particularmente al comparar las proporciones de *D. serenensis*, *D. melanogaster* y otras especies entre los 3 atractivos. La identificación de los machos mostró que *D. koepferae* fue la más abundante para todos los tipos de atractivos utilizados ya que el 92.2% en banana, el 67.7% en *O. sulphurea* y el 68.4% en *T. terscheckii*, pertenecieron a esta especie (figura 4.4.1). Estos resultados indican la ausencia de efectos de atracción diferencial entre las 2 especies hospedadoras ($\chi^2=0.007$, gl= 1). Sin embargo, sí existe una importante diferencia de atracción entre los sustratos naturales y las trampas convencionales ($\chi^2=64.5$, gl= 1).

Estos resultados representan los valores globales de la atracción. Sin embargo, un dato interesante lo proporciona la eficiencia por unidad de captura (balde o sustrato atractivo) de cada atractivo. Es decir, el número de trampas utilizadas por atractivo. El esfuerzo total de captura por atractivo fue:

- * trampas con banana 15
- * trampas con *Opuntia* 72
- * trampas con *Trichocereus* 22

Los machos muestreados por unidad de captura se observan en la tabla 4.4.3. Es sorprendente la eficacia de la captura de *D. koepferae* cuando se empleó la trampa de banana. Con respecto a la atracción diferencial entre los hospedadores naturales *T. terscheckii* tuvo 3.4 veces mayor eficacia para atraer a *D. buzzatii* y 3.3 veces cuando la atraída fue *D. koepferae*, de esto

Figura 4.4.1
Captura de ambas especies de *Drosophila*
según los atractivos



Muestra de Machos

TABLA 4.4.2

Frecuencias absolutas de las diferentes especies capturadas en la población de Quilmes utilizando como atrayentes banana, *Opuntia sulphurea* y *Trichocereus terschekii*

	banana	<i>O. sulphurea</i>	<i>T. terschekii</i>
machos <i>D. buzzatii</i>	34	37	37
machos <i>D. koepferae</i>	400	78	80
porcentaje machos <i>D. koepferae</i>	92.2	67.8	68.4
hembras <i>D. buzzatii</i> - <i>D. koepferae</i>	357	95	123
<i>D. serenensis</i>	822	74	238
<i>D. melanogaster</i>	70	54	23
otras especies	287	192	99

TABLA 4.4.3

Comparación de la eficacia de captura de *D. buzzatii* y *D. koepferae* entre los tres tipos de atractivos. Los valores están dados en números medios de individuos capturados por atractivo.

	Banana	<i>O. sulphurea</i>	<i>T. terschekii</i>
<i>D. buzzatii</i>	2.3	0.5	1.7
<i>D. koepferae</i>	26.6	1.1	3.6

puede deducirse que *T. terschekii* es más eficiente para atraer a ambas especies de *Drosophila*.

Todas las hembras que se capturaron se procesaron citológicamente para determinar la especie a la que pertenecían. El éxito obtenido en la determinación de las hembras capturadas fue bajo ya que sólo se obtuvo información de: 77 hembras provenientes de las trampas con banana (que representa el 21.6% del total de hembras capturadas con ese atractivo), 25 de las de *O. sulphurea* (el 26%) y 41 de las de *T. terschekii* (el 33%). Entre los machos y hembras identificados de *D. buzzatii* y *D. koepferae* no hubo diferencias para ninguno de los 3 tipos de atractivos ($\chi^2=3.35$, $gl=1$, en banana; $\chi^2=1.24$, $gl=1$, en *O. sulphurea* y $\chi^2=0.34$, $gl=1$, en *T. terschekii*) sugiriendo que entre machos y hembras no habría diferencias de atracción en las 2 especies de *Drosophila*, aunque el bajo éxito obtenido en la identificación de las hembras podría afectar este resultado. Esto motivó que se considerara la muestra de machos como la testigo a la hora de realizar las comparaciones pertinentes entre atraídos y emergidos.

Dado que no hubo diferencias en las proporciones de una y otra especie atraídas a cada tipo de sustrato cabría esperar que las proporción de cada especie emergida de *T. terschekii* y *O. sulphurea* no fuera significativamente diferentes.

La otra parte del estudio realizado en la población natural, consistió en la recolección de emergidos ya que estos representan los nuevos individuos que se incorporan a la población luego de la oviposición y posterior desarrollo de las larvas en cada uno de los hospedadores.

Los resultados del análisis de las moscas emergidas de *O. sulphurea* se muestran en la tabla 4.4.4. De este hospedador emergieron *D. buzzatii*, *D. koepferae*, *D. melanogaster* y *D. serenensis*. La ventana de emergencia, considerando sólo a *D. buzzatii* y *D. koepferae*, varió entre los 6 y 12 días y en aquellas botellas de donde emergieron más moscas, la ventana fué de 9 días (botella 4) y 10 días (botella 2). Del total de hembras *D. buzzatii*-*D. koepferae* emergidas (142) sólo se pudieron identificar 66, que representó el 46.5%. En la muestra de hembras identificadas no se observó una emergencia diferencial debida al sexo entre las 2 especies de *Drosophila* ($\chi^2=2.05$, $gl=1$). No se puede determinar una tendencia en cuanto a las emergencias de *D. buzzatii* y *D. koepferae*, ya que de las 5 botellas en 3

TABLA 4.4.4

Resumen de los individuos emergidos de *O. sulphurea*. Los sustratos fueron reunidos en grupos de 2 o 3 dentro de botellas. En el total de machos se incluyen aquellos que por diversas razones no se pudieron identificar. El porcentaje de machos de *D. koepferae* se expresó respecto del total de machos identificados. La ventana de emergencia esta en días.

	Botella 1	Botella 2	Botella 3	Botella 4	Botella 5	Total
Hembras <i>D. buzzatii</i>	25	13	7	4	1	50
Hembras <i>D. koepferae</i>	1	2	0	12	1	16
Total de Hembras	27	50	10	47	8	142
Machos <i>D. buzzatii</i>	27	18	7	11	1	64
Machos <i>D. koepferae</i>	0	2	0	23	8	33
Total de Machos	27	30	12	41	9	117
Porcentaje de Machos <i>D. koepferae</i>	0	10	0	67.65	88.89	34.02
Total de emergidos	52	80	22	88	17	259
<i>D. serenensis</i>	1	0	0	0	0	1
<i>D. melanogaster</i>	0	0	0	7	1	8
Ventana de emergencia	9	10	6	9	12	

emergieron en mayor cantidad *D. buzzatii* (botella 1, 2 y 3) y en las otras 2 botellas, la especie dominante fue *D. koepferae*.

El otro hospedador, *T. terschekii*, mostró patrones diferentes (ver tabla 4.4.5). De este hospedador emergieron en orden de abundancia *D. koepferae*, *D. serenensis* y *D. buzzatii* (723, 442 y 50 moscas respectivamente).

Si solamente consideramos las especies *D. buzzatii* y *D. koepferae*, la ventana de emergencia varió entre los 2 y 14 días y en aquellos sustratos que tuvieron mayor número de emergidos la ventana fué de 14 días (rot 4) y 9 días (rot 5). De las 750 hembras que emergieron, se identificaron 118 representivo de un 15.7 %. En este caso tampoco se observaron diferencias entre sexos entre los emergidos identificados de las 2 especies de *Drosophila* ($\chi^2=0.06$ gl=1).

De todos los rots, la cantidad de emergidos de *D. koepferae* siempre fue superior a la de *D. buzzatii* y, en un rot (el 5) el número de moscas de *D. serenensis* que emergieron fue alto (347 moscas). Este rot tuvo la particularidad, según la observación, de presentar un grado de putrefacción muy avanzado característica que no sucedió con los restantes sustratos.

Una síntesis de la composición de las especies emergidas de ambos hospedadores se presenta en la tabla 4.4.6.

Al comparar la proporciones de machos emergidos de *D. buzzatii* y *D. koepferae* entre ambos hospedadores se observó que existen diferencias significativas ($\chi^2=236.95$, gl=1, $p<0.001$). Esto sugiere que *D. buzzatii* y *D. koepferae* emergen diferencialmente de ambos hospedadores. Si bien no se efectuó el análisis estadístico correspondiente, las hembras mostraron la misma tendencia. Las diferencias se deben a que de *O. sulphurea* emergió en mayor proporción *D. buzzatii* (65.3%) en tanto que de *T. terschekii* el 93.4% de los individuos fueron *D. koepferae* (figura 4.4.2).

Sin embargo estos valores deben ser considerados a la luz de la contribución que las distintas especies de sustratos hacen a la población total de adultos, puesto que del total de emergidos *T. terschekii* aportó el 85.8% (1528 emergidos) y *O. sulphurea* solo representó el 14.5% del total (259 individuos).

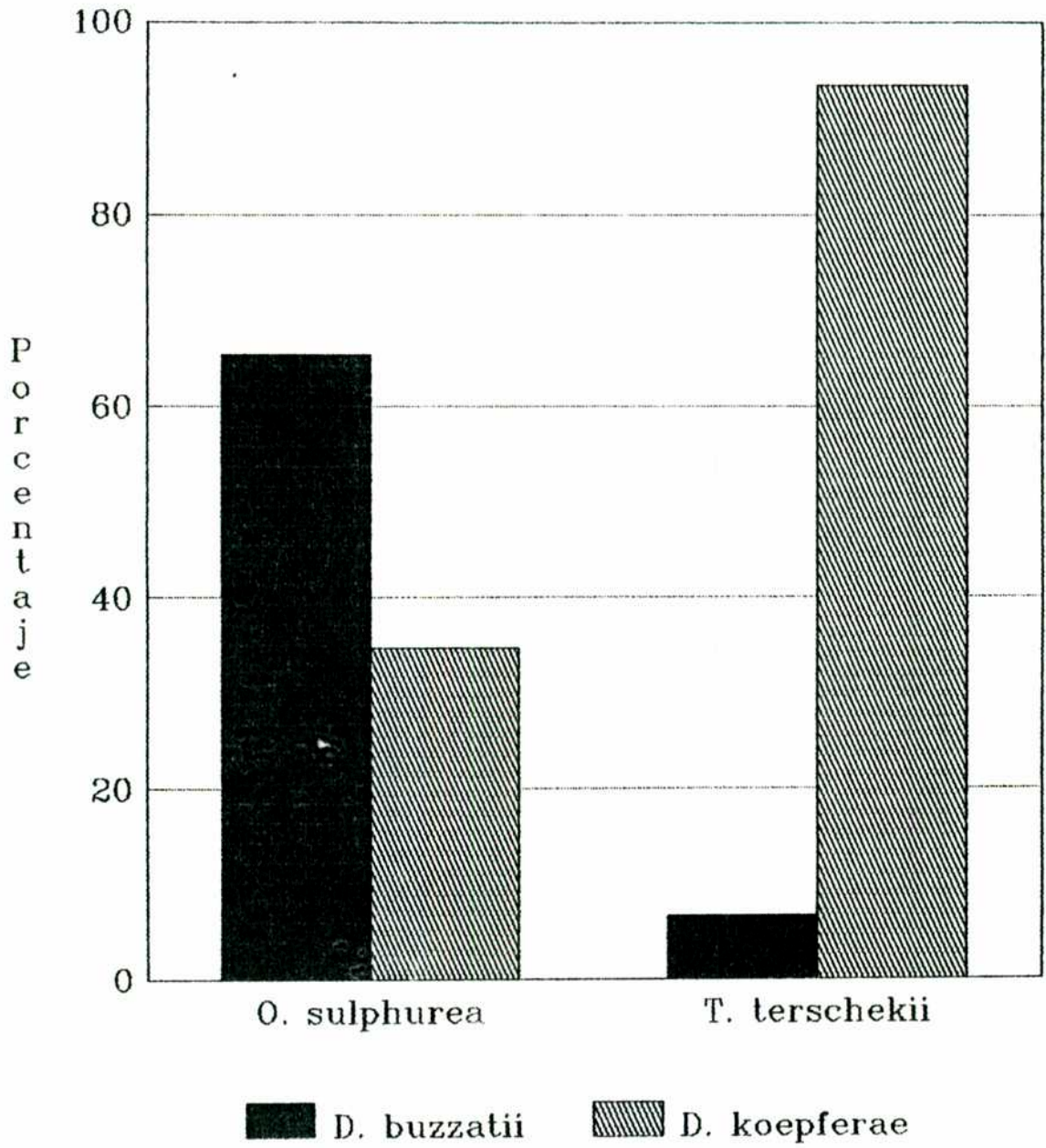
Si, analizamos la emergencia desde una perspectiva de las especies de *Drosophila*, en la figura 4.4.3 se observa que de los 934 individuos

TABLA 4.4.5

Resumen de los individuos emergidos de los sustratos de *T. terschekii*. En el total de machos se incluyen aquellos que por diversas razones no se pudieron identificar. El porcentaje de machos de *D. koepferae* se expresó respecto del total de machos identificados. La ventana de emergencia esta en días.

	rot 1	rot 2	rot 3	rot 4	rot 5	rot 6	rot 7	Total
Hembras <i>D. buzzatii</i>	1	0	0	1	4	1	0	7
Hembras <i>D. koepferae</i>	27	1	7	52	14	6	4	111
Total de Hembras	69	4	11	509	108	21	28	750
Machos <i>D. buzzatii</i>	0	0	2	7	20	13	1	43
Machos <i>D. koepferae</i>	50	8	5	429	92	14	14	612
Total de Machos	53	9	10	507	143	33	23	778
Porcentaje de Machos <i>D. koepferae</i>	100	100	71.43	98.39	82.14	51.85	93.33	93.44
Total de emergidos	122	13	21	1016	251	54	51	1528
<i>D. serenensis</i>	0	1	1	30	347	33	30	442
<i>D. melanogaster</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
Ventana de emergencia	11	5	10	14	9	4	2	

Figura 4.4.2
Machos emergidos de los distintos
recursos de Ruinas de Quilmes



Muestra de machos

emergidos identificados, 772 fueron *D. koepferae* o sea el 82.7% y el 17.3% restante (162) fueron *D. buzzatii*.

Drosophila koepferae emergió preferentemente de *T. terschekii* (94.9%), mientras que *D. buzzatii* lo hizo en mayor proporción (59%) de *O. sulphurea* (figura 4.4.4).

Ahora bien, podemos decir que las proporciones de las moscas emergidas y atraídas de ambas especies de *Drosophila* de cada hospedador son diferentes?

Si recordamos las proporciones de las 2 especies que fueron atraídas por *O. sulphurea*, *D. koepferae* representó el 67.8%; sin embargo sólo el 34.7% de los emergidos fueron de esta especie. En *T. terschekii* también se observaron diferencias entre atraídos y emergidos. En efecto, en este hospedador el 68.4% de los atraídos fueron *D. koepferae* en tanto que los emergidos de esta especie constituyeron el 93.4%. En ambos casos las diferencias estadísticas fueron altamente significativas ($\chi^2=22.8$, $gl=1$ y $\chi^2=67.3$, $gl=1$ para *O. sulphurea* y *T. terschekii* respectivamente).

Los resultados presentados hasta este punto indican:

1) ambas especies de sustratos no atraen diferencialmente a las 2 especies de *Drosophila*

2) *Trichocereus terschekii* es más eficiente en la atracción de las dos especies

3) de ambos sustratos no emergen la misma proporción de *D. koepferae*-*D. buzzatii* observada en la atracción.

Asimismo, comparando los 2 hospedadores la relación atracción-emergencia son totalmente disímiles para cada una de las especies de *Drosophila*.

¿Cuáles podrían ser las causas de estas diferencias?

Una de las causas posibles podría ser que las proporciones de *D. buzzatii* y *D. koepferae* en las poblaciones de huevos que ingresan a cada recurso sean diferentes de las proporciones en los adultos atraídos (hipótesis de la atracción diferencial). Una explicación alternativa sería que las proporciones en las poblaciones de huevos sean diferentes a las

Figura 4.4.3
Porcentajes de machos emergidos en la
poblacion de Ruinas de Quilmes en 1992

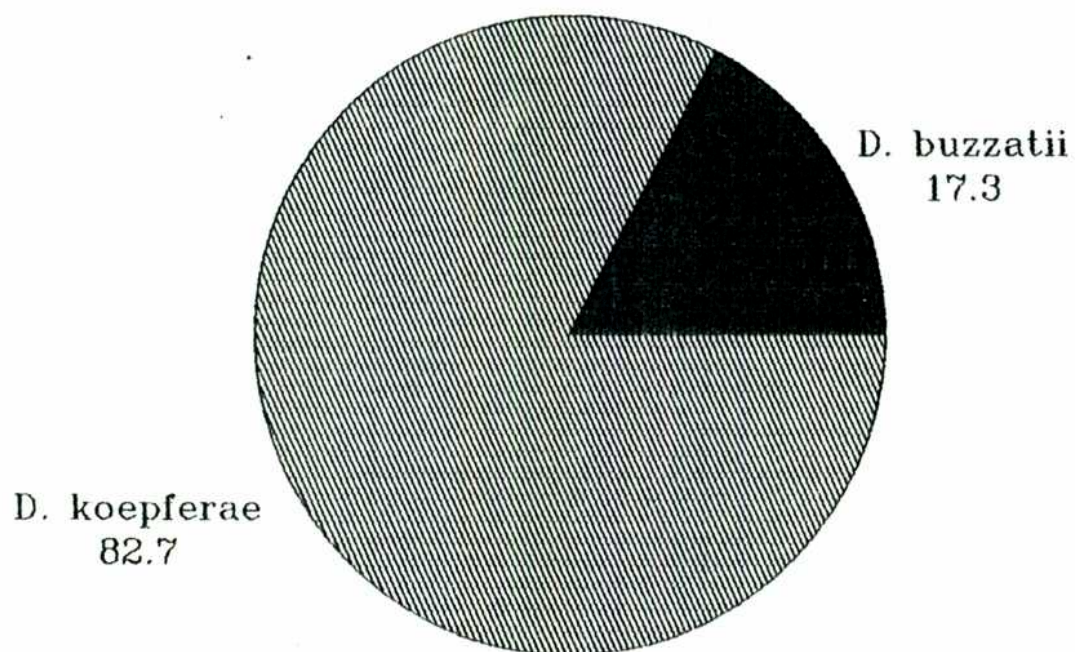
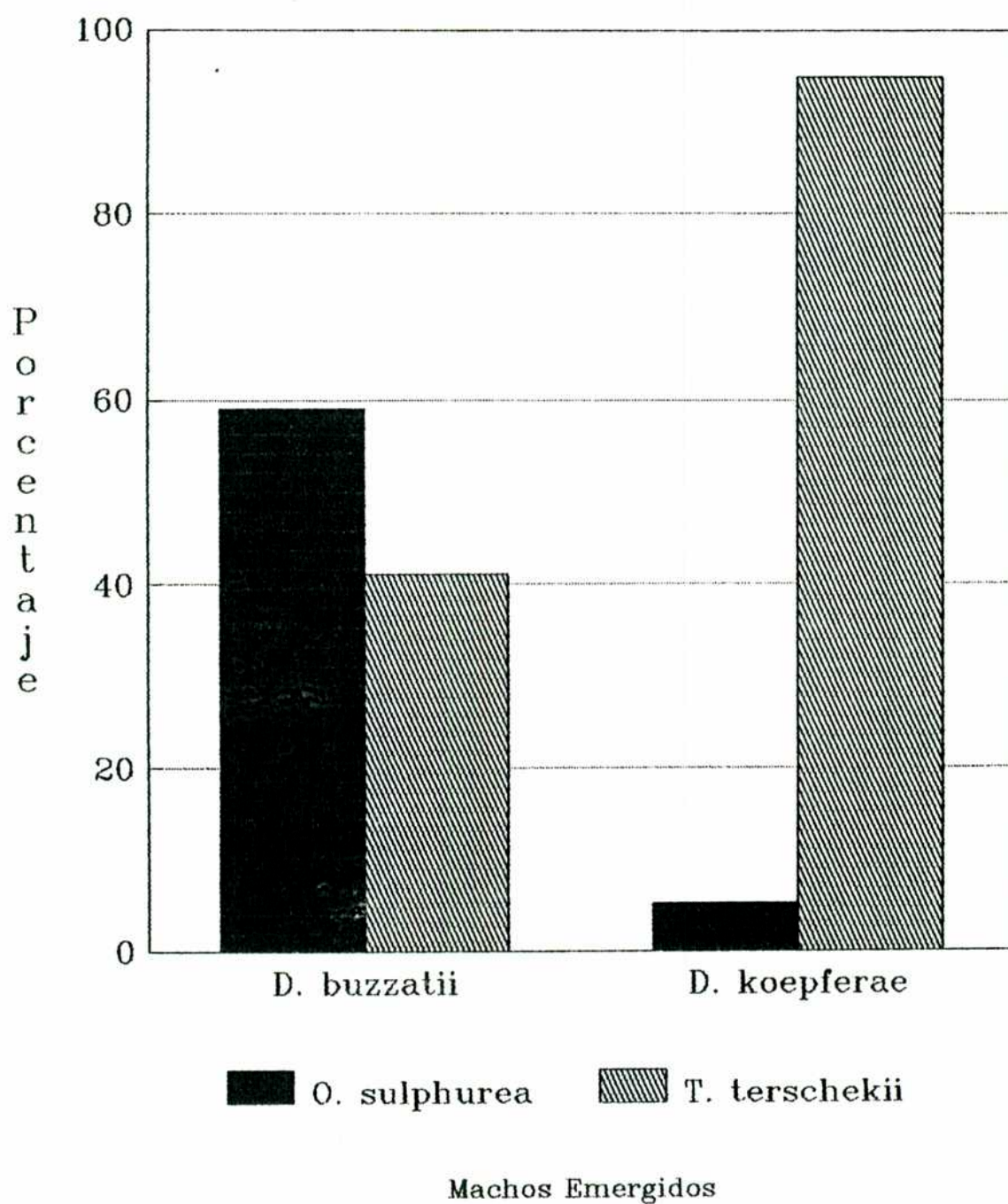


Figura 4.4.4
Participación de los hospedadores en la
emergencia de las Drosophila



proporciones en los adultos emergidos (hipótesis de la viabilidad diferencial). Para dilucidar qué hipótesis es la correcta, se llevaron a cabo 2 tipos de experimentos de laboratorio: el monoespecífico y el biespecífico.

En el experimento monoespecífico se estimaron las viabilidades de ambas especies de *Drosophila* por separado sobre cada uno de las especies hospedadoras.

Los valores estimados de viabilidad de *D. buzzatii* y *D. koepferae* en los tres tipos de medio de cría (*O. sulphurea*, *T. terschekii* y medio de laboratorio) se presentan en la tabla 4.4.7. Lamentablemente se perdieron 2 réplicas de *T. terschekii* de *D. buzzatii* por contaminación con hongos. En todos los casos, la proporción de machos y hembras no se diferenció significativamente del esperado 1:1. *Drosophila buzzatii* mostró la mayor supervivencia en el medio de cultivo de laboratorio (62.5%) y la menor (47.8%) en *T. terschekii*. Por su parte, *D. koepferae* tuvo la mayor viabilidad en *T. terschekii* (76%) y la menor en medio de laboratorio (26.1%).

La baja viabilidad de *D. koepferae* en el medio de laboratorio implica que no es posible utilizar este medio como control para esta especie. Por otra parte, ésta sería la explicación de los bajos rendimientos obtenidos en la identificación de las hembras tanto capturadas como emergidas ya que las hembras emergidas de los sustratos y adultas capturadas en la población natural se colocaron en tubos con medio de laboratorio para determinar a través de la descendencia la especie a la que pertenecía. Esto, justifica el hecho de haber utilizado sólo a los machos para los estudios de atracción y emergidos.

El estudio comparativo de las viabilidades de las 2 especies de *Drosophila* considerando únicamente los medios de cría naturales mostró que entre ellas hay diferencias significativas (tabla 4.4.8) es decir, que tomando en conjunto ambos hospedadores las moscas de *D. koepferae* tuvieron una mayor viabilidad. Como no se observaron diferencias entre réplicas dentro de cada hospedador, éstas pueden sumarse y así estimar cuál es el efecto de los hospedadores sobre la viabilidad de las especies de *Drosophila*.

El ANOVA mostró que no hay diferencias entre hospedadores, es decir que en ambos hospedadores las dos especies de *Drosophila* tienen similares supervivencias o que hay un efecto compensatorio entre las diferencias de viabilidades que *D. buzzatii* y *D. koepferae* pueden tener en

TABLA 4.4.6

Frecuencias absolutas de las distintas especies de *Drosophila* emergidas de los rots de los cactus hospedadores *O. sulphurea* y *T. terschekii* para ambos sexos.

a) machos

	<i>D. buzzatii</i>	<i>D. koepferae</i>	TOTAL
<i>O. sulphurea</i>	62	33	95
<i>T. terschekii</i>	43	612	655

b) hembras

	<i>D. buzzatii</i>	<i>D. koepferae</i>	TOTAL
<i>O. sulphurea</i>	50	16	66
<i>T. terschekii</i>	7	111	118

TABLA 4.4.7

Porcentajes de supervivencia de *D. buzzatii* y *D. koepferae* en los 3 tipos de medio de cría para el diseño monoespecifico utilizados (laboratorio, *O. sulphurea* y *T. terschekii*).

		<i>D. buzzatii</i>	<i>D. koepferae</i>
laboratorio	réplica 1	61.5	27.5
	réplica 2	63.5	30.0
	PROMEDIO	62.5	26.1
<i>O. sulphurea</i>	réplica 1	57.0	64.0
	réplica 2	59.5	69.5
	PROMEDIO	58.25	67.75
<i>T. terschekii</i>	réplica 1	46.3	73.5
	réplica 2	49.4	78.5
	PROMEDIO	47.8	76

TABLA 4.4.8

Análisis de la varianza de las viabilidades estudiadas en el experimento monoespecífico para ambas especies de *Drosophila* en los medios de cría de cactus.

Fuente de Variación	SC	gl	CM	F	p
entre <i>Drosophila</i>	0.20	1	0.20	41.33	0.001
entre hospedadores	$2 \cdot 10^{-4}$	1	$2 \cdot 10^{-4}$	0.04	0.858
réplica dentro de hospedadores	0.005	2	$2.5 \cdot 10^{-3}$	1.07	0.355
<i>Drosophila</i> por hospedador	0.06	1	0.06	12.06	0.002
Dentro (error)	0.15	30	0.005		

ambos hospedadores. La importancia de este resultado se pondrá de manifiesto más adelante cuando se detallen los resultados obtenidos con los trozos de cactus (ver página 83).

El resultado significativo de la interacción entre ambas especies de *Drosophila* y los 2 hospedadores (tabla 4.4.8) muestra que las viabilidades de las especies de *Drosophila* son función de dónde se desarrollaron. Esto implica que *D. buzzatii* y *D. koepferae* tienen viabilidades diferenciales.

Para establecer la causa del resultado significativo de la interacción se procedió a realizar ANOVAs individuales para cada especie de *Drosophila* por separado (prueba de efectos simples). En el caso de *D. buzzatii* las diferencias de viabilidad entre los dos tipos de sustratos naturales sólo fue marginalmente significativa ($F_{1,14}=4.475$, $p=0.0528$) mientras que en el caso de *D. koepferae* las diferencias sí fueron significativas ($F_{1,16}=9.084$, $p=0.0082$). Por lo tanto podemos afirmar que la viabilidad de *D. koepferae* es significativamente mayor en *T. terschekii* que en *O. sulphurea* y que la no diferenciación entre hospedadores se debió a un efecto compensador.

Previo al experimento biespecífico se realizó un estudio de eclosionabilidad de huevos. El resultado fue que las viabilidades de huevos no son diferentes entre ambas especies ($F_{1,4}=1.562$, $p=0.279$). Esto permite suponer que al recolectar las larvas de primer estadio no se comete un error de muestro, es decir recolectar una mayor cantidad de larvas de una especie porque su eclosionabilidad fuera mayor o por ser más rápida para eclosionar del huevo.

Como en las cámaras de recolección de huevos sólo se colocaron hembras fecundadas, la cantidad de huevos puestos y por lo tanto el número de tubos sembrados, varió día a día. En el primer día de siembra el número de huevos puestos en ambos hospedadores fue de tal magnitud, que luego de sembrar 13 tubos por réplica en el caso de *O. sulphurea* y entre 10 y 12 para *T. terschekii*, se conservaron los cactus utilizados como estímulo de oviposición, para realizar otros tipos de comparaciones. En los siguientes días el número de tubos sembrados fue siempre el máximo posible. Lamentablemente el experimento sufrió el inconveniente, a partir del segundo día, de la pérdida de la réplica 1 de la cámara de recolección que tenía como estímulo a *O. sulphurea*. Un resumen puede encontrarse en la tabla 4.4.9.

TABLA 4.4.9

Cantidad de tubos sembrados con 40 larvas de primer estadio durante 3 días, cuando los estímulos de oviposición fueron *O. sulphurea* (a) y *T. terschekii* (b) según el diseño biespecífico.

a) *O. sulphurea*

		medio de cría	
		laboratorio	<i>O. sulphurea</i>
día 1	réplica 1	13	13
	réplica 2	13	13
día 2	réplica 1	--	--
	réplica 2	3	3
día 3	réplica 1	--	--
	réplica 2	3	3

b) *T. terschekii*

		medio de cría	
		laboratorio	<i>T. terschekii</i>
día 1	réplica 1	10	10
	réplica 2	11	12
día 2	réplica 1	3	4
	réplica 2	5	5
día 3	réplica 1	4	4
	réplica 2	3	3

En el experimento biespecífico el parámetro que se analizó fue la proporción de machos de *D. buzzatii* respecto a la cantidad total de machos emergidos (tabla 4.4.10). Como puede observarse, con el transcurso del tiempo la proporción de machos de *D. buzzatii* se incrementó a una velocidad realmente importante, particularmente en *O. sulphurea*. Comparando día a día, los machos de *D. buzzatii* siempre fueron, respecto de *D. koepferae*, más abundantes cuando emergieron de *O. sulphurea* y, la proporción de esta especie fue mayor del 30% (porcentaje de hembras de esta especie puesta en las cámaras de recolección) únicamente en los días 2 y 3 cuando se empleó *O. sulphurea* como estímulo para la oviposición. En *T. terschekii*, *D. buzzatii* sólo se acercó al 30% el último día. En ambos hospedadores el mayor aumento en abundancia de *D. buzzatii* transcurrió entre el primer y segundo día.

En estos análisis se probaron distintos tipos de transformaciones de los datos, ya que para una regresión polinomial no había datos suficientes puesto que la ecuación resultante era de primer grado y esto corresponde a una ecuación lineal y, la regresión lineal deparaba un R^2 bajo en ambos hospedadores.

Tanto para *O. sulphurea* como para *T. terschekii* la transformación con la que se obtuvo el R^2 máximo fue:

$$y = a + b \log(x)$$

Con esta transformación el análisis de regresión del porcentaje de machos de *D. buzzatii* respecto de los días de recolección fue altamente significativo para ambos hospedadores (ver tabla 4.4.11).

En la tabla 4.4.12 se presentan los resultados de las emergencias de los trozos de cactus (recordemos que estos trozos fueron los que se emplearon como estímulo para la oviposición en los experimentos biespecíficos) que luego de sembrar las larvas en los tubos a densidades óptimas, se conservaron de acuerdo a como se describió en los materiales y métodos (punto 3.9.4.2).

La cantidad de machos emergidos de ambas especies de *Drosophila* de los dos trozos de cactus se compararon con la cantidad de machos emergidos de los tubos del primer día del experimento biespecífico que se desarrollaron en óptimas condiciones de densidad (40 larvas por 5 cc. de

TABLA 4.4.10

Porcentaje de machos emergidos de *D. buzzatii* respecto del total de machos emergidos cuando las larvas se desarrollaron en medios de cactus.

	medio de cría	
	<i>O. sulphurea</i>	<i>T. terschekii</i>
día 1	16.9	5.1
día 2	72.2	20.5
día 3	68.1	29.5

TABLA 4.4.11

Análisis de la regresión del porcentaje de machos de *D. buzzatii* respecto al total de machos emergidos del experimento biespecífico utilizando como medio de cría:

a) *O. sulphurea*

Parámetro	valor estimado	error estandard	valor de t	p
origen	0.176	0.032	5.42	<0.001
pendiente	1.274	0.188	6.79	<0.001

Análisis de la Varianza

Fuente de Variación	SC	GL	CM	F	p
modelo	1.274	1	1.274	46.12	<0.001
error	0.828	30	0.028		

Coefficiente de correlación: 0.778

R²: 60.59%

b) *T. terschekii*

Parámetro	valor estimado	error estandard	valor de t	p
origen	0.051	0.014	3.52	<0.01
pendiente	0.511	0.057	8.87	<0.001

Análisis de la Varianza

Fuente de Variación	SC	GL	CM	F	p
modelo	0.377	1	0.377	78.77	<0.001
error	0.172	36	0.005		

Coefficiente de correlación: 0.828

R²: 68.63%

TABLA 4.4.12

Resumen del análisis de los individuos emergidos de los trozos de cactus de *O. sulphurea* (a) y *T. terschekii* (b) que se utilizaron como estímulo para la oviposición en el experimento biespecífico

a) *O. sulphurea*

	réplica 1	réplica 2	total
<i>D. buzzatii</i>	13	20	33
<i>D. koepferae</i>	45	73	118
% de <i>D. buzzatii</i>	22.41	21.50	21.85
Hembras de ambas sp.	66	81	147
peso del trozo de cactus (grs.)	64.9	79.2	

b) *T. terschekii*

	réplica 1	réplica 2	total
<i>D. buzzatii</i>	40	34	74
<i>D. koepferae</i>	524	497	1021
% de <i>D. buzzatii</i>	7.09	6.40	6.76
Hembras de ambas sp.	511	507	1018
peso del trozo de cactus (grs.)	171.7	134.4	

medio). Es decir, que estaríamos comparando poblaciones criadas en condiciones controladas versus condiciones no controladas. El resultado que fue no significativo ($X^2=1.44$, $gl=1$ para *O. sulphurea* y $X^2=1.31$, $gl=1$ para *T. terschekii*) implica que no hay mortandad diferencial dependiente de la densidad entre *D. buzzatii* y *D. koepferae*.

La captura de adultos que se realizó en Amaicha del Valle donde las potenciales especies hospedadoras son *O. sulphurea* y *O. ficus-indica*, permitió comprobar que *D. koepferae* no se encuentra en dicha población (tabla 4.4.13). En esta población también se capturaron *D. mercatorum*, *D. melanogaster* y *D. serenensis*.

En Diciembre de 1993 se repitió la captura en la población de Ruinas de Quilmes tratando de imitar las condiciones del año anterior, es decir, utilizar los tres tipos de atractivos: *O. sulphurea*, *T. terschekii* y trampas convencionales con banana. Pero, esto no fue posible puesto que no se encontró ningún sustrato de *O. sulphurea* que fuera realmente atractivo y cuando se intentó capturar con sustratos que no parecían atractivos (según la experiencia de los investigadores presentes en esa campaña), las moscas capturadas no fueron de interés para este estudio.

La composición de las muestras de individuos capturados diariamente se presenta en las tablas 4.4.14 a y b, cuando las trampas tuvieron como atractivos *T. terschekii* y banana respectivamente. Al igual que el año anterior entre las moscas capturadas se detectó la presencia de *D. buzzatii*, *D. koepferae*, *D. serenensis* y *D. melanogaster*. También en esta captura, la atracción de *T. terschekii* fue más específica que la de banana.

Sin embargo, las proporciones de *D. buzzatii* y *D. koepferae* fueron completamente diferentes a las observadas en la captura anterior, incrementándose para ambos atractivos (banana y *T. terschekii*) la proporción de *D. koepferae* en forma notable (figura 4.4.5).

La muestra de emergidos se obtuvo de la recolección de sólo 3 sustratos de *T. terschekii*. Sólo de dos se colectaron emergidos y, los 43 machos que emergieron fueron todos *D. koepferae*. De *O. sulphurea* no se recolectó ningún sustrato luego de una exhaustiva búsqueda. Cabe destacar que el inconveniente no fue que no se observaron larvas en sustratos sino que no había sustratos de *O. sulphurea* puesto que los cladodios estaban verdes o secos, y en estas condiciones las larvas no se pueden desarrollar.

TABLA 4.4.13

Composición de la muestra de individuos capturados en la población de Amaicha del Valle donde el hospedador es *O. ficus-indica*

fecha	machos <i>D.buzzatii</i>	machos <i>D.koepferae</i>	hembras <i>D.buzz-D.koep.</i>	<i>D.serenensis</i>	<i>D.melanogaster</i>	otras especies
Amaicha 92	10	0	13	10	7	27
Amaicha 93	118	0	127	5	20	0

TABLA 4.4.14

Cantidad de individuos capturados en el muestreo realizado en Diciembre de 1993

a) Muestra de individuos capturados en *T. terschekii*

Dia	machos		hembras	
	<i>D.buzzatii</i>	<i>D.koepferae</i>	<i>D.buzz-D.koep.</i>	<i>D.serenensis</i>
1	0	13	31	1
2	0	16	45	0
3	0	3	38	0
Total	0	32	106	1

b) Muestra de individuos capturados en banana

Dia	machos		hembras	
	<i>D.buzzatii</i>	<i>D.koepferae</i>	<i>D.buzz-D.koep.</i>	<i>D.serenensis</i>
1	2	133	135	3
2	0	3	8	1
Total	2	135	143	4

Figura 4.4.5
Captura de machos de *D. koeferae*
respecto del total

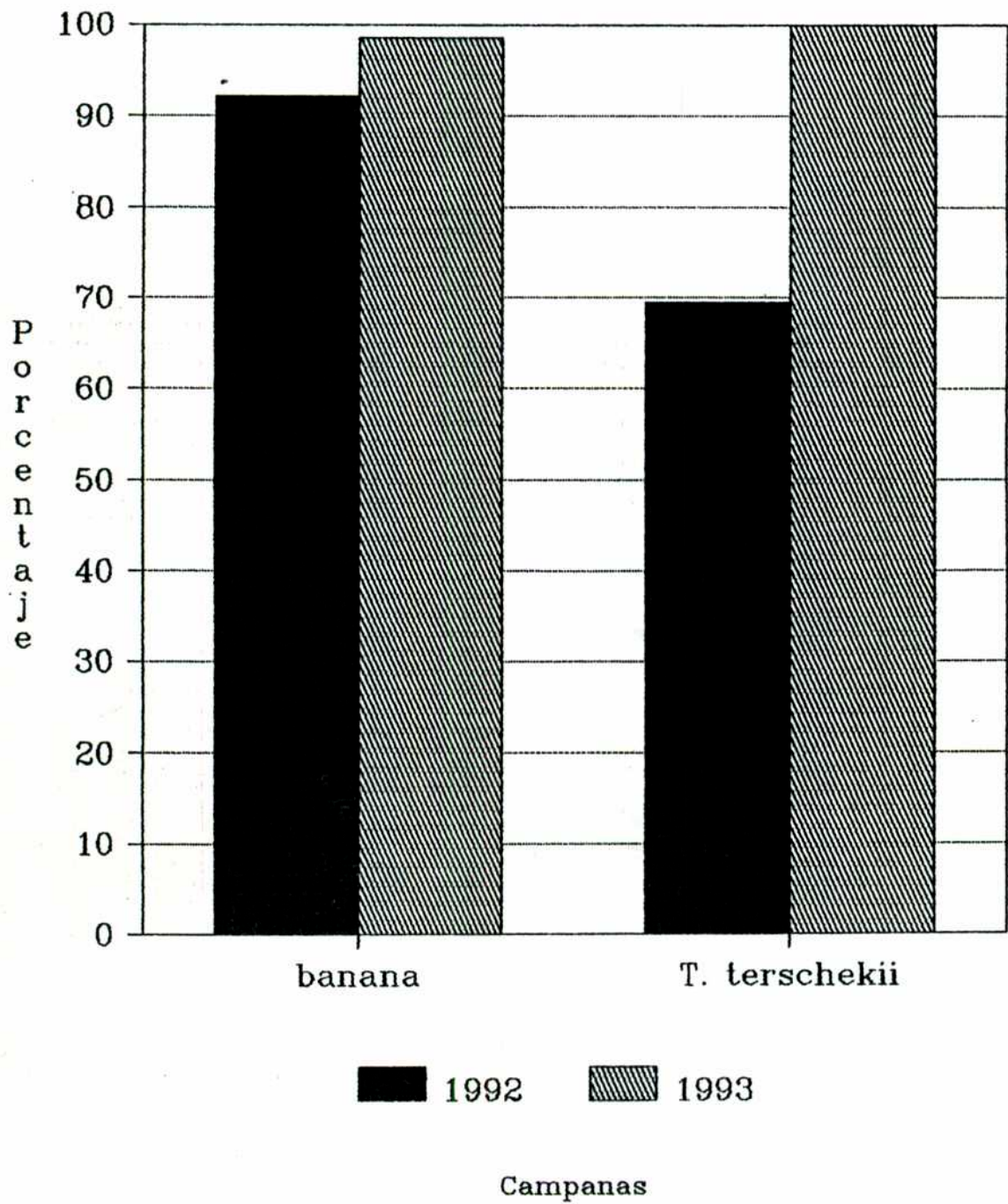


TABLA 4.4.15

Valores de los tamaños medios del tórax (x) expresada en milímetros, con su correspondiente desvío estandar (DE) y tamaño muestral (N) de los machos y las hembras emergidos del experimento monoespecífico.

D. buzzatii

a) machos

	x	DE	N
<i>O. sulphurea</i>	1.080	0.0319	112
<i>T. terschekii</i>	1.075	0.0317	72

b) hembras

	x	DE	N
<i>O. sulphurea</i>	1.173	0.0319	114
<i>T. terschekii</i>	1.133	0.0355	76

D. koepferae

a) machos

	x	DE	N
<i>O. sulphurea</i>	1.141	0.0319	127
<i>T. terschekii</i>	1.120	0.0322	144

b) hembras

	x	DE	N
<i>O. sulphurea</i>	1.209	0.0319	134
<i>T. terschekii</i>	1.187	0.0321	156

También en esta campaña (Diciembre de 1993) se realizaron capturas en la población de Amaicha del Valle (tabla 4.4.13). Las especies presentes fueron las mismas que el año anterior, aunque las proporciones relativas de *D. buzzatii* respecto de las otras especies variaron significativamente ($X^2=88.3$, gl.2, $p<0.001$). En esta comparación se excluyó a *D. mercatorum* que no estuvo presente en la captura de Diciembre de 1993.

4.4.2 Estudios de los parámetros de vida: tiempo de desarrollo y tamaño del tórax.

En los experimentos monoespecífico se midió la viabilidad, el tiempo de desarrollo y el tamaño del tórax de los individuos emergidos.

En el experimento monoespecífico, se midieron estos caracteres en ambos sexos. En cambio, en el biespecífico sólo se midieron los machos que emergieron de los tubos sembrados el primer día al igual que en el caso de los emergidos de los trozos de cactus.

En la tabla 4.4.15 se muestran los valores medios del tamaño del tórax de los individuos emergidos en el experimento monoespecífico. Aunque los resultados del ANOVA mostraron que las diferencias entre tubos sembrados de una misma réplica (caja de recolección de huevos) fueron significativas tanto para machos como para hembras (tabla 4.4.16a). Es importante destacar que el factor entre réplicas no fue significativo; esto es esperable cuando el diseño del experimento no tiene errores de muestreo.

Respecto a los factores principales del Anova realizados para machos, se detectaron diferencias significativas entre hospedadores: en promedio los que emergieron de *O. sulphurea* fueron más grandes que los emergidos de *T. terschekii*. También se observó que los tamaños medios de *D. koepferae* fueron significativamente mayores que los de *D. buzzatii*. La interacción especie-hospedador (la única con sentido biológico) no fue significativa.

El análisis estadístico realizado con las hembras (tabla 4.4.16b) mostró algunas diferencias al considerarse los efectos principales. En efecto, las hembras de las dos especies de *Drosophila* tienen un tamaño de tórax significativamente diferente (*D. koepferae* es más grande que *D. buzzatii*) pero, para el promedio de las hembras de las dos especies de *Drosophila* el hecho de desarrollarse en *T. terschekii* o en *O. sulphurea* no determina un tamaño significativamente diferente. La interacción especie-hospedador fue

TABLA 4.4.16

Resultados del análisis de la varianza realizado para comparar los tamaños del tórax de los machos (a) y hembras (b) emergidos del experimento monoespecífico.

a) machos

Fuente de Variación	SC	gl.	CM	F	p
Especie	0.029	1	0.029	51.38	0.001
Hospedador	0.012	1	0.012	35.26	0.027
Especie por hospedador	$1.27 \cdot 10^{-3}$	1	$1.27 \cdot 10^{-3}$	2.25	0.134
réplica dentro hospedador	$6.96 \cdot 10^{-4}$	2	$3.48 \cdot 10^{-4}$	0.12	0.885
tubos dentro réplica	0.023	8	$2.90 \cdot 10^{-3}$	5.13	0.001
error	0.250	442	$5.66 \cdot 10^{-4}$		

b) hembras

Fuente de Variación	SC	gl.	CM	F	p
Especie	0.044	1	.044	311.71	0.001
Hospedador	$2.54 \cdot 10^{-3}$	1	$2.54 \cdot 10^{-3}$	1.26	0.378
Especie por hospedador	$4.49 \cdot 10^{-4}$	1	$4.49 \cdot 10^{-4}$	4.32	0.038
réplica dentro hospedador	$4.03 \cdot 10^{-3}$	2	$2.02 \cdot 10^{-3}$	3.60	0.077
tubos dentro réplica	$4.45 \cdot 10^{-3}$	8	$4.45 \cdot 10^{-4}$	3.98	0.001
error	0.058	417	$1.40 \cdot 10^{-4}$		

significativa, es decir que el tamaño del tórax de las hembras sí depende de donde éstas se desarrollaron.

En la tabla 4.4.17 se presentan los valores promedios del tamaño del tórax de los machos de ambas especies de *Drosophila* según las condiciones en que crecieron, es decir densidad controlada (biespecífico) y no controlada (trozos de cactus). Cabe recordar que en el caso del experimento biespecífico se sembraron 40 larvas por tubo; de *O. sulphurea* emergieron en promedio 26 moscas y de *T. terschekii* 29 moscas, en tanto que de los trozos de cactus donde no se controló la densidad el total de emergidos fue de 149 y 2113 en *O. sulphurea* y *T. terschekii*, respectivamente. Considerando que en cada tubo hay aproximadamente 6.5 gramos de medio verde la densidad en el experimento biespecífico fue de 4 individuos por gramo de medio para *O. sulphurea* y 4.5 para *T. terschekii* y, en los trozos de cactus la densidad de individuos por gramo de cactus fue de 2 moscas para *O. sulphurea* y 7 para *T. terschekii* (para una determinación del peso de los trozos de cactus ver tabla 4.4.12).

En el análisis estadístico (ANOVA) sólo se consideraron los machos y los factores principales fueron: la densidad (controlada y no controlada), los hospedadores (*O. sulphurea* y *T. terschekii*) y las especies (*D. buzzatii* y *D. koepferae*), además de las interacciones. El Anova mostró que todos los efectos principales fueron altamente significativos (tabla 4.4.18) indicando que las moscas de mayor tamaño fueron: 1) aquellas que emergieron de *O. sulphurea*, 2) las que se desarrollaron en condiciones controladas y 3) las que pertenecen a la especie *D. koepferae*.

En cuanto a las interacciones, tanto la interacción triple (densidad-especie-hospedador) como la interacción especie-densidad y especie-hospedador no fueron significativas. Por el contrario la interacción densidad-cactus sí fue significativa, en *O. sulphurea* los emergidos en condiciones no controladas fueron en promedio de mayor tamaño que las emergidas en condiciones controladas, y esto se debe a que en condiciones no controladas la densidad fue menor.

La importancia del efecto no significativo de las interacciones especie-densidad y especie-hospedador estriba en que confirma el resultado del experimento monoespecífico es decir, que independientemente del ámbito donde las larvas se desarrollan las moscas de *D. koepferae* siempre fueron más grandes que las de *D. buzzatii*.

TABLA 4.4.17

Valores medios (x) expresada en milímetros con su correspondiente desvío estandard (DE) y tamaño muestral (N) para los machos de ambas especies de *Drosophila* que emergieron de los 2 hospedadores (*O. sulphurea* y *T. terschekii*) en condiciones de densidad controlada y no controlada.

FACTOR			
	DENSIDAD	CONTROLADA	
	HOSPEDADOR	<i>O. sulphurea</i>	
	x	DS	N
ESPECIE <i>D. buzzatii</i>	1.102	0.037	48
ESPECIE <i>D. koepferae</i>	1.125	0.042	236
HOSPEDADOR <i>T. terschekii</i>			
	x	DS	N
ESPECIE <i>D. buzzatii</i>	1.062	0.033	12
ESPECIE <i>D. koepferae</i>	1.097	0.043	266
DENSIDAD HOSPEDADOR NO CONTROLADA <i>O. sulphurea</i>			
	x	DS	N
ESPECIE <i>D. buzzatii</i>	1.102	0.028	22
ESPECIE <i>D. koepferae</i>	1.139	0.031	113
HOSPEDADOR <i>T. terschekii</i>			
	x	DS	N
ESPECIE <i>D. buzzatii</i>	0.948	0.056	124
ESPECIE <i>D. koepferae</i>	1.003	0.076	404

TABLA 4.4.18

Análisis de la Varianza para los tamaños del tórax de los machos de ambas especies de *Drosophila* que emergieron de los 2 hospedadores (*O. sulphurea* y *T. terschekii*) en condiciones de densidad controlada y no controlada.

Fuente de Variación	SC	gl.	CM	F	p
Hospedador (H)	0.72	1	0.72	231.84	0.001
Densidad (D)	0.21	1	0.21	67.96	0.001
Especie (E)	0.13	1	0.13	41.12	0.001
E por D	$6.11 \cdot 10^{-3}$	1	$6.11 \cdot 10^{-3}$	1.96	0.161
D por H	0.28	1	0.28	88.75	0.001
E por H	$4.90 \cdot 10^{-3}$	1	$4.90 \cdot 10^{-3}$	1.57	0.211
D por E por H	$1.87 \cdot 10^{-4}$	1	$1.87 \cdot 10^{-4}$	0.06	0.807
Error	3.80	1217	$3.12 \cdot 10^{-3}$		

El tiempo de desarrollo que está considerado por Istock (1981) como un componente primario del fitness se estimó también en los experimentos monoespecífico y biespecífico (incluido los trozos de cactus).

En el experimento monoespecífico, el tiempo promedio que le demandó completar el desarrollo a las moscas de las 2 especies de *Drosophila* se muestra en la tabla 4.4.19. Los análisis estadísticos (ANOVA) realizados tanto para los machos como para las hembras, mostraron resultados similares (tablas 4.4.20 a y b, respectivamente). En efecto, al igual que para el tamaño del tórax los resultados obtenidos con los factores anidados indicarían que no hubo errores de muestreo.

En cuanto a los factores principales, en los 2 sexos *D. buzzatii* se desarrolló significativamente más rápido que *D. koepferae* y, considerando un promedio entre ambas especies de *Drosophila* el desarrollarse en *O. sulphurea* o en *T. terschekii* no alteró significativamente el tiempo de desarrollo. Sin embargo, la interacción especie-hospedador fue significativa en consecuencia, el tiempo de desarrollo de *D. buzzatii* y *D. koepferae* depende de dónde se desarrollan. El tiempo que *D. koepferae* tarda en desarrollarse es el mismo en los 2 hospedadores mientras que *D. buzzatii* se desarrolla más rápidamente en *T. terschekii*.

En la tabla 4.4.21 se muestra el tiempo de desarrollo de los machos en las 2 especies de *Drosophila* para el experimento biespecífico en condiciones de densidad controlada y no controlada (trozos de cactus). El Anova mostró (tabla 4.4.22) que *D. buzzatii* tuvo un tiempo de desarrollo menor, que las moscas que se desarrollaron en *O. sulphurea* fueron más rápidas y que el desarrollarse en las condiciones controladas disminuye el tiempo de desarrollo. La interacción de segundo orden no fue significativa al igual que la interacción especie-densidad. En cambio las interacciones especie-hospedador y hospedador-densidad sí fueron estadísticamente significativas. En cuanto a la primera, en *O. sulphurea* no hubo diferencias entre ambas especies de *Drosophila* pero en *T. terschekii* siempre *D. koepferae* fue más rápida. En cuanto a la segunda interacción, esta fue producto de mayores diferencias en el tiempo de desarrollo en condiciones no controladas que en las controladas entre los dos hospedadores.

TABLA 4.4.19

Valores de las medias de los tiempos de desarrollo (x) expresado en días, con su correspondiente desvío estandar (DE) y tamaño muestral (N) de los machos y las hembras emergidos del experimento monoespecífico.

D. buzzatii

a) machos

	x	DE	N
<i>O. sulphurea</i>	12.62	1.076	112
<i>T. terschekii</i>	12.30	1.054	72

b) hembras

	x	DE	N
<i>O. sulphurea</i>	12.41	1.069	114
<i>T. terschekii</i>	12.19	1.079	76

D. koepferae

a) machos

	x	DE	N
<i>O. sulphurea</i>	12.65	1.059	127
<i>T. terschekii</i>	12.70	1.049	144

b) hembras

	x	DE	N
<i>O. sulphurea</i>	12.56	1.052	134
<i>T. terschekii</i>	12.59	1.054	156

TABLA 4.4.20

Resultados del análisis de la varianza realizados con los tiempos de desarrollo de los machos (a) y hembras (b) emergidos del experimento monoespecífico.

a) machos

Fuente de Variación	SC	gl.	CM	F	p
Especie	0.013	1	0.013	21.58	0.001
Hospedador	$1.70 \cdot 10^{-3}$	1	$1.70 \cdot 10^{-3}$	1.04	0.416
Especie por hospedador	$2.42 \cdot 10^{-3}$	1	$2.42 \cdot 10^{-3}$	4.12	0.043
réplica dentro hospedador	$3.26 \cdot 10^{-3}$	2	$1.63 \cdot 10^{-3}$.52	0.611
tubos dentro réplica	0.025	8	$3.13 \cdot 10^{-3}$	5.32	0.001
Error	0.026	442	$5.88 \cdot 10^{-4}$		

b) hembras

Fuente de Variación	SC	gl.	CM	F	p
Especie	$7.24 \cdot 10^{-3}$	1	$7.24 \cdot 10^{-3}$	12.57	0.001
Hospedador	$2.07 \cdot 10^{-3}$	1	$2.07 \cdot 10^{-3}$	0.72	0.487
Especie por hospedador	$4.57 \cdot 10^{-3}$	1	$4.57 \cdot 10^{-3}$	7.93	0.005
réplica dentro hospedador	$5.73 \cdot 10^{-3}$	2	$2.87 \cdot 10^{-3}$	1.34	0.315
tubos dentro réplica	0.017	8	$2.14 \cdot 10^{-3}$	3.72	0.001
Error	0.241	417	$5.76 \cdot 10^{-4}$		

TABLA 4.4.21

Valores de las medias (x) de los tiempos de desarrollo expresado en días con su correspondiente desvío estandar (DE) y tamaño muestral (N) para los machos de ambas especies de *Drosophila* que emergieron de los 2 hospedadores (*O. sulphurea* y *T. terschekii*) en condiciones de densidad controlada y no controlada.

		FACTOR		
DENSIDAD HOSPEDADOR		CONTROLADA <i>O. sulphurea</i>		
		x	DE	N
ESPECIE	<i>D. buzzatii</i>	12.458	0.743	48
ESPECIE	<i>D. koepferae</i>	12.292	0.668	236
HOSPEDADOR		<i>T. terschekii</i>		
		x	DE	N
ESPECIE	<i>D. buzzatii</i>	13.167	0.337	12
ESPECIE	<i>D. koepferae</i>	12.718	1.165	266
DENSIDAD HOSPEDADOR		NO CONTROLADA <i>O. sulphurea</i>		
		x	DE	N
ESPECIE	<i>D. buzzatii</i>	14.364	1.136	22
ESPECIE	<i>D. koepferae</i>	14.478	1.370	113
HOSPEDADOR		<i>T. terschekii</i>		
		x	DE	N
ESPECIE	<i>D. buzzatii</i>	20.274	1.981	124
ESPECIE	<i>D. koepferae</i>	19.144	2.305	404

TABLA 4.4.22

Análisis de la Varianza para los tiempos de desarrollo de los machos de ambas especies de *Drosophila* que emergieron de los 2 hospedadores (*O. sulphurea* y *T. terschekii*) en condiciones de densidad controlada y no controlada.

Fuente de Variación	SC	gl.	CM	F	p
Hospedador (H)	0.53	1	0.53	309.53	0.001
Densidad (D)	1.38	1	1.38	811.61	0.001
Especie (E)	0.01	1	0.01	6.31	0.012
E por D	$3.4 \cdot 10^{-5}$	1	$3.4 \cdot 10^{-5}$.02	0.878
D por H	0.31	1	0.31	179.30	0.001
E por H	$8.1 \cdot 10^{-3}$	1	$8.1 \cdot 10^{-3}$	4.77	0.029
D por E por H	$2.2 \cdot 10^{-3}$	1	$2.2 \cdot 10^{-3}$	1.29	0.256
Error	2.07	1217	$1.7 \cdot 10^{-3}$		

4.5 Aspectos biogeográficos de *D. buzzatii* y *D. koepferae*

En la tabla 4.5.1 se muestran las capturas efectuadas en distintas poblaciones pertenecientes a diversas regiones fitogeográficas durante el año 1988 en colaboración con E. Hasson, C. Rodríguez y M. Santos, 1991 en colaboración con E. Hasson, C. Rodríguez y A. Fontdevila, y en el año 1993 en colaboración con A. Fontdevila.

Puede observarse en la figura 4.5.1 que las proporciones de *D. buzzatii* y *D. koepferae* varían ampliamente según la región fitogeográfica. En la región del Monte, donde ambas especies coexisten, la especie dominante es *D. koepferae* con el 72.9% respecto del total capturado en esta región. El monte se caracteriza por ser una región mucho más seca que el Chaco y los potenciales hospedadores son predominantemente los columnares mientras que los cactus del género *Opuntia* están representados por *O. sulphurea* aunque, también hay pequeñas plantaciones de *O. ficus-indica* en los alrededores de las casas.

Por su parte en el Chaco, en estos dos muestreos, no se detectó la presencia de *D. koepferae*. Sin embargo, Hasson y col. (1992) muestrearon moscas de *D. koepferae* en la población de Vipos que pertenece a la región fitogeográfica del Chaco. La región se caracteriza por las especies del género *Opuntia*, con *O. quimilo* como representante de la misma y gran cantidad de *O. ficus-indica* que se la encuentra principalmente en plantaciones para la explotación comercial de su fruto; los columnares están presentes pero en baja proporción.

Si bien, a *D. buzzatii* se la encontró en las 2 regiones, el 72.9% de las moscas de esta especie fue muestreada en el Chaco.

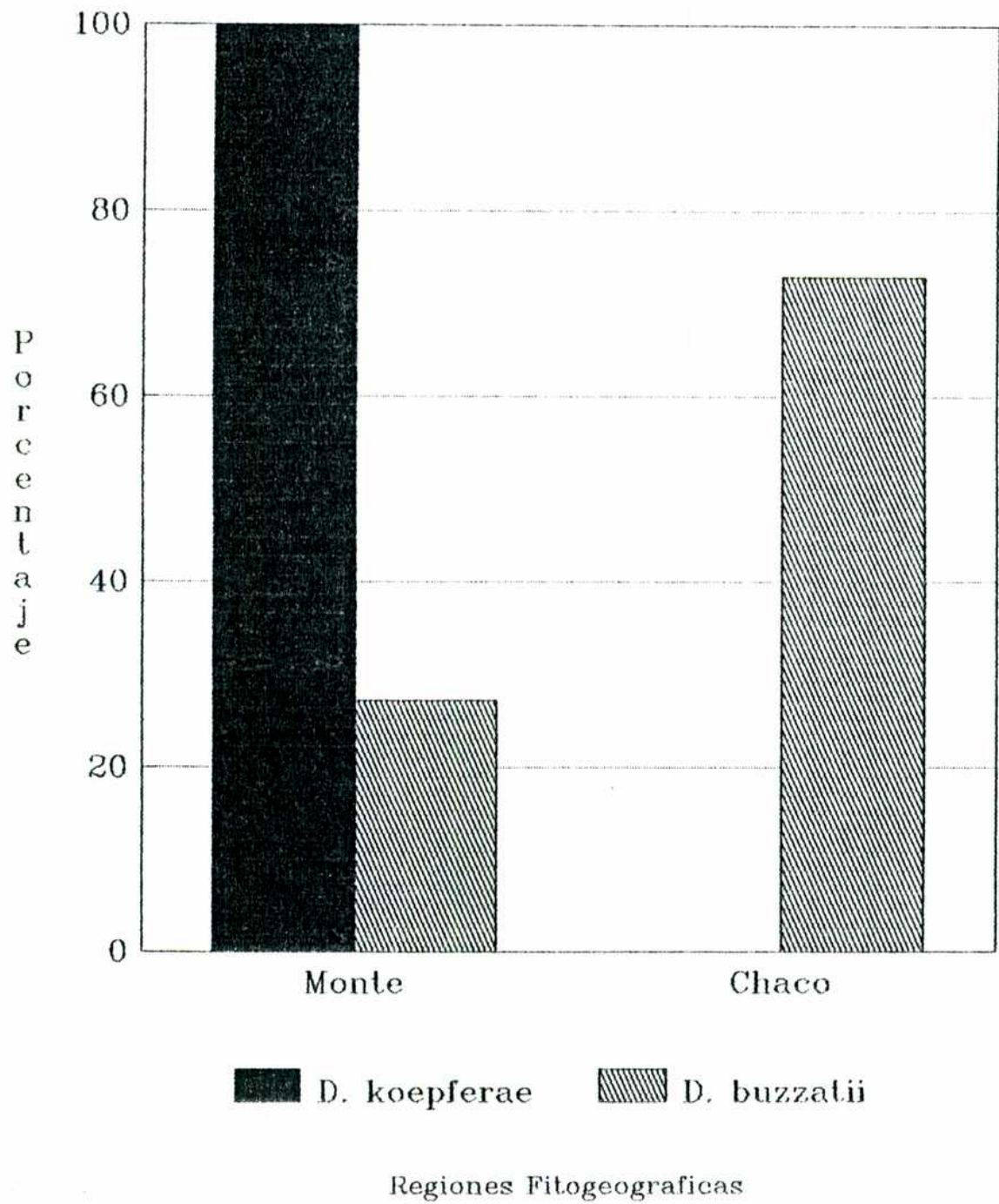
Esta distribución biogeográfica es la que se esperaría según los resultados obtenidos en la población de Ruinas de Quilmes donde se mostró que *D. buzzatii* ovipone más y tiene una mejor viabilidad en *Opuntia* mientras que *D. koepferae* mostró su preferencia y la mayor viabilidad en los columnares.

TABLA 4.5.1

Frecuencia absoluta de *D. buzzatii* y *D. koepferae* en los muestreos realizados en distintas poblaciones pertenecientes a diferentes regiones fitogeográficas

Población	Región	<i>D. buzzatii</i>	<i>D. koepferae</i>
Molle (91)	Monte	126	2
Yacochuya (91)	Monte	186	4
La Cebila (91)	Monte	0	8
R. de Quilmes (91)	Monte	56	120
R. de Quilmes (92)	Monte	307	1436
R. de Quilmes (93)	Monte	2	168
Mazan (91)	Monte	12	46
Vipos (91)	Chaco	304	0
Vipos (93)	Chaco	482	0
Mojotoro (91)	Chaco	140	0
Chumbicha (91)	Chaco	86	0
Palo Labrado (91)	Chaco	176	0
Catamarca (93)	Chaco	663	0
T. de Río Hondo (88)	Chaco	953	0

Figura 4.5.1
Distribucion biogeografica de
D. buzzatii y *D. koepferae*



5. DISCUSSION

5.1 Variación geográfica del tamaño en *D. buzzatii* y su correlación con el polimorfismo cromosómico

De acuerdo a los resultados obtenidos, en la naturaleza hay diferencias significativas en el tamaño del tórax entre los machos de *D. buzzatii* portadores de distintas inversiones del cromosoma 2.

En un estudio efectuado con líneas de *D. buzzatii* procedentes de distintas poblaciones de Australia, Robertson (1987) demostró que el tamaño del tórax promedio de las poblaciones difería cuando las moscas se desarrollaban en las mismas condiciones ambientales, sugiriendo una base genética para las diferencias. Sin embargo, no siempre se pueden detectar las diferencias genéticas en las poblaciones naturales porque un gran porcentaje de la varianza fenotípica corresponde a la varianza ambiental. En efecto, diversos factores ambientales como la temperatura (Robertson, 1987), densidad larvaria (Grimaldi y Jaenike, 1984, Etges y Heed, 1987; Fanara, 1988; Fanara y col., 1995), levaduras presentes (Vacek, 1982), estructura del recurso donde se desarrollan las larvas (Etges y Heed, 1987), entre otros, podrían enmascarar las diferencias que habría en los caracteres morfométricos debido al componente genético.

A pesar de la gran variabilidad ambiental que hay en las poblaciones naturales de *D. buzzatii*, se obtuvieron valores estadísticos de heredabilidad, tanto en poblaciones originales ($h^2 = 0.06-0.08$; Norry y col., 1995) como en poblaciones de España y Australia ambas con valores de heredabilidad de 0.06 (Ruiz y col., 1991 y Prout y Barker, 1989, respectivamente).

El efecto del polimorfismo cromosómico en caracteres morfométricos fué considerado nulo o despreciable (Lande, 1979a; John, 1981) aunque diversos autores demostraron lo contrario (para un ejemplo ver: Buttlin y col., 1982; Colombo, 1989). Particularmente en *D. buzzatii* se demostró en condiciones controladas, que las moscas portadoras de los cariotipos más frecuentes difieren en los tamaños del tórax (Hasson y col., 1992). Asimismo, estos autores mostraron que los efectos medios de las inversiones 2j y 2jz³ son similares y que ambos incrementan el tamaño medio del tórax en tanto que el efecto medio de la 2st lo disminuye.

Los resultados que presento en esta tesis son concordantes con los obtenidos en el laboratorio, las ordenaciones de la filada j confieren a sus

portadores un tamaño mayor que la 2st. La importancia de este resultado reside en que los individuos analizados se desarrollaron en la naturaleza donde la variabilidad ambiental por lo general enmascara el efecto genético.

El detectar que en distintas poblaciones naturales los machos de *D. buzzatii* muestran diferencias en el tamaño del tórax dependiendo de la inversión cromosómica, sugiere que las moscas que tienen 2j o 2jz¹ son en promedio genéticamente más grandes que la 2st.

Esta afirmación no sólo abarcaría a las poblaciones naturales de Argentina de donde *D. buzzatii* es originaria (Carson y Wasserman, 1965; Vilela y col., 1980; Fontdevila y col., 1982; Fontdevila, 1989) sino también a las poblaciones colonizadas del Viejo Mundo, puesto que en la población de Carboneras (España), Ruiz y Santos (1989) y Ruiz y col. (1991) mostraron resultados concordantes con los aquí presentados.

El efecto de los rearrreglos del cromosoma 2 en el tamaño del tórax puede deberse a diversas causas, que operarían en forma independiente o combinada. Una de ellas considera el posible desequilibrio de ligamiento que habría entre las inversiones del cromosoma 2 y el polimorfismo enzimático de las esterases (especialmente la esterasa 1, Est-1). Esta enzima está involucrada en la síntesis de la hormona juvenil que determina las fases del desarrollo larvario según la concentración en la que se encuentra (East, 1982). Asimismo, se detectaron efectos significativos de otras enzimas relacionadas con el metabolismo como la Alcohol dehidrogenasa (Adh) en el tamaño del tórax (Starmer y Barker, 1986).

La otra causa posible, se deriva de la influencia del desarrollo larvario en el tamaño corporal del adulto en *Drosophila*. Las etapas del crecimiento larvario se dividirían en dos (Bakker, 1959; citado por Gebhardt y Stearns, 1988): en una primera etapa, las larvas se desarrollan hasta adquirir un tamaño mínimo crítico que le permitiría, ante cualquier eventualidad, pupar. La duración de esta etapa es variable y las larvas pueden extender su tiempo de desarrollo mientras no alcancen el tamaño crítico. En la segunda etapa las larvas seguirían alimentándose hasta la pupación, durante un tiempo que es constante en todas las larvas.

Hillesheim y Stearns (1991) mostraron en *D. melanogaster*, la base genética del tamaño en la eclosión efectuando un experimento de selección artificial. En *Drosophila*, el tamaño corporal en la eclosión (que por tratarse

de insectos holometábolos será el mismo que el del adulto) está correlacionado con el tamaño crítico para pupar (Church y Robertson, 1966). Las larvas de *D. buzzatii* portadoras de la inversión 2j, podrían tener un tamaño crítico para pupar mayor que las portadoras de 2 st. Además, debería demostrarse que las dos posibles causas (desequilibrio de ligamiento y tamaño crítico para pupar) deberían ser independientes del ambiente, ya que en los resultados que presento, no se detectaron interacciones genotipo-ambiente.

Actualmente se está desarrollando, en el Grupo de Investigaciones en Biología Evolutiva (GIBE), un proyecto tendiente a estudiar en distintas poblaciones de Argentina el desequilibrio de ligamiento entre polimorfismos de inversiones del cromosoma 2 y diversas enzimas. Las poblaciones de *D. buzzatii* que se encuentran en Australia presentaron una misma dirección en el desequilibrio de ligamiento entre diferentes alelos de Esterasa 1 (Est-1) y los rearreglos del cromosoma 2: estandar (st), j y jz³ (Knibb y col., 1987).

Respecto al tamaño crítico para pupar, dado que diversos autores detectaron una alta plasticidad fenotípica para este carácter (Stearns y Koella, 1986; Gebhardt y Stearns, 1988; Hillesheim y Stearns, 1991), debería demostrarse que la heredabilidad del carácter es mayor que la heredabilidad de la plasticidad fenotípica ya que si esto no ocurre, el carácter no evolucionará (Scheiner y Lyman, 1989).

El hecho de no encontrar diferencias significativas entre poblaciones es sorprendente. El tamaño del tórax como especifiqué anteriormente es dependiente de factores ambientales y, entre Termas de Río Hondo y Arroyo Escobar hay claras diferencias en este aspecto. Por su localización geográfica, Termas de Río Hondo tiene una temperatura media anual más alta y una distribución de lluvias más espaciada.

Robertson (1987) sugirió que el tamaño corporal de los adultos de *D. buzzatii* dependería básicamente de la temperatura durante el desarrollo larvario, mientras que Thomas (1993) sostiene que el factor fundamental de la variación del tamaño es el grado de estrés nutricional que tiene las larvas durante su período de desarrollo.

Partiendo de estas dos consideraciones el hecho que entre las poblaciones no se observen diferencias, es decir que ambas poblaciones presenten en promedio, un tamaño similar, se debería por un lado a la

mayor latitud y consecuentemente la menor temperatura de Arroyo Escobar y por otro a que los hospedadores presentes en Termas de Río Hondo tienen un porte mayor y por lo tanto permitirían a las larvas alimentarse por más tiempo.

Las implicancias evolutivas que tienen estos resultados están orientadas a determinar cuál es la incidencia que los cambios morfológicos tienen en las variaciones de las frecuencias cromosómicas en *D. buzzatii*. Los cambios morfológicos que un dado carácter puede tener por efectos de la selección, no dependen sólo de la intensidad con la que la selección opera en ese carácter sino que también depende de la selección correlacionada (Lande, 1979b; Lande y Arnold, 1983). Formalmente, los cambios en las frecuencias del carácter por efectos de la selección dependen de las matrices genética y fenotípica de varianza y covarianza. Los caracteres que más están correlacionados con el tamaño del tórax son aquéllos que provienen de un mismo disco imaginal (Cowley y Atchley, 1990; Norry, comunicación personal). Al igual que los resultados obtenidos en esta tesis, Norry y col. (1995) demostraron en una población distante a 35 kilómetros de Arroyo Escobar, Otamendi, hay una relación consistente entre los caracteres que derivan del mismo disco imaginal y los rearrreglos más frecuentes del cromosoma 2. Este resultado confirmaría una vez más el efecto de los rearrreglos cromosómicos en los caracteres morfométricos de las moscas.

Uno podría preguntarse entonces, si los cambios en las frecuencias cromosómicas entre estadios detectados en poblaciones naturales (Ruiz y col., 1986; Hasson y col., 1991) se pueden explicar únicamente por efectos de la selección sobre el tamaño del tórax o caracteres morfométricos que se encuentren correlacionados. Uno de los resultados obtenido por Hasson y col. (1991) fué que el rearrreglo j aumenta su frecuencia por efectos de su mayor fecundidad que, está positivamente correlacionada con el tamaño del tórax en poblaciones naturales de *D. buzzatii* (Santos y col., 1992). Por otra parte, Hasson y col. (1991) también detectaron una disminución del rearrreglo 2 estandar por efecto de la longevidad, observación que perfectamente podría explicarse por selección fenotípica si se relacionan con los resultados obtenidos en esta tesis. En efecto, según los resultados presentados aquí las moscas de menor tamaño serían portadoras del rearrreglo 2 estandar y además tendrían una menor longevidad. Sin

embargo, Rodríguez y col. (en preparación) demostraron que las variaciones de las frecuencias cromosómicas no se pueden explicar únicamente por los cambios en la distribución de frecuencias del tamaño.

En suma, las relaciones entre el tamaño del tórax y las inversiones en *D. buzzatii* necesariamente deben ser estudiadas más frecuentemente tanto en la determinación de la causa de esta interacción y su incidencia en la evolución fenotípica como en la comprensión de las relaciones existentes entre los polimorfismos cromosómicos, los caracteres morfológicos y los componentes principales del fitness.

5.2 Efectos del tamaño del tórax en la longevidad en una población natural de *Drosophila buzzatii*.

El tamaño del tórax es un parámetro de muy fácil medición que se lo emplea en los estudios de adaptación de las especies a su medio. Sin embargo, previo a la utilización del tamaño del tórax como un indicador de la adaptación de las especies a su medio, es necesario demostrar que este parámetro se correlaciona con un carácter del fitness.

En *D. buzzatii*, los resultados obtenidos en este punto de la tesis muestran que el tamaño del tórax está positivamente correlacionado con la longevidad en la población natural de Arroyo Escobar. Más aún, ésta sería sólo una subestimación ya que las muestras de adultos capturados comprenden una mezcla de moscas de diferentes edades, donde también están presentes moscas recién emergidas, que enmascararían las diferencias observadas entre las muestras de capturados y emergidos.

La validez del resultado depende del cumplimiento de diversos supuestos. En primer lugar, no deberían registrarse incrementos del tamaño del tórax en los individuos durante la ontogenia de los mismos. Este supuesto está totalmente convalidado dado que *Drosophila* es un insecto holometábolo es decir, que el tamaño del adulto (que incluiría el tamaño del tórax, de las alas, la distancia intraocular, etc.) queda fijado durante la fase de pupa.

El segundo supuesto es que las dos muestras de individuos capturados (Marzo y Abril), que se hicieron utilizando trampas con banana, deben ser representativas de la población que se alimenta y ovipone en los sustratos

de *Opuntia vulgaris*. Para corroborar la validez del supuesto, en Noviembre de 1989 se capturaron hembras empleando como atractivos sustratos naturales y banana en colaboración con E. Hasson y C. Rodríguez. Como entre ambas muestras no hubo diferencias significativas en el tamaño del tórax ($t = 0.149$; $p = 0.704$) la suposición estaría convalidada.

La tercer suposición es que las moscas que se muestrearon en Abril deberían ser consideradas como las sobrevivientes de una "cohorte", que tuvo en promedio un tamaño del tórax similar a la muestra de emergidos. Dado el tiempo transcurrido entre la muestra de emergidos y la de capturados en Abril esta suposición también estaría convalidada.

El último supuesto es que durante el transcurso del experimento el tamaño del tórax permaceció constante.

Los valores máximos de las mediciones no se modificaron con lo cual podría considerarse que no hubo incrementos en el tamaño de las moscas. Sin embargo, entre ambas muestras de adultos capturados se detectaron diferencias en las medias, aunque fueron marginalmente significativas. La causa de esta variación se puede atribuir a que durante el desarrollo larvario la temperatura ambiental sufrió pequeños cambios, es decir que cada muestra de capturados tuvo condiciones de crecimiento diferentes. En *D. buzzatii* los trabajos de Robertson (1987) y Starmer y Wolf (1989), mostraron que una disminución en la temperatura en la fase larvaria tiene como correlato un incremento en el tamaño del adulto. La temperatura media en la que se desarrollaron las moscas capturadas en Marzo (fin del verano) fue de 23°C mientras que las capturadas en Abril (principio del otoño) corresponden a una temperatura media de 20°C. Esta variación pudo haber determinado que las moscas de ambos sexos capturadas en Abril fueran de mayor tamaño.

Otro importante factor que afecta el tamaño corporal, además de la temperatura, es la cantidad de nutriente que ingiere la larva durante su desarrollo. En efecto, Grimaldi y Jaenike (1984) observaron que los adultos de *D. falleni* y *D. testacea* fueron más grandes cuando se suplementó el alimento durante la fase larvaria.

En caso que las especies utilicen más de un recurso, además de la composición y cantidad de levaduras que están presentes en cada recurso (Starmer y col., 1990) importa también, la morfología del hospedador. Heed y Mangan (1986) observaron en *D. mojavensis* diferencias

significativas en el tamaño del tórax que dependía del hospedador que utilizaban; aquél que tiene un mayor diámetro sufre una desecación más lenta y por lo tanto permite a las larvas un desarrollo más prolongado. En la población de Arroyo Escobar, con una única especie hospedadora (*O. vulgaris*), las diferencias que se detectaron en los tamaños de tórax en los emergidos entre los sustratos (tabla 3.13) se debería a diferencias intraespecíficas en la composición y cantidad de levaduras presentes en la descomposición de los tejidos de *O. vulgaris*.

De acuerdo a los resultados presentados en esta tesis, un mayor tamaño corporal determinaría una mayor longevidad. Además, el tamaño corporal está positivamente correlacionado con el número de ovarias (Santos y col., 1992), la capacidad dispersiva (Roff, 1977), y la mayor tolerancia a la desecación (Parson, 1970; 1973) entre otros parámetros. Santos y col. (1988) describieron una correlación positiva entre el éxito en el apareamiento y el tamaño del tórax; sin embargo, en ese trabajo hay dos factores que podrían estar afectando los resultados: la longevidad y la selección correlacional. Por el lado de la longevidad, los resultados que presento demuestran que las moscas más grandes son más longevas y la muestra de exitosas (apareadas) del trabajo de Santos y col. (1988) podría tener una alta proporción de moscas longevas. En cuanto a la selección correlacional, Lande, 1979b; Lando y Arnold, 1983; Cowley y Atchley, 1990 demostraron que la selección no opera solamente sobre el carácter analizado sino que el blanco es una combinación de caracteres que están fenotípicamente correlacionados. En este aspecto, Norry y col. (1994) demostraron en *D. buzzatii* que el tamaño del tórax no sería el blanco de la selección sino, que se modificaría la media del tamaño del tórax por selección correlacional.

Como puede notarse, las moscas que poseen un tamaño corporal mayor tienen ventajas sobre las que poseen uno menor, y dadas las ventajas que tienen las moscas de mayor tamaño (ver arriba) se esperaría que las poblaciones incrementen su tamaño medio con el transcurso de las generaciones.

Todas las evidencias que hasta el momento presenté sólo demuestran la existencia de selección fenotípica ya que de las 3 condiciones propuestas por Endler (1986a) para que opere la selección natural sólo se comprobaron dos: variabilidad para el carácter (tamaño del tórax) y

relación entre el carácter y algún componente de la eficacia biológica (fitness). La condición restante es que el carácter sea heredable.

Las estimaciones de la heredabilidad del tamaño corporal que se hicieron en 3 poblaciones de *D. buzzatii* mostraron resultados significativos: en Arroyo Escobar con una estimación de 0.06-0.08 de heredabilidad (Norry, comunicación personal), del 0.06 en una población de Australia (Prout y Barker, 1989) y en otra de España (Ruiz y col., 1991). Entonces, si las 3 condiciones para que opere la selección están, deberían observarse cambios en el tamaño medio poblacional a lo largo de las generaciones. Esto aparentemente no ocurre. A qué se debería esta discrepancia? Como mencioné anteriormente, en las poblaciones los caracteres están correlacionados entre sí y la selección actúa sobre combinaciones de caracteres y en menor medida sobre caracteres aislados.

Lande (1979) y Lande y Arnold (1983) propusieron un modelo teórico que concibe el fitness medio de los individuos como una función lineal de los diversos caracteres. La respuesta a la selección no depende sólo de la proporción de varianza genética aditiva del carácter en cuestión sino que también depende de la covarianza genética aditiva entre el carácter (en este caso el tamaño corporal) y otro carácter (o caracteres) que estarían siendo seleccionados (Ruiz, 1990).

La covarianza genética aditiva surge por la combinación de todos los genes con efectos pleiotrópicos que tienen acción sobre los caracteres correlacionados o también de las asociaciones entre genes que influyen sobre los diferentes caracteres. Teóricamente la covarianza genética aditiva puede o no tener la misma magnitud y el mismo signo que la covarianza fenotípica.

La aparente ausencia de la respuesta a la selección del tamaño corporal podría deberse al efecto indirecto de la selección sobre otro carácter fenotípicamente correlacionado con el tamaño. Asimismo, no habría correlación genética aditiva entre el tamaño corporal y el carácter seleccionado y por lo tanto no se obtendría una respuesta del tamaño debida a la selección correlacionada sobre el otro carácter. Esta alternativa en principio se vería corroborada por las correlaciones fenotípicas detectadas (Santos y col., 1992; Norry y col., 1995). Sin embargo, en uno de los estudios (Santos y col., 1992) la covarianza genética aditiva entre los caracteres involucrados (tamaño del tórax y número de ovariolas) no

mostró diferencias significativas. Ahora bien, todas las covarianzas genéticas aditivas entre el tamaño del tórax y caracteres relacionados con el fitness no serán significativamente diferentes de cero, es decir el tamaño del tórax no será un carácter neutro? Esto parece poco probable (Ruiz, 1990).

Otra posibilidad es que un dado carácter se favorezca por selección en algún componente del fitness pero, entre este carácter y el tamaño del tórax haya una covarianza genética aditiva negativa; si, la selección tienen la misma magnitud sobre ambos caracteres, como resultado final no se observará cambio alguno en el tamaño del tórax. Este mecanismo, que fue propuesto por la teoría de los efectos pleiotrópicos antagónicos (Williams, 1957; Roughgarden, 1979; Rose, 1982, 1983; Templeton, 1980), podría ser el que explique el mantenimiento del tamaño medio del tórax a lo largo de las generaciones en las especies de *Drosophila* en general (Grimaldi, 1987; citado por Ruiz, 1990) y de *D. buzzatii* en particular.

En los párrafos anteriores mencioné que el tamaño está positivamente correlacionado con diversos caracteres de importancia en la adaptación: longevidad, éxito en el apareamiento, fecundidad, capacidad dispersiva, etc.; todos ellos correspondientes a la fase adulta de las moscas con lo cual, sería conveniente recurrir a estadios más tempranos para encontrar el carácter que permita el contrabalance. Las larvas de *D. buzzatii* se desarrollan en sustratos que son discretos y efímeros (Barker, 1982; Hasson y col., 1992) siendo las necrosis de los tejidos del género *Opuntia* las utilizadas con mayor frecuencia (Hasson y col., 1992) los que podrían explotarse como máximo por dos generaciones (Santos y col., 1989) dependiendo de la temperatura y humedad ambiental. Esto implicaría que el desarrollo larvario debería ser lo más rápido posible para evitar problemas de: mortandad larvaria por agotamiento del sustrato o efectos de deterioro del sustrato por aumento de la concentración de desechos metabólicos que pueden inhibir el crecimiento (Budnic y Brncic, 1976) o ataques de posibles parásitos como nematodos (Jaenike, 1993) y ácaros. Estos últimos por lo general están presentes en aquellos sustratos que por diversos motivos prolongaron su putrefacción (A. Fontdevila, comunicación personal).

Istock (1981) considera al tiempo de desarrollo uno de los tres componentes principales del fitness, es decir que tendría la suficiente

magnitud como para contrarrestar el efecto selectivo beneficioso de aquellas moscas que tengan un mayor tamaño del tórax, aunque debería probarse como condición indispensable que existe una relación inversa entre tamaño del tórax y el tiempo de desarrollo. En este sentido, los trabajos de selección artificial para aumento del tamaño corporal, realizados en *D. melanogaster*, tuvieron también como resultados un aumento en el tiempo de desarrollo (Robertson, 1963; Santos y col., 1994). Por otra parte, comparando distintas especies de *Drosophila*, Atkinson (1979) detectó una correlación negativa entre el tamaño y el tiempo de desarrollo.

Estos resultados sólo indican una posible correlación fenotípica negativa siendo necesario además, que se verifique la existencia de una covarianza genética aditiva negativa entre el tamaño y el tiempo de desarrollo. En *D. buzzatii* hay evidencias que permitirían probar la existencia de efectos pleiotrópicos antagónicos. Por un lado, una de las inversiones del cromosoma 2, la estandar, determina en aquellos individuos que la portan una disminución en el tamaño corporal, tanto en condiciones controladas (Hasson y col., 1992) como en poblaciones naturales originarias (resultados de esta tesis) y colonizadas (Ruiz y Santos, 1989). Por otra parte, esta inversión, tuvo un aumento significativo de su frecuencia durante la etapa larvaria en poblaciones naturales (Ruiz y col., 1986; Hasson y col., 1991).

Entonces, si como los resultados sugieren habría efectos pleiotrópicos antagónicos en *D. buzzatii*, el mantenimiento del equilibrio en el tamaño del tórax podría explicarse por esta causa. Asimismo, el tamaño del tórax promedio puede variar entre poblaciones ya que además de las variaciones en las condiciones climáticas, debería considerarse que las relaciones de compensación (trade-off) entre caracteres importantes en los estadios larvales y adultos son dependientes de las interacciones genotipo-ambiente (Santos y col., 1994).

A partir de estos resultados, debería profundizarse más sobre las relaciones que hay entre diferentes componentes del fitness y, tratar de estudiar la dinámica de estas relaciones en distintos escenarios ecológicos para esclarecer la estrategia seguida por *D. buzzatii* en la colonización de diferentes hábitats.

5.3 Análisis de selección de habitat y componentes de selección en *Drosophila buzzatii* en la población de Termas de Río Hondo.

Los resultados del trabajo efectuado en la población de *D. buzzatii* localizada en Termas de Río Hondo indican que las moscas portadoras de los distintos cariotipos del cromosoma 2 no presentan: a) atracción diferencial, b) oviposición diferencial y c) performance diferencial en la utilización de los recursos presentes en la población *O. quimilo* y *O. ficus-indica*.

Los efectos de la selección del habitat se pueden estudiar tanto en los adultos cuando colonizan nuevos habitats como en el estadio larval, que es el estadio de máxima utilización del recurso (Parsons, 1983). Jaenike (1990) a partir de los resultados de sus experimentos con *D. tripunctata*, sugiere diferenciar dos momentos en la colonización de un habitat determinado, en una primera etapa se colonizaría (settling) un potencial recurso y en una segunda etapa, se lo aceptaría o rechazaría para la oviposición.

Ambas etapas presentan variabilidad genética (Jaenike, 1985; 1987; 1990), requisito indispensable para que la selección natural pueda operar (Endler, 1986a). En este sentido, Barker (1992) mostró en *D. buzzatii*, que las poblaciones australianas presentaban variabilidad genética respecto a la oviposición.

El comportamiento de colonización se analizó comparando las frecuencias de inversiones estimadas en las muestras de Huevos 1 (H1) y machos capturados atraídos por *O. ficus-indica* y *O. quimilo*. En ambos casos no se detectaron diferencias significativas en las frecuencia de inversiones cromosómicas entre las moscas atraídas por ambos hospedadores. Esto llevaría a la conclusión que los rearreglos del cromosoma 2 no muestran atracción diferencial a los potenciales hospedadores.

Respecto a la oviposición la muestra de huevos 2 (H2) obtenidas a partir de las hembras capturadas de ambas especies de sustratos, podría considerárselas como una muestra representativa de aquellos que son puestos en la naturaleza si se cumplen dos supuestos: que las hembras tengan el mismo comportamiento de oviposición tanto en la naturaleza

como en la caja de puesta de huevos y, que no haya selección para viabilidad cuando las larvas se desarrollan en los tubos.

El primer supuesto podría convalidarse con los resultados obtenidos en la población natural de Arroyo Escobar por Rodríguez y col. (1992) quienes demostraron que no había diferencias significativas para las frecuencias de inversión en las muestras de H1 cuando se emplearon como atractivos, por un lado sustratos de *O. vulgaris* y por otro trampas convencionales con banana.

En el caso de la segunda suposición la misma también estaría convalidada por la alta viabilidad que se obtuvo (más de un 90%) fundamentada básicamente por las condiciones óptimas en las que se desarrollaron las larvas. Este gran porcentaje de supervivencia implicaría que la selección tendría una baja oportunidad de operar durante los estadios larvales en el laboratorio.

La comparación de las frecuencias de inversiones en las muestras de H2 entre *O. quimilo* y *O. ficus-indica*, tuvo como resultado que las diferencias fueran no significativas sugiriendo, que los diferentes arreglos no muestran efectos de oviposición diferencial. Sin embargo, esto debe considerarse con precaución dado que se utilizó el mismo estímulo de oviposición, la levadura comercial *Sacharomyces cerevisiae*, en las cajas de puestas donde se pusieron las hembras capturadas en ambos hospedadores.

El otro momento en que el recurso es utilizado, pudiendo actuar la selección de habitat, es el estadio larval en el que las larvas tendrían una performance diferente de acuerdo al ambiente. Como el habitat donde se desarrollan las larvas es discreto y las larvas no pueden pasar de un sustrato a otro, el éxito del desarrollo larvario dependerá de donde las hembras ovipongan.

Esto supone la existencia de una correlación entre la performance larvaria y la preferencia. Por supuesto que una hembra no sabría "a priori" qué recurso es el que le deparará un mayor fitness a sus descendientes, siempre que no hayan grandes diferencias entre los potenciales sitios de cria. El principio de Hopkins de selección de hospedador establece que la preferencia de oviposición de las hembras está sesgado hacia las especies huéspedes que ellas ocuparon como larvas (Craighead, 1921; citado por Futuyma y Petersen, 1985). Autores como Rausher (1983) y Singer y col.

(1988) entre otros, proponen que las hembras prefieren oviponer en aquellos huéspedes que favorecerían la performance larvaria.

Aunque en diversas especies de insectos se detectaron correlaciones fenotípicas (como ejemplo ver Via, 1986; Singer y col., 1988; Ng, 1988; Craig y col., 1989), las bases genéticas de estas correlaciones no están del todo claras (Jaenike, 1990). Más aún, Jaenike (1989) obtuvo con *D. tripunctata* resultados que no concuerdan con lo propuesto por los anteriores autores, demostrando que entre la performance larvaria y la preferencia hay independencia genética, así como también entre el comportamiento de atracción y la oviposición (Jaenike, 1986).

De acuerdo a los resultados obtenidos no hay diferencias significativas en las frecuencias cromosómicas para las larvas y los adultos emergidos de los sustratos de *O. quimilo* y *O. ficus-indica*. A partir de estos resultados podríamos deducir que si en la colonización y en los estadios larvales no hubo diferencias entre los dos recursos, tampoco habría diferencias en la oviposición, porque si existiera oviposición diferencial debería registrarse tal comportamiento en la distribución de la descendencia a menos que los efectos de la oviposición diferencial se compensen con las viabilidades. Esto último parece poco probable aunque es necesario un estudio más detallado.

La comunidad de levaduras que se desarrollan en las necrosis de los sustratos va cambiando con el tiempo, modificando el pH que se torna cada vez más básico (Barker y col., 1983; Peris, 1991). Por otra parte, las distintas especies de cactus presentan diferencias en la comunidad de levaduras. En este aspecto, las diferencias de presencia y abundancia relativa de las especies de levaduras, serían mayores entre sustratos dentro de cada especie que entre las dos especies hospedadoras. En un estudio realizado en Australia por Barker y col. (1984), con comunidades de levaduras que crecen en la necrosis de las especies de *Opuntia* (*O. stricta*, *O. tormentosa*, *O. streptocantha* y *O. monacantha* Haworth = *O. vulgaris* Miller), las diferencias entre comunidades fueron mayores entre especies que entre localidades habitadas por una misma especie. Sin embargo, Peris (comunicación personal) observó que estas dos especies hospedadoras (*O. quimilo* y *O. ficus-indica*) no se diferencian en la abundancia de los microorganismos presentes en la población de Termas de Rio Hondo. En ambas especies hospedadoras *Pichia cactophila* y *Candida sonorensis* fueron

las levaduras más abundantes. Resulta interesante destacar que estas dos especies de levaduras también son las especies más abundantes en la población de *O. ficus-indica* de Carboneras, España (Peris y col. en preparación) y en general son las más abundantes en la tribu *Opuntieae* (Starmer y col., 1990). La composición similar de levaduras podría ser en parte la causante de la no diferenciación en las frecuencias de rearrreglos cromosómicos entre las dos opuntias, suposición que concordaría con los resultados obtenidos por Vacek (1982) y Vacek y col. (1985) quienes mostraron, utilizando monocultivos de levaduras, que las moscas preferirían a *Pichia cactophila* para comer y oviponer. Esta especie de levadura, es un atrayente natural de *Drosophila buzzatii*.

Otra posible causa es que no habría correlaciones entre el polimorfismo de inversiones del cromosoma 2 y las distintas especies de levaduras, a diferencia del polimorfismo enzimático donde aparentemente hay evidencias de selección de hábitat para las poblaciones de *D. buzzatii* de Australia (Barker y col., 1986). Los resultados obtenidos por Peris y col. (1991) confirmarían esto, ya que las larvas portadoras de los distintos cariotipos no tienen diferencias en cuanto a la preferencia por *P. cactophila* presente en los sustratos de *O. ficus-indica* provenientes de una población natural de España.

El método que se empleó para estimar los componentes de fitness, por comparación de la distribución de las frecuencias de inversiones del cromosoma 2 entre diferentes estadios de vida, en poblaciones naturales de *D. buzzatii* se utilizó anteriormente en una población originaria (Hasson y col., 1991) y en otra colonizada (Ruiz y col., 1986), demostrándose en ambos estudios que la selección operaba en diversos componentes.

Los resultados del análisis de componente de selección muestran que en la población de Termas de Río Hondo de *D. buzzatii*, no hay efectos diferenciales de los distintos rearrreglos del cromosoma 2 para los componentes de fitness estudiados, excepto la ordenación *j* para el componente de longevidad.

Por las características del método utilizado, si el cambio de frecuencias es significativamente diferente de cero se puede inferir que los cariotipos difieren en los componentes tardíos del fitness (virilidad y fecundidad), sin embargo si el cambio de frecuencia no es diferente estadísticamente de cero

no se puede concluir que la selección no este operando sobre estos componentes del fitness porque algunos patrones de selección, por ejemplo el balance heterótico bajo condiciones restringidas, no producen cambios en las frecuencias de inversion (Ruiz y col., 1986), con lo cual la selección natural no se detectará con este metodo.

Si existe ventaja del heterocariotipo se puede comprobar para el componente de viabilidad larval, ya que por la metodología empleada se cuenta con las frecuencias cariotípicas de las muestras de H2 y larvas de tercer estadio. Como la comparación de ambas con los valores esperados por Hardy-Weinberg no fue significativa, se deduciría que el balance heterótico no estaría operando para este componente del fitness. Asimismo, si alguna forma de selección dependiente de las frecuencias estuviera operando y la población se encontrara en o cerca del equilibrio sólo se detectará la selección cuando se encuentre perturbada lejos del equilibrio.

Además de las limitaciones del diseño del método empleado para estimar la selección natural, esta no se detectará si la estimación fuera realizada mediante la comparación de los componentes selectivos, entre otros métodos existentes, cuando no haya selección o cuando esta ocurra en forma muy débil (Endler, 1986a).

De acuerdo a Carson y Wasserman (1965), Vilela y col. (1980) y Fontdevila y col. (1982) *D. buzzatii* se originó en la Argentina en una franja que va desde la provincia de San Luis hasta el norte de la provincia del Chaco. La población de Termas de Rio Hondo se sitúa en esta franja, con lo cual esta población puede ser muy antigua y esto llevaría a suponer que la misma esta adaptada. En referencia a esto último, la selección natural que puede estar actuando sobre los rearrreglos del cromosoma 2 sería muy débil y para detectar la misma se requeriría de tamaños muestrales muy grandes que en algunos casos serían mayores que el tamaño poblacional local, haciendo imposible tal detección (Endler, 1986a).

Hasson y col. (1991) sugirieron el cambio de nicho o el efecto fundador como las posibles causas de las diferencias observadas entre la población originaria (Arroyo Escobar, Argentina) y la colonizada (Carboneras, España). Las diferencias entre las poblaciones son tanto en las frecuencias del polimorfismo cromosómico de los pares 2 y 4, como en las relaciones

adaptativas que cada rearreglo tiene con los diferentes componentes selectivos. Por ejemplo, en Arroyo Escobar, los portadores de $2j$ incrementan su frecuencia por tener una mayor fecundidad mientras que en Carboneras la misma inversión disminuye su frecuencia durante el desarrollo larvario (Ruiz y col., 1986; Hasson y col., 1991).

La expresión genética depende del ambiente, y la colonización de un ambiente nuevo (como podría ser la colonización del Viejo Mundo por parte de *D. buzzatii*) podría causar la expresión de muchos genes nuevos. Dado que la selección natural no operó sobre esos genes se podría romper la combinación genética seleccionada en el ambiente original y entonces, desaparecerían los efectos pleiotrópicos positivos (Service y Rose, 1985).

Con el establecimiento de la población en el nuevo ambiente y debido a la expresión de nuevos genes Holloway y col. (1990) predicen: 1) un incremento en la varianza genética aditiva en cada carácter primario del fitness en relación al nivel que tenía la población previa a la colonización y 2) las compensaciones genéticas (trade-offs) entre esos caracteres se romperán y la correlación genética se moverá en dirección opuesta a su valor adaptativo a causa de la nueva pleiotropía positiva.

El efecto fundador puede modificar la variabilidad y arquitectura genética (Carson, 1982; Carson y Templeton, 1984) que podría inducir a una reorganización de los complejos coadaptados (por ejemplo las inversiones cromosómicas). Esta "revolución génica" alteraría los efectos que los polimorfismos tendrían con los diversos componentes selectivos y las relaciones pleiotrópicas antagónicas.

De la comparación del análisis de componentes selectivos entre la población de Arroyo Escobar y Carboneras, Fontdevila (1989) distinguió:

- a) Cambios en algunos componentes del fitness, siendo este el caso de la viabilidad larval
- b) cambios solo en la dirección del componente selectivo, tal el caso de la fecundidad (para una discusión ver Hasson y col., 1991)
- c) ningún cambio en los componentes selectivos, que comprendería el componente de virilidad.

Los resultados obtenidos en la población de Termas de Río Hondo sugerirían que de las dos posibles causas que explicarían las diferencias observadas entre las poblaciones colonizadas del Viejo Mundo (Carboneras, España) y originaria (Arroyo Escobar, Argentina), cambio de nicho y efecto fundador, la primera no habría tenido incidencia en el cambio de las frecuencias cromosómicas y que en todo caso el efecto fundador asociado a la colonización podría explicar estas variaciones así como también los cambios en los efectos pleiotrópicos de las inversiones sobre los componentes de la adaptación biológica.

5.4 Selección de hábitat en las especies cactófilas *Drosophila buzzatii* y *D. koepferae*.

Los resultados obtenidos en los estudios realizados en la población de Ruinas de Quilmes y en el laboratorio con moscas derivadas de esta población permitieron establecer que la coexistencia de las especies *D. buzzatii* y *D. koepferae* se debería a una utilización diferencial de los recursos *T. terschekii* y *O. sulphurea* por efectos de viabilidad y oviposición diferencial.

Drosophila koepferae, que es la especie dominante, explotaría preferentemente a *T. terschekii* mientras que *D. buzzatii* haría lo mismo con *O. sulphurea*. Si bien ambas especies pueden emplear como sustrato de cría y oviposición ambos hospedadores, la presencia de *D. buzzatii* en la población sólo es importante cuando hay una alta disponibilidad de su principal recurso *O. sulphurea*.

Los estudios realizados en el campo mostraron que *D. buzzatii* y *D. koepferae* no son atraídas diferencialmente por los recursos presentes en la población de Ruinas de Quilmes y que *T. terschekii* es más eficiente en la atracción de las moscas que *O. sulphurea*.

En un estudio realizado en Australia entre las especies simpátricas *D. buzzatii* y *D. aldrichi*, Krebs y col. (1991) observaron una atracción diferente de las tres especies de *Opuntia* que explotan estas especies, aunque *O. stricta* mostró los mayores índices de atracción para las 2 especies de *Drosophila*.

Las posibles causas de la mayor eficacia en la atracción de *T. terschekii* podrían ser tres: a) una particular composición de la comunidad de levaduras presentes en las necrosis. La distribución de las especies de levaduras en los hospedadores sería el resultado de una combinación de factores que incluyen las relaciones químicas entre plantas y microorganismos y las relaciones entre las *Drosophila* y las plantas hospedadoras (Fogleman y Heed, 1989). Entre los columnares y las *Opuntia* hay diferencias tanto en la composición química así como en la composición de levaduras (Starmer y col., 1990). En efecto, las *Opuntia* tienen un mayor contenido de azúcares libres como glucosa, fructosa y pequeñas cantidades de galactosa que están ausentes en los columnares mientras que estos contienen más lípidos (Kircher, 1982). Las diferencias en la composición química y en la comunidad de levaduras determinarían que los compuestos volátiles que se producen como resultado de la fermentación sean diferentes. Algunos compuestos volátiles son compuestos de reconocimiento de recursos (Parsons, 1983) y son utilizados por las *Drosophila* para localizar los potenciales recursos. Por ejemplo Parsons (1989) mostró que distintas especies de *Drosophila* reconocerían los recursos de acuerdo a las concentraciones de acetaldehído.

Las *Drosophila* son un importantísimo agente de dispersión de las levaduras entre las plantas hospedadoras (Ganter, 1988; Starmer y col., 1988). Particularmente en *D. buzzatii*, la transmisión de levaduras de generación a generación ocurriría verticalmente a través del estadio pupal y horizontalmente durante la reproducción (cortejo y apareamiento) (Starmer y col., 1988). Por otra parte, las larvas facilitan la dispersión de las levaduras a todo el sustrato durante su desplazamiento (Starmer y col., 1990). Ganter (1988) observó que en aquellos sustratos donde se detectó actividad de las *Drosophila* hay una mayor cantidad de especies de levaduras con capacidad de producir compuestos volátiles atrayentes que en los sustratos sin moscas.

b) El período durante el cual el sustrato es atractivo, ventana de atracción, es más prolongado en *T. terschekii* que en *O. sulphurea*. Como los sustratos de *T. terschekii* tiene un mayor tamaño y la putrefacción se va desarrollando a lo largo del sustrato, hay un mayor tiempo de atracción y por lo tanto la probabilidad de encontrar sustratos de *T. terschekii*

atractivos es mayor. En relación a este punto, Mangan (1982) y Heed y Mangan (1986) observaron en el desierto de Sonora (USA) que los cactus más grandes son utilizados usualmente como sitio de cría y oviposición por un período más prolongado.

c) La última causa está muy relacionada con la segunda pero en este caso, la mayor biomasa de *T. terschekii* determinaría una mayor concentración de compuesto volátiles que atraería a más moscas. Posiblemente las dos últimas causas esten presentes en forma simultánea.

En un estudio anterior Hasson y col. (1992) observaron que de *O. sulphurea* sólo emergía *D. koepferae* y que de *T. terschekii* emergían *D. koepferae* y *D. buzzatii* aunque la primera en forma mayoritaria. La constatación que *D. buzzatii* emerge de *O. sulphurea*, y que además en la campaña de 1992 fue la más abundante en *O. sulphurea*, es tal vez el primer registro de este aspecto ecológico de *D. buzzatii*.

En las zonas áridas y semiáridas de América del Norte, fundamentalmente en los desiertos del suroeste de Estados Unidos, se encuentran dos grupos de especies, por un lado aquellas especies que emergen de las especies de *Opuntia*: *D. aldrichi* y "de Novojoa" y, las que emergen de los columnares: *D. mojavensis* y *D. arizonensis*. Sin embargo, las especies de América del Norte mostraron comportamientos distintos al observado en *D. buzzatii* y *D. koepferae* ya que *D. aldrichi* y "de Novojoa" nunca emergieron de los columnares (Ruiz y Heed, 1988).

Las diferencias recién mencionadas entre las moscas cactófilas de América del Norte y del Sur podrían deberse a diferencias en la explotación del recurso, que en un sentido general comprenden dos fenómenos separados: selección de la planta hospedadora y utilización de la misma (Fogleman y Heed, 1989).

La selección de la planta hospedadora se la puede definir como la preferencia comportamental hacia una planta hospedadora particular, que estaría dada por la localización de la misma utilizando como guía los compuestos volátiles. La utilización del recurso representa la habilidad de un insecto para usar la planta como un sustrato, que estaría mediada por otros factores químicos como los elementos nutritivos esenciales y/o la presencia de compuestos tóxicos (por ejemplo aleloquímicos) que

disminuyen la habitabilidad del hospedador. En el primero, Frank y Fogleman (1992) demostraron que *D. pachea* tiene una dependencia nutricional de esteroides poco frecuentes que sólo se encuentran en el cactus senita (*Lophocereus schottii*). Tal vez, la falta de algún factor nutritivo esencial sea la causa de la baja viabilidad (26.1%) que *D. koepferae* mostró en el medio de laboratorio en el experimento monoespecífico (tabla 4.4.7).

La presencia de compuestos tóxicos en los hospedadores, constituyen un factor fundamental en la distribución de las especies de *Drosophila*. Las especies micófagas *D. recens* y *D. putrida*, no ven disminuída la viabilidad en altas concentraciones de alfa-amanatín, que es un potente inhibidor de la RNA polimerasa (Jaenike y col., 1983). También, se detectaron compuestos tóxicos (como ácidos grasos de cadena mediana C₈-C₁₂, glicósidos triterpénicos, alcaloides, quinonas, etc.) en los cactus que utilizan las especies del grupo repleta (Kircher, 1982; Frank y Fogleman, 1992).

Entonces, las especies del grupo repleta, cómo pueden utilizar la necrosis de los cactus?. La respuesta la obtuvieron Frank y Fogleman (1992), quienes estudiando diferentes especies del grupo repleta que habitan el desierto de Sonora (*D. mettleri*, *D. pachea*, *D. mojavensis* y *D. nigrospiracula*), detectaron una alta actividad del sistema enzimático del citocromo P450 que esta involucrado en la metabolización de compuestos tóxicos. Estos autores observaron además, que la actividad del citocromo P450 en *D. melanogaster* es muy baja, es decir que no podría detoxificar los compuestos tóxicos que hay en los cactus y ésta podría ser la causa de la ausencia de *D. melanogaster* entre las moscas que emergieron de *T. terschekii*. Como *D. melanogaster* sí emergió de *O. sulphurea* los compuestos tóxicos de los dos recursos necesariamente tiene que ser diferentes. En el caso de *D. buzzatii*, *D. koepferae* y *D. serenensis* sería de esperar que estas especies, al igual que las moscas del Desierto de Sonora, contarán con una alta actividad del sistema enzimático del citocromo P450, al haberse registrado moscas emergidas de *T. terschekii*.

Las diferencias en la relación entre *D. buzzatii* y *D. koepferae* en los registros de atracción y emergencia de ambos hospedadores podrían ser causadas por efectos de viabilidad y/o oviposición diferencial.

Con respecto a la viabilidad, que fue el carácter que se estudio en forma directa en esta tesis, se detectaron efectos de viabilidad diferencial, es decir que la viabilidad de las dos especies de *Drosophila* dependería del cactus donde se desarrollaron. Sin embargo, las diferencias en la viabilidad larvaria no pueden explicar los resultados obtenidos en el campo. En efecto, *D. koepferae* mostró la mayor viabilidad en los dos hospedadores en el experimento monoespecífico mientras que en la población natural, la especie que emergió con mayor frecuencia de *O. sulphurea* fue *D. buzzatii* a pesar que la misma fue menos atraída por este sustrato.

Otra posibilidad es que las emergencias registradas en la población natural se expliquen por efectos de competencia. Diversos autores presentaron evidencias de competencia interespecífica entre *Drosophila* cactófilas (Benado y Montero, 1988; Krebs y Barker, 1991), pero en nuestro diseño biespecífico no se observaron efectos de competencia denso-dependiente.

En este punto la incógnita es saber si las diferencias detectadas en el experimento biespecífico se pueden explicar sólo por viabilidad diferencial.

Para poder responder esta pregunta se deben hacer dos suposiciones:

1) no hay diferencia entre las viabilidades de los machos y las hembras en los dos recursos es decir, que el efecto de interacción sexo por hospedador en cada uno de los sustratos sería no significativo

2) no hay ningún efecto de interacción negativo entre las *Drosophila* cuando se desarrollan conjuntamente, es decir no interfieren entre sí.

En el caso de los tubos conteniendo *O. sulphurea*, en el experimento biespecífico, si no existiera ningun tipo de condicionante y la viabilidad fuera del 100% se esperarían 12 individuos de *D. buzzatii* y 28 de *D. koepferae* de acuerdo a las proporciones en que se colocaron las hembras (30% de *D. buzzatii* y 70% de *D. koepferae*). Dado que la viabilidad de *D. buzzatii* fue de 58.25% y la de *D. koepferae* de 67.75%, el número esperado de individuos si las viabilidades fueran independientes de la presencia de la otra especie sería de 7 moscas de *D. buzzatii* y 19 de *D. koepferae* (el porcentaje esperado de *D. buzzatii* es del 26.9% en *O. sulphurea*). Si se

hiciera un razonamiento similar para *T. terschekii*, el porcentaje esperado de *D. buzzatii* sería de 22.2.

Cualitativamente se pueden comparar las frecuencias de *D. buzzatii* esperadas en *O. sulphurea* y *T. terschekii* con las observadas en el primer día de emergencia del experimento biespecífico que fueron 16.9% en *O. sulphurea* y 5.1% en *T. terschekii*. Como puede notarse en ambos casos la proporción de *D. buzzatii* es más baja que la esperada y esto es más notorio en *T. terschekii*. Esta discrepancia estaría indicando que alguna de las suposiciones no es válida y/o que hay otro factor que está incidiendo en forma muy fuerte afectando los resultados.

En cuanto a la convalidación de los supuestos, el primero se ha convalidado experimentalmente ya que las proporciones de machos y hembras de *D. buzzatii* y *D. koepferae* no se apartan del esperado 1:1 (para *D. buzzatii* en *O. sulphurea* $X^2: 1,6 \cdot 10^{-4}$, en *T. terschekii* $X^2: 1,5 \cdot 10^{-3}$; para *D. koepferae* en *O. sulphurea* $X^2: 4,3 \cdot 10^{-3}$, en *T. terschekii* $X^2: 3,2 \cdot 10^{-3}$; en todos los casos con 1 grado de libertad diferencias no significativas). Si no se comprobara el segundo supuesto, es decir si hay una fuerte competencia interespecífica en perjuicio de *D. buzzatii*, se debería observar también una fuerte disminución del porcentaje de emergencias totales del experimento biespecífico respecto del monoespecífico. El porcentaje de emergidos esperados si la viabilidad del experimento monoespecífico se extrapola al biespecífico sería de 65% en *O. sulphurea* y 67.5% en *T. terschekii*; como, en el experimento se obtuvo un porcentaje de emergencias del 64.33 en *O. sulphurea* y el 72.73 en *T. terschekii* de las larvas sembradas se podría concluir que esta suposición está convalidada, aunque es de destacar que sólo se convalida cualitativamente.

Queda entonces la posibilidad que las emergencias de las moscas del experimento biespecífico no dependa sólo de las viabilidades sino que haya oviposición diferencial y, de acuerdo a los resultados obtenidos esto podría manifestarse de diferentes formas. Por un lado, los resultados de los estudios realizados en el campo y los experimentos de laboratorio sugieren que *D. buzzatii* ovipondría preferencialmente en *O. sulphurea*, preferencia que podría extenderse a la mayoría de las *Opuntia* (Hasson y col., 1992); mientras que *D. koepferae* lo haría preferentemente en *T. terschekii*. Sin embargo, en un experimento de elección en la oviposición, Fernandez Iriarte y col. (1995) observaron que *D. buzzatii* puso más huevos en *T.*

terschekii que en *O. sulphurea*. Para obtener una explicación a esta discrepancia se deberían hacer otros experimentos en los que además convendría modificar variables como: la densidad de moscas, el tiempo de putrefacción del sustrato, etc, con el fin de determinar si hay oviposición diferencial y cuál es el efecto de los distintos factores en dicho comportamiento.

En otro aspecto, los resultados están demostrando que *D. koepferae* y *D. buzzatii* tienen diferentes estrategias de oviposición. La primera sería una especie que ovipondría la mayor cantidad de huevos posibles ante el estímulo, mientras que *D. buzzatii* ovipondría, comparativamente, más veces pero una menor cantidad de huevos por puesta. Este comportamiento puede deducirse de la proporción de machos de *D. buzzatii* luego de 3 días de oviposición (tabla 3.3.10). Krebs y col. (1992) observaron que las hembras de *D. buzzatii* y *D. aldrichi* pusieron huevos en medios saturados con los mismos es decir, que la presencia de huevos no inhibe la oviposición. Sin embargo, en el momento de la oviposición las hembras requerirían de un espacio entre ellas para oviponer lo que podría resultar en una selección de habitat dependiente de la densidad (Barker, 1992). En este sentido, las hembras podrían oviponer sobre aquellas levaduras que intrínsecamente son menos preferidas.

Atkinson (1979) sugirió que las especies más grandes oviponen una mayor cantidad de huevos que las más pequeñas, trasladando esta característica a las 2 especies de *Drosophila* que son objeto de estudio en esta tesis, sería esperable que las hembras de *D. koepferae* pusieran más huevos que las de *D. buzzatii*. Si entonces consideramos las diferencias que habría entre las 2 especies en el momento de oviponer, *D. koepferae* pondría más huevos por puesta y preferencialmente en hospedador *T. terschekii*. El alto porcentaje de emergidos de *D. koepferae* obtenido de *T. terschekii* se explicaría por la combinación de estos factores.

Las diferencias en las estrategias de oviposición en ambas especies de *Drosophila* podría explicarse por la abundancia y predecibilidad de encuentro con el hospedador preferido. En las comunidades naturales, el porte y la densidad de una planta pueden estar inversamente correlacionado, y esto podría conducir a la evolución de diferentes patrones de oviposición (Thompson y Pellmyr, 1991). Encontrar un sustrato de *T. terschekii* sería más dificultoso que el hallar uno de *O.*

sulphurea, aunque cuando se localiza al primero, el porte que tiene permitiría que se desarrollasen una gran cantidad de larvas. *Opuntia sulphurea* representa el caso contrario, ya que el pequeño tamaño de los cladodios (palas) impediría que se desarrollen con éxito una gran cantidad de larvas. La predecibilidad del encuentro con el hospedador influiría además en otros parámetros de vida como el tiempo de desarrollo, el tamaño del tórax, etc. (Etges, 1989 a y b).

En cuanto a los restantes parámetros: tiempo de desarrollo y tamaño del tórax, los resultados mostraron que *D. buzzatii* fue la especie que se desarrolló más rápidamente mientras que *D. koepferae* fue la de mayor tamaño del tórax. La relación que existe entre el tiempo de desarrollo y el tamaño corporal puede interpretarse en términos de la fisiología del crecimiento larvario. En las poblaciones australianas de *D. buzzatii*, Krebs y Barker (1991) sugirieron que sólo variaba la tasa de crecimiento durante el segundo período. Si hay variación en la tasa de crecimiento en ambas etapas, el modelo predice que el tiempo de desarrollo y el tamaño corporal se correlacionan negativamente, esto estaría ocurriendo en las poblaciones de *D. buzzatii* y *D. koepferae* de Ruinas de Quilmes.

Como puede notarse ninguna de las dos especies presentó los mejores valores en todos los parámetros analizados. La causa de esto podría deberse a un efecto compensador donde un carácter beneficioso como el poseer un tamaño mayor se compensa con el hecho de tener un tiempo de desarrollo más prolongado. Las moscas más grandes son más fecundas (Atkinson, 1979) y tienen una mayor capacidad dispersiva (Roff, 1977, 1981; Mangan, 1982). Este punto en asociación con la preferencia de *D. koepferae* por *T. terschekii*, sugiere que el mayor tamaño de *D. koepferae* sería el resultado de su adaptación para el uso de este recurso, ya que esta mosca debe volar más que *D. buzzatii* para encontrar el hospedador preferido (dada la baja probabilidad de encuentro que tiene *T. terschekii*) y, una vez localizado oviponer la mayor cantidad de huevos posibles. En el caso de *D. buzzatii*, el menor tiempo de desarrollo que tendría esta especie podría asociarse al agotamiento rápido que tendría este recurso, especialmente en los períodos de estación seca.

Durante la campaña de Diciembre de 1993 se detectó que las moscas presentaban un alto índice de parasitismo por ácaros. Estos arácnidos son parásitos de los adultos, tanto de *D. koepferae* como de *D. buzzatii*, y suelen

encontrarse libres en aquellos recursos considerados viejos es decir, que tienen varios días pudriéndose (observaciones de campo). Esta observación estaría sugiriendo la existencia de una poca cantidad de hospedadores disponibles en la población.

Si ahora consideramos el efecto del hospedador donde se desarrollan las larvas de ambas especies, debe destacarse la interacción significativa huésped (especie de *Drosophila*) por hospedador. De esperarse un efecto de performance larvaria diferencial, el resultado esperado sería que *D. buzzatii* muestre los mejores valores en *O. sulphurea* y que *D. koepferae* haga lo mismo en *T. terschekii*. Pero, los datos obtenidos muestran que en ambas especies de *Drosophila* los mejores valores se obtuvieron cuando se desarrollaron en *O. sulphurea*, excepto para los machos de *D. buzzatii*. Este resultado sugiere que la calidad nutritiva de *O. sulphurea* sería superior a la de *T. terschekii*.

Por el contrario, las drosófilas cactófilas del complejo mulleri de América del Norte: *D. mojavensis*, *D. aldrichi*, *D. arizonensis* y "de Navojoa, mostraron los mejores valores en los parámetros de vida cuando las larvas se desarrollaron en sus hospedadores naturales que sobre cualquier otro hospedador (Ruiz y Heed, 1988).

Estos resultados permiten plantear la hipótesis que se deberá responder en próximos estudios: ¿el mayor tamaño de las moscas que emergen en condiciones controladas de *O. sulphurea* se obtiene también en la población natural?. En este punto subyace el problema de la estimación de la densidad larvaria en ambos hospedadores que podría estar influenciando el real efecto que tienen cada hospedador "per se".

Etges (1989a, 1993) demostró que *D. mojavensis* presenta un importante plasticidad fenotípica que le permitiría cambiar alternativamente de hospedador; desde un punto de vista ecológico Etges (1993) consideró a esta especie como generalista. Un caso similar ocurriría con *D. buzzatii* y *D. koepferae*, porque de acuerdo a los resultados obtenidos estas dos especies serían capaces de desarrollarse perfectamente en cualquiera de los dos tipos de hospedador.

Esta hipótesis se puede corroborar mediante el estudio de la influencia de la heterogeneidad ambiental en la evolución de los parámetros de vida en general y en los caracteres morfométricos en particular, que puede llevarse a cabo mediante la determinación de las matrices de varianza y

covarianza fenotípica y genética en cada ambiente (Via y Lande, 1985). Actualmente, este trabajo se está realizando en el laboratorio en colaboración con F. Norry y los resultados que se obtengan permitirán comprender cuál es el grado de la homeostasis o plasticidad fenotípica que hay en las dos especies de *Drosophila*.

En Amaicha del Valle, en ninguno de los dos años (1992 y 1993) se capturó *D. koepferae* sugiriendo que esta especie está ausente en esa población. El cactus predominante es *O. ficus-indica* aunque también está presente *O. sulphurea*.

Se podría suponer que la causa de la ausencia de *D. koepferae* en Amaicha del Valle se deba a efectos de mortandad larvaria. Si bien, la viabilidad de *D. koepferae* en *O. sulphurea* fue menor que en *T. terschekii*, en la primera *D. koepferae* tuvo una viabilidad mayor que *D. buzzatii*; en consecuencia, otro u otros factores serían la causa de la ausencia de *D. koepferae* en Amaicha del Valle.

Los resultados obtenidos en los estudios realizados por Fontdevila (1982) y Ruiz y col. (1985) serían tal vez la explicación de la ausencia. Estos autores, observaron que los adultos de *D. koepferae* tenían una sobrevida de muy corto tiempo cuando se alimentan de *Opuntia*. Las observaciones presentadas en esta tesis no estarían en un todo de acuerdo con lo sugerido por los anteriores autores puesto que, durante el transcurso de los experimentos de laboratorio y por un tiempo más prolongado, se mantuvieron cepas de *D. koepferae* en medio de *Opuntia* (específicamente *O. sulphurea*) indicando que los adultos de *D. koepferae* pueden alimentarse y sobrevivir perfectamente en *Opuntia*.

La ausencia de *D. koepferae* en Amaicha del Valle se debería por un lado a la falta de colonización debido fundamentalmente a que el hospedador preferido por esta especie (*T. terschekii*) está en una densidad muy baja en todo el trayecto de Amaicha del Valle a Ruinas de Quilmes. Ahora bien, en el caso en que hembras de *D. koepferae* lograran llegar y si los posibles hospedadores estimulan a las hembras a oviponer, estos tal vez no soportarían la cantidad de huevos, que estas moscas ponen por puesta de huevos y por consiguiente las larvas que se desarrollan en ese huesped.

El muestreo realizado en Ruinas de Quilmes en 1993 mostró una disminución significativa de *D. buzzatii*. La captura de 1992 transcurrió

durante el mes de Mayo, posterior al período de lluvias recolectándose sustratos de los 2 recursos. En tanto que en 1993 se capturó en Diciembre (previo al período de lluvias) y sólo se recolectaron sustratos de *T. terschekii* porque de *O. sulphurea* sólo se encontraron plantas verdes o sustratos completamente secos. El hecho que *D. buzzatii* prácticamente no esté en los registros de capturas de 1993 se correlacionaría con la falta de su principal recurso: *O. sulphurea*.

Las características de los cladodios (palas) determinarían que este recurso sea más efímero durante la estación seca y por lo tanto la probabilidad de las larvas de completar su desarrollo es más baja. En la época seca del año y ante la restricción de los recursos en Ruinas de Quilmes la distribución de *D. buzzatii* podría restringirse a aquellos lugares donde aumentara la probabilidad de encuentro con el recurso. Durante la captura de 1993 se localizaron plantaciones de *O. ficus-indica* a 5 km. de la población Ruinas de Quilmes. Seguramente en los alrededores de Ruinas de Quilmes existan otras plantaciones de *O. ficus-indica* dada la explotación comercial del fruto de esta especie. Los cladodios de *O. ficus-indica*, mucho más grandes y carnosos, tardarían más en secarse permitiendo que las larvas completaran su desarrollo. Durante la estación de lluvias se incrementaría la oferta del recurso *O. sulphurea* y, la proporción de *D. buzzatii* en Ruinas de Quilmes aumentaría a partir de las pocas moscas que se mantuvieron en la población explotando *T. terschekii* y por la migración de las poblaciones vecinas donde explotan *O. ficus-indica*.

Estas continuas migraciones y recolonizaciones podrían tener consecuencias en la dinámica de los polimorfismos cromosómicos y enzimáticos. En efecto, el estudio citogenético de *D. buzzatii* mostró que esta población es prácticamente monomórfica para el rearreglo j en el par cromosómico 2. Debe recordarse que el cromosoma 2 de *D. buzzatii* presenta un alto grado de polimorfismo en las numerosas poblaciones estudiadas en Argentina (Hasson y col., 1995).

Dobzhansky y col. sugirieron que aquellas poblaciones que presentan un bajo nivel de polimorfismo son poblaciones marginales. Entonces, es Ruinas de Quilmes una población marginal para *D. buzzatii*?. La respuesta es sí.

La deriva genética y la selección natural serían las dos fuerzas evolutivas que tienen mayor influencia en la constitución genética de esta población. La primera ocurriría en la estación seca como consecuencia del cuello de botella que sufriría la población debido a la escasez de *O. sulphurea*. Uno de los efectos más importantes de los cuellos de botella es la pérdida de alelos (en este caso inversiones) raros y la disminución de la heterocigosis en la población. Con respecto a la selección, en un punto de esta tesis se demostró que los portadores de la ordenación 2 j tiene en promedio un tamaño mayor (ver también Hasson y col., 1992; Fanara y col., 1995), aunque la selección fenotípica en el componente selectivo de longevidad no puede explicar cambios en las frecuencias cromosómicas (Rodríguez y col., 1993). Si bien, en esta población no se llevaron estudios tendientes a demostrar la relación entre selección fenotípica y cambios en las frecuencias cromosómicas, tal asociación podría ser muy fuerte debido a que durante la estación seca las moscas más grandes sobrevivirán más, dada la conjunción de una serie de factores como ser: la mayor sobrevivencia ante el estrés hídrico, la acción de los ácaros, la mayor capacidad dispersiva y por lo tanto una mayor probabilidad de encontrar recursos.

6. CONCLUSIONES

El estudio de selección de habitat de las especies sinmórficas *D. buzzatii* y *D. koepferae* demostró que las mismas tendrían diferentes estrategias de adaptación, que influyen en la distribución biogeográfica que cada una de ellas tiene. *Drosophila buzzatii* tiene una distribución subcosmopolita ya que se la encuentra en 4 de las 6 regiones zoogeográficas continentales estando ausente sólo en las regiones neoárticas y oriental (Barker y Muley, 1976; Fontdevila y col., 1981, 1982; Vilela, 1983). Por el contrario, *D. koepferae* tiene una distribución más restringida localizándose en el norte de Argentina y en las sierras de Bolivia (Ruiz y col., 1982; Tosi y Sene, 1989; datos aquí presentados).

Las diferencias en la distribución se debería fundamentalmente a dos causas:

1) Las opuntias tienen una distribución más amplia que los columnares (si nos circunscribimos sólo a la Argentina) y, como las opuntias son el principal recurso de *D. buzzatii* y los columnares de *D. koepferae*, esto podría explicar las diferencias en la distribución.

2) La colonización diferencial que presentarían ambas especies de *Drosophila*.

Respecto a la colonización es necesario diferenciar entre la colonización de un nuevo recurso perteneciente al mismo tipo de hospedador que la especie explota dentro una población y la colonización de un nuevo hábitat que podría o no estar dentro de la población original.

En este aspecto hay dos eventos que influyen en la colonización: oviposición y viabilidad.

Los resultados muestran que *T. terschekii* estimula más a *D. koepferae* a oviponer y que el comportamiento de oviposición varía entre especies ya que *D. koepferae* pone una mayor cantidad de huevos durante la primera oviposición una vez que encuentra el sustrato adecuado, mientras que las hembras de *D. buzzatii* ponen huevos en forma más constante a lo largo del tiempo es decir, que ante el encuentro de un sustrato atractivo no pone la mayoría de los huevos, sino que ovipone una cierta cantidad, reteniendo el resto, hasta el encuentro de sucesivos recursos atractivos donde pueda oviponer los restantes huevos.

Qué implicancias pueden tener estas diferencias? Si suponemos un escenario ecológico donde hay pocos recursos, aquellas especies que ovipongan más huevos cuando encuentran un sustrato prevalecerán sobre las restantes. Este sería el caso de las observaciones realizadas en Diciembre de 1993 en Ruinas de Quilmes, donde sólo se encontró *D. koepferae*.

Ahora bien, la oviposición más constante de *D. buzzatii* le permitiría a esta especie colonizar nuevos hábitats, que estuviesen alejados de la población original? Esto podría ser la causa de la distribución más amplia de *D. buzzatii* ya que cuando una hembra llega a un nuevo recurso puede colonizarlo, aunque éste debería ser probado.

Cabría resaltar en este punto, el error que se podría cometer si se extrapolaran los resultados obtenidos en otras circunstancias. Más en concreto, los resultados obtenidos en la primera parte de esta tesis demuestran que los individuos más grandes son más longevos, asimismo diversos trabajos mostraron que los individuos más grandes tiene una mayor capacidad de dispersión y de carga de huevos en las hembras, llevando a suponer que, como *D. koepferae* es más grande que *D. buzzatii*, *D. koepferae* tendría ventajas y esto le permitiría tener un mayor éxito en la colonización. Sin embargo, sólo parte de esto es correcto. En efecto, cuando se trata de colonizar nuevos recursos dentro de la misma población como en el caso de Ruinas de Quilmes, un mayor tamaño permitiría a los individuos soportar mejor una presión de selección tal como la que ejercen los ácaros o las condiciones de estrés ambiental, en especial la baja probabilidad de encuentro del recurso (sobretudo en la estación seca) que en el caso de *D. buzzatii* podría ser la causa del monomorfismo cromosómico (recordar que esta población es prácticamente monomórfica para la ordenación 2j). Cuando se trata de colonizar nuevos hábitats, otros factores tendrían más importancia como el comportamiento de oviposición o el tiempo de desarrollo, que como es más prolongado sería perjudicial si el hospedador es relativamente pequeño (como lo son las opuntias respecto a los columnares).

El éxito en la colonización no depende sólo de la oviposición sino que depende también de la viabilidad que las larvas tengan en el nuevo hospedador. De los resultados obtenidos en Ruinas de Quilmes se deduce que ambas especies de *Drosophila* tienen una buena viabilidad cuando se

desarrollan en columnares (*T. terschekii*) y opuntias aunque se observó que *D. koepferae* tiene mayor viabilidad en los columnares.

En relación a *D. buzzatii* se demostró que un carácter adaptativo como el polimorfismo cromosómico, no percibe la heterogeneidad ambiental presente en la población de Termas de Río Hondo caracterizado por los hospedadores *O. quimilo* y *O. ficus-indica*. De este resultado surgen dos consideraciones importantes:

1) las diferencias entre poblaciones colonizadas y originarias podrían deberse a factores históricos, como por ejemplo la colonización que ocurrió entre Arroyo Escobar (Pcia de Buenos Aires, Argentina) que según Fontdevila (1989; 1991) sería la población originaria de Carboneras (Almería, España)

2) los patrones macrogeográficos detectados por Hasson y col. (1995) para las poblaciones argentinas de *D. buzzatii*, no podrían explicarse por cambios de hospedador sino que las causas de dichos patrones serían otros factores ambientales o geográficos.

Tampoco, se detectaron diferencias en las viabilidades de las larvas de *D. buzzatii* cuando se desarrollaron en *O. sulphurea* y en el columnar *T. terschekii*, pero en este caso considerando a la especie *D. buzzatii* como unidad de estudio. Adaptativamente este punto tiene una incidencia muy importante ya que se trata de hospedadores completamente diferentes en cuanto a la morfología, bioquímica y potenciales competidores (recordar que de *O. sulphurea* emergió *D. melanogaster* y de *T. terschekii* lo hizo *D. serenensis*) lo cual estaría sugiriendo una mayor predisposición de *D. buzzatii* a colonizar nuevos habitats.

A partir de estos resultados se puede sugerir que la heterogeneidad ambiental tiene una fundamental participación en la distribución de *D. buzzatii* y *D. koepferae* y que la distribución más amplia de *D. buzzatii* respecto a *D. koepferae* se basa en los siguientes puntos:

- su principal recurso, especies del género *Opuntia*, tiene una distribución más amplia

- tiene una estrategia de oviposición que le permitiría oviponer huevos en más recursos

- no disminuye la viabilidad cuando coloniza columnares

- el menor tamaño del tórax implicaría un menor tiempo de desarrollo y esto le permitiría colonizar recursos más efímeros.

De la realización de esta tesis surgieron diversas preguntas, que no son las únicas ya que cada lector podría formularse aún más. Algunas de ellas son las siguientes:

- * Habría diferencias en los parámetros de vida entre los diferentes cariotipos de *D. buzzatii* cuando se desarrollan en *T. terschekii*?

- * Las diferentes ordenaciones del cromosoma 2 de *D. buzzatii* tienen diferentes tamaños críticos para pupar?

- * Podría *D. koepferae* colonizar una población donde sólo existieran opuntias como recurso?

- * Los diferentes cariotipos de *D. koepferae* presentan diferencias en el tamaño del tórax?

- * El polimorfismo cromosómico de *D. koepferae* es adaptativo?

- * El polimorfismo cromosómico de *D. buzzatii* tendría un comportamiento similar al observado en Termas de Río Hondo si los hospedadores son columnares y opuntias?

- * En *D. buzzatii* el desarrollarse en columnares u opuntias modifica la matriz de varianza y covarianza fenotípica y genética?, y en *D. koepferae*?

7. BIBLIOGRAFIA

- Anderson, W.W.; Arnold, J.; Sammons, S.A.; Yardley, D.B. 1986. Frequency dependent viabilities of *Drosophila subobscura* karyotypes. *Heredity* 56: 7-17.
- Anderson, W.W.; Kaneshiro, K.Y.; Gidding, L.V. 1989. Hampton Lawrence Carson: Interviews toward an Intellectual history. En: "Genetics, Speciation and the Founder Principle". Gidding, L.V.; Kaneshiro, K.Y.; Anderson, W.W. (eds.) pag 1-41. Oxford University Press. New York.
- Anderson, W.W.; Levine, L.; Olvera, O.; Powell, J.R.; de la Rosa, M.E.; Salceda, V.M.; Gaso, M.I.; Guzman, J. 1979. Evidence for selection by male mating success in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. *PNAS* 76: 1519-1523.
- Atkinson, W.D. 1979. A comparison of the reproductive strategies of domestic species of *Drosophila*. *J. Anim. Ecol.* 48: 53-64.
- Ayala, F.J.; Campbell, C.A. 1974. Frequency dependent selection. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 5: 115-138.
- Ayala, F.J.; Serra, L.; Prevosti, A. 1989. A grand experiment in evolution: The *Drosophila subobscura* colonization of the Americas. *Genome* 31: 246-255.
- Baimai, V.; Sene, F.M.; Pereira, M.A.Q.R. 1983. Heterochromatin and karyotypic differentiation of some neotropical cactus-breeding species of the *Drosophila repleta* species group. *Genetica* 60:81-92.
- Bakker, K. 1959. Feeding period, growth, and pupation in larvae of *Drosophila melanogaster*. *Ent. Exp. Appl.* 2: 171-186.
- Barbadilla, A.; Naveira, H. 1988. The estimation of parental genotypes by the analysis of a fixed number of their offspring. *Genetics* 119: 465-472.

- Barker, J.S.F. 1982. Population genetics of *Opuntia* breeding *Drosophila* in Australia. En: "Ecological Genetics and Evolution: The Cactus-Yeast-*Drosophila* Model System" Barker, J.S.F.; Starmer, W.T.(eds.) pág. 209-224. Academic Press. Sydney.
- Barker, J.S.F. 1992. Genetic variation in cactophilic *Drosophila* for oviposition on natural yeast substrates. *Evolution* 46: 1070-1083.
- Barker, J.S.F.; East, P.D.; Christiansen, F.B. 1989. Estimation and migration from a perturbation experiment in natural populations of *Drosophila buzzatii* Patterson & Wheeler. *Biol. J. of the Linnean Soc.* 37: 311-334.
- Barker, J.S.F.; East, P.D.; Phaff, H.J.; Miranda, M. 1984. The ecology of the yeast flora in necrotic *Opuntia* cacti and of associated *Drosophila* in Australia. *Microb. Ecol.* 10: 379-399.
- Barker, J.S.F.; Mulley, J.C. 1976. Isozyme variation in natural populations of *Drosophila buzzatii*. *Evolution* 30:213-233.
- Barker, J.S.F.; Sene, F.M.; East, P.D.; Pereira, M.A.Q.R. 1985. Allozyme and chromosomal polymorphism of *Drosophila buzzatii* in Brazil and Argentina. *Genetica* 67: 161-170.
- Barker, J.S.F.; Starmer, W.T.; Vacek, D.C.; 1987. Analysis of spatial and temporal variation in the community structure of yeast associated with decaying *Opuntia* cactus. *Microb. Ecol.* 14: 267-276.
- Barker, J.S.F.; Toll, G.L.; East, P.D.; Miranda, M.; Phaff, H.J. 1983. Heterogeneity of the yeast flora in the breeding sites of cactophilic *Drosophila*. *Can. J. Microbiol.* 29: 6-14.

- Barker, J.S.F.; Vacek, D.C.; East, P.D.; Starmer, W.T. 1986. Allozyme genotypes of *Drosophila buzzatii*: Feeding and oviposition preferences for microbial species, and habitat selection. *Aust. J. Biol. Sci.* 39: 47-58.
- Bell, G. 1984a. Measuring the cost of reproduction. I. The correlation structure of the life table of a plankton rotifer. *Evolution* 38: 300-313.
- Bell, G. 1984b. Measuring the cost of reproduction. II. The correlation structure of the life tables of five freshwater invertebrates. *Evolution* 38: 314-426.
- Bell, G. 1986. Reply to Reznick et al. *Evolution* 40: 1344-1346.
- Benado, M.; Montero, C. 1988. Competition between the cactophilic species *Drosophila starmeri* and *Drosophila uniseta*. *Rev. Chilena de Hist. Nat.* 61: 187-190.
- Brncic, D. 1983. Ecology of flower-breeding *Drosophila*. En: "The genetics and biology of *Drosophila*". Ashburner, H.; Carson, H.L.; Thompson Jr., J.N. (eds.) vol 3d pág. 333-382. Academic Press. London.
- Brncic, D. 1985. Polimorfismo cromosómico, coadaptación genética y especiación en el género *Drosophila*. En: "El núcleo, los cromosomas y la evolución". Fernandez Donoso, R. (ed.) pág. 41-61. UNESCO.
- Brussard, P.F. 1984. Geographic patterns and environmental gradients: The central-marginal model in *Drosophila* revisited. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 15: 25-64.
- Budnik, M.; Brncic, D. 1976. Effects of larval biotic residues on viability in four species of *Drosophila*. *Evolution* 29: 777-780.

- Bungaard, J.; Christiansen, F.B. 1972. Dynamics of polymorphisms. I. Selection components an experimental population of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 71: 439-460.
- Butlin, R.K.; Day, T.H. 1985. Genic and karyotypic selection on an inversion polymorphism in the seaweed fly, *Coelopa frigida*. *Heredity* 54: 267-274.
- Buttlin, R.K.; Read; I.L.; Day, T.H. 1982. The effects of a chromosomal inversion on adult size and male mating success in the seaweed fly, *Coelopa frigida*. *Heredity* 49: 51-62.
- Cabrera, A. 1976. Regiones fitogeográficas de la Argentina. Enciclopedia de la Argentina de agricultura y ganadería. Fasc. 1. Ed. ACME SACI. Buenos Aires.
- Campbell, A. 1985. Transposons and their evolutionary significance. En: "Evolution of genes and proteins". Nei, M.; Koehn, R.K. (eds.) Capitulo 13. Sinaver Associates Inc. Publishers.
- Carson, H.L. 1965. Chromosomal morphism in geographically widespread species of *Drosophila*. En: "Genetics of colonizing species". Barker, H.G.; Stebbins, G.L. (eds.) pag. 503-531. Academic Press. New York.
- Carson, H.L. 1976. Genetic differences between newly formed species. *Bioscience* 26: 700-701.
- Carson, H.L. 1982. Speciation as a major reorganization of polygenic balances. En: *Mechanisms of Speciation*. Barigozzi, C.; White, M.J.D. (eds.) pag. 411-433. A.R. Liss. New York
- Carson, H.L.; Clayton, F.E.; Stalken, H.D. 1967. Karyotypic stability and speciation in Hawaiian *Drosophila*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 57: 1280-1285.

- Carson, H.L.; Templeton, A.R. 1984. genetic revolutions in relation to speciation phenomena: The founding of new populations. *Ann. Rev. Ecol. Syst* 15: 97-131.
- Carson, H.L.; Wasserman, M. 1965. A widespread chromosomal polymorphism in a widespread species *Drosophila buzzatii*. *Am. Nat.* 99: 111-115.
- Cavicchi, S.; Guerta, D.; Natali, V.; Pezzoli, C.; Giorgi, G. 1989. Temperature-related divergence in experimental populations of *Drosophila melanogaster* II. Correlation between fitness and body dimensions. *Jour. of Evol. Biol.* 2: 235-251.
- Colombo, P. 1989. Chromosome polymorphisms affecting recombination and exophenotypic traits in *Leptysma argentina* (Orthoptera): A populational survey. *Heredity* 62: 289-299.
- Cooper, W.S. 1984. Expected time to extinction and the concept of fundamental fitness. *Jour. Theor. Biol.* 107: 603-629.
- Cowley, D.E.; Atchley, W.R. 1988. Quantitative genetics of *Drosophila melanogaster* II. Heritabilities and genetic correlations between sexes for head ant thorax traits. *Genetics* 119: 421-433.
- Cowley, D.E.; Atchley, W.R. 1990. Development and quantitative genetics of correlation structure among body parts of *Drosophila melanogaster*. *Am. Nat.* 135: 242-268.
- Craig, T.; Itami, J.; Price, P. 1989. A strong relationship between oviposition preference and larval performance in a shoot-galling sawfly. *Ecology* 70: 1691-1699.
- Craighead, F.C. 1921. Hopkins host-selection principle as related to certain cerambycid beetles. *J. Agric. Res.* 22: 189-220.

- Crow, J.F. 1987. Population genetics history: a personal view. *Ann. Rev. Genet.* 21: 1-22.
- Cheverud, J.M. 1988. A comparison of genetic and phenotypic correlations. *Evolution* 42: 958-968.
- Christiansen, F.B.; Frydenberg, O.; Hjorth J.P.; Simonsen, V. 1976. Genetics of *Zoarcus viviparus*. IX. Geographic variation at the three phosphoglucomutase loci. *Hereditas* 83: 245-256.
- Church, R.B.; Robertson, F.W. 1966. Biochemical analysis of genetic differences in the growth of *Drosophila*. *Gent. Res. Camb.* 7: 383-407.
- da Cunha, A.B.; Dobzhansky, Th. 1954. A further study of chromosomal polymorphism in *Drosophila willistoni* in relation to environment. *Evolution* 8: 119-134.
- Darwin, C. 1859. On the origin of the species by means of natural selection. Sixth edition. 1972. Murray. London.
- David, J. 1962. A new medium for rearing *Drosophila* in axenic conditions. *Dros. Inf. Serv.* 36: 128.
- David, J.; Tsacas, L. 1980. Cosmopolitan, subcosmopolitan and widespread: different strategies within the drosophilid family (*Diptera*). *C. R. Soc. Biogeogr.* 57:11-26.
- Dempster, E.R. 1955. Maintenance of genetic heterogeneity. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 20: 25-31.
- Dobzhansky, Th. 1951. genetics and the origin of species. Columbia. New York.
- Dobzhansky, Th. 1962. Rigid vs. flexible chromosomal polymorphism in *Drosophila*. *Am. Nat.* 96:321-328.

- Dobzhansky, Th. 1965. Genetic diversity and fitness. En: "Genetics today". Geerbs, S.J. (ed.) Proc XI International Congress of Genetics. vol. 3: 541-552. The Hague. Netherlands.
- Dobzhansky, Th. 1968a. On some fundamental concepts of Darwinian biology. *Evol. Biol.* vol 2: 1-34.
- Dobzhansky, Th. 1968b. Adaptedness and fitness. En: "Population Biology and Evolution" Lewontin, R.C. (ed.) pag. 109-121. Syracuse University Press. Syracuse. New York.
- Dobzhansky, Th. 1970. *Genetics of the Evolutionary Process*. Columbia Univ. Press. New York.
- Dover, G.A.; 1982. Molecular drive: a cohesive mode of species evolution *Nature* 299: 111-117.
- East, P.D. 1982. Non specific Esterases of *Drosophila buzzatii*. En: "Ecological Genetics and Evolution: The cactus-yeast-*Drosophila* model system". Barker, J.S.F.; Starmer, W.T. (eds.) pag. 323-338. Academic Press. Sydney.
- Eldredge, N.; Cracraft, J. 1980. *Phylogenetic patterns and the evolutionary process*. Columbia University Press. New York.
- Endler, J.A. 1980. Natural selction on color patterns in *Poecilia reticulata*. *Evolution* 34: 76-91.
- Endler, J.A. 1986a. *Natural Selection in the Wild*. Princenton University Press. Princenton. New Jersey.
- Endler, J.A. 1986b. The newer synthesis? Some conceptual problems in evolutionary biology. *Oxford Rev. Evol. Biol.* 3: 224-243.
- Endler, J.A.; McLellan, T. 1988. The processes of evolution: toward a newer sysnthesis. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 19: 395-421.

- Etges, W.J. 1989a. Evolution of developmental homeostasis in *Drosophila mojavensis*. *Evol Ecol.* 3: 189-201.
- Etges, W.J. 1989b. Direction of life-history evolution in *Drosophila mojavensis*. En: "Ecological and evolutionary genetics of *Drosophila*" Barker, J.S.F. y col. (eds.) pág 37-56. Plenum Press. New York.
- Etges, W.J.. 1993. Genetics of host-cactus response and life-history evolution among ancestral and derived populations of cactophilic *Drosophila mojavensis*. *Evolution* 47: 750-767.
- Etges, W.J.; Heed, W.B. 1987. Sensitivity to larval density in populations of *Drosophila mojavensis*: influences of host plant variation on components of fitness. *Oecologia* 71: 375-381.
- Ewing, E.P. 1979. Genetic variation in a heterogeneous environment. VII. Temporal and spatial heterogeneity in infinite populations. *Am. Nat.* 114: 197-212.
- Falconer, D.S. 1981. Introducción a la Genética cuantitativa. Longman. Londres.
- Fanara, J.J. 1988. Parámetros de vida en *Drosophila buzzatii*. Tesis de Licenciatura. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires.
- Fanara, J.J.; Hasson, E.; Rodríguez, C.; Vilardi, J.C. 1995. Influence of chromosome two arrangements on viability and developmental time of *Drosophila buzzatii*. *Rev. Brasil Genet.* 18: 17-21.
- Fanara, J.J; E. Hasson, E.; Rodriguez, C.; Naveira, H.; Ruiz, A.; Fontdevila, A. 1992. Biogeografía y polimorfismo cromosómico de *Drosophila koepferae* (grupo repleta, complejo martensis). XXIII Congreso Argentino de Genética. Pergamino.

- Fernández Iriarte, P.; Levy, E.; Fanara, J.J.; Hasson, E. 1995. Preferencia de oviposición de sustratos naturales por *Drosophila buzzatii*. XVII. Reunión Argentina de Ecología. Mar del Plata. pág. 119
- Fisher, R.A. 1930. The genetical theory of Natural Selection. Dover. New York.
- Fogleman, J.C. 1982. The role of volatiles in the ecology of cactophilic *Drosophila*. En: "Ecological Genetics and the Evolution: The cactus-yeast-*Drosophila* model system" Barker, J.S.F.; Starmer, W.T. (eds.) Academic Press. Sydney. Australia.
- Fogleman, J.C.; Heed, W.B. 1989. Columnar cacti and desert *Drosophila*: the chemistry of host plant specificity. En: "Special biotic relationship in the arid South West". Schmidt, J. (ed.) pág. 1-24. Univ. of New Mexico. Albuquerque.
- Fontdevila, A. 1982. Recent developments on the evolutionary history of the *Drosophila mulleri* complex in South America. En: "Ecological, Genetics and Evolution". Barker, J.S.F.; Starmer, W.T. (eds.) pág: 81-95. Academic Press. Australia
- Fontdevila, A. 1989. Founder effects in colonizing populations. The case of *Drosophila buzzatii*. En: "Evolutionary biology of transient unstable populations". Fontdevila, A. (ed.) pág. 74-95. Springer-Verlag. Berlin.
- Fontdevila, A. 1990. El problema taxonómico de las especies sinmórficas: un enfoque evolutivo. En: "Temas actuales de biología evolutiva". Ruiz, A.; Santos, M. (eds.) pág: 131-144. UAB. Bellaterra España.
- Fontdevila, A. 1991. Colonizing species of *Drosophila*. En: "Molecular techniques in Taxonomy." Hewitt, G.M. (ed.) pág. 249-269. Springer Verlag. Berlin Heidelberg.

- Fontdevila, A.; Pla, C.; Hasson, E.; Wasserman, M.; Sanchez, A.; Naveira, H.; Ruiz, A. 1988. *Drosophila koepferae*: a new member of the *Drosophila serido* (Diptera-Drosophilidae) superspecies taxon. Ann. of the Entomol. Soc. of America 81:380-385.
- Fontdevila, A.; Ruiz, A.; Alonso, G.; Ocana, J. 1981. Evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. I. Natural chromosomal polymorphism in colonized populations of the Old World. Evolution 35:148-157.
- Fontdevila, A.; Ruiz, A.; Ocana, J.; Alonso, G. 1982. Evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. II. How much has chromosomal polymorphism changed in colonization? Evolution 36: 843-851.
- Fontdevila, A.; Zapata, C.; Alvarez, G.; Sánchez, L.; Méndez, J.; Enríquez, P. 1983. Genetic coadaptation in the chromosomal polymorphism of *Drosophila subobscura*. I. Seasonal changes of gametic disequilibrium in a natural population. Genetics 105: 935-955.
- Ford, E.B. 1979. Ecological genetics. Chapman and Hall. London.
- Francino, O. 1988. Distribucion del elemento movil copia en el grupo repleta (genero *Drosophila*). Aislamiento y caracterizacion de dicho elemento a partir de uan genoteca de *Drosophila buzzatii*. Departamento de Genetica y Microbiologia. Informe de Programa de Doctorado. Univ. Autonoma de Barcelona.
- Frank, M.R.; Fogleman, J.C. 1992. Involvement of cytochrome P450 in host-plant utilization by Sonora desert *Drosophila*. PNAS 89: 11998-12002.
- Franklin, I.; Lewontin, R.C. 1970. Is the gene the unit of selection? Genetics 65: 707-734.
- Futuyma, D.J. 1986. Evolutionary Biology. Sinauer Associates Inc., Sunderland. Massachusetts.

- Futuyma, D.J.; Petersen, S.C. 1985. Genetic variation in the use of resources by insects. *Ann. Rev. Entomol.* 30: 217-238.
- Ganter, P.F. 1988. The vectoring of cactophilic yeast by *Drosophila*. *Oecologia* 75: 400-404.
- Gebhardt, M.D.; Stearns, S.C. 1988. Reaction norms for developmental time and weight at eclosion in *Drosophila mercatorum*. *J. Evol. Biol.* 1: 335-354.
- Gillespie, J.H. 1974. Polymorphism in patchy environments. *Am. Nat.* 108: 145-151.
- Gisel, J.T.; Murphy, P.A.; Manlove, M.N. 1982. The influence of temperature on genetic interrelationships of life history traits in a population of *Drosophila melanogaster*: what tangled data sets we weave. *Am. Nat.* 119: 464-479.
- Golschmidt, R. 1940. The material basis of evolution. Yale University Press. New Haven. Connecticut.
- Gould, S.J. 1980. Is a new and general theory of evolution emerging? *Paleobiology* 6: 119-130.
- Gould, S.J.; Lewontin, R.C. 1979. The spandrels of San Marcos and the Panglossian paradigm: a critique of the adaptationist programme. *Proc. Roy. Soc. Lond.* 205: 581-598.
- Gould, S.J.; Vrba, E.S. 1982. Exaptation a missing term in the science of form. *Paleobiology* 8: 4-15.
- Grimaldi, D.A. 1987. Amber fossil *Drosophilidae* (Diptera), with particular reference to the hispaniolan taxa. *American Museum Novitates* 2880: 1-23.

- Grimaldi, D.A.; Jaenike, J. 1984. Competition in natural populations of mycophagous *Drosophila*. *Ecology* 65: 1113-1120.
- Gustaffson, L. 1986. Lifetime reproductive succes and heritability: Empirical support for Fisher"s fundamental theorem. *Amer. Natur.* 128: 761-764.
- Haldane, J.B.S. 1937. The effect of variation on fitness. *Amer. Natur.* 71: 337-349.
- Haldane, J.B.S.; Jayakar, S.D. 1963. Polymorphism due to selection of varying direction. *J. Genet.* 58: 237-242.
- Hasson, E. 1988. Ecología evolutiva de *Drosophila buzzatii* y *Drosophila koepferae* (complejo mulleri; grupo repleta; *Drosophilidae*; *Diptera*) en las zonas aridas y semiaridas de la Argentina. Tesis doctoral. FCEN Univ. de Buenos Aires.
- Hasson, E.; Fanara, J.J.; Rodríguez, C.; Vilardi, J.C.; Reig, O.A.; Fontdevila, A. 1993. The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. XXVII. Thorax length is positively correlated with longevity in a natural population from Argentina. *Genetica* 92: 61-65.
- Hasson, E.; J.J. Fanara; C. Rodriguez; J.C. Vilardi; O.A. Reig; A. Fontdevila. 1992. The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. XXIV. Second chromosome inversions have different average effect on thorax length. *Heredity* 68: 557-563.
- Hasson, E.; Naveira, H.; Fontdevila, A. 1992. The breeding sites of Argentinian cactophilic species of *Drosophila mulleri* complex (Subgenus *Drosophila-repleta* group). *rev. Chilena de Hist. Nat.* 65: 319-326.
- Hasson, E.; Rodríguez, C.; Fanara, J.J.; Naveira, H.; Reig, O.; Fontdevila, A. The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. XXXI.

- Macrogeographic patterns of inversion polymorphisms in New World populations. *J. Evol. Biol.* 8: 369-384.
- Hasson, E.; Vilardi, J.C.; Naveira, H.; Fanara, J.J.; Rodríguez, C.; Reig, O.A.; Fontdevila, A. 1991. The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. XVI. Fitness components analysis in a natural original population from Argentina. *J. Evol. Biol.* 4: 209-225.
- Hedrick, P.W. 1983. *Genetics of populations*. Van Nostrand Reinhold and Co. New York.
- Hedrick, P.W. 1986. Genetic polymorphism in heterogeneous environments: a decade later. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 17: 535-566.
- Hedrick, P.W.; Ginevan, M.E.; Ewing, E.P. 1976. Genetic polymorphism in heterogeneous environments. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 17: 535-566.
- Hedrick, P.W.; Murray, E. 1983. Selection and measures of fitness. En: "The genetics and biology of *Drosophila*" Ashburner, M.; Carson, H.L.; Thompson Jr., J.N. (eds.) vol 3c pág. 61-104. Academic Press. London.
- Heed, W.B.; Mangan, R.L. 1986. Community ecology of Sonora Desert *Drosophila*. En: "The genetics and biology of *Drosophila*". Ashburner, M.; Carson, H.L.; Thompson Jr., J.N. (eds.) pag 311-345. Academic Press. London.
- Hillesheim, E.; Stearns, S.C. 1991. The responses of *Drosophila melanogaster* to artificial selection on body weight and its phenotypic plasticity in two larval food environments. *Evolution* 45: 1909-1923.
- Hoekstra, R.; Bijlsma, R.; Dolman, A.J. 1985. Polymorphism from environmental heterogeneity: models are only robust if the heterozygote is close in fitness to the favored homozygote in each environment. *Genet. Res.* 45: 299-314.

- Halloway, G.J.; Povey, S.R.; Sibly, R.M. 1990. The effect of new environment on adapted genetic architecture. *Heredity* 64: 323-330.
- Huxley, T.H. 1860. The origin of species. *Westminster review* 17: 541-570.
- Istock, C.A. 1981. The extent and consequences of heritable variation for fitness characters. En: "Population biology: retrospect and prospect". King, C.E.; Dawson, P.S. (eds.) pag 61-96. Columbia University Press. New York.
- Jaenike, J. 1985. Genetic and environmental determinants of food preference in *Drosophila tripunctata*. *Evolution* 39: 362-369.
- Jaenike, J. 1986. Genetic complexity of host-selection behavior in *Drosophila*. *PNAS* 83: 2148-2151.
- Jaenike, J. 1987. Genetics of oviposition site-preferences in *Drosophila tripunctata*. *Heredity* 59: 363-369.
- Jaenike, J. 1989. Genetic population structure of *Drosophila tripunctata*: Patterns of variation and covariation of traits affecting resource use. *Evolution* 43: 1467-1482.
- Jaenike, J. 1990. Factors maintaining genetic variation for host preference in *Drosophila*. En: "Ecological and Evolutionary Genetics of *Drosophila*". Barker, J.S.F.; Starmer, W.T.; McIntyre, R.J. (eds.) pag 195-207. Plenum Press. New York y Londres.
- Jaenike, J. 1993. Rapid evolution of host specificity in a parasitic nematode. *Evol. Ecol.* 7: 103-108.
- Jaenike, J.; Grimalde, D.A.; Sluder, A.E.; Greemleaf, A.L. 1983. Alfa-aminatin tolerance in mycophagous *Drosophila*. *Science* 221: 165-167.

- John, B. 1981. Chromosome change and evolutionary change: a critique. En: "Evolution and Speciation". Atchley, W.R.; Woodruff, D.S. (eds.) pág 23-51. Cambridge Univ. Press. Cambridge.
- Kaneshiro, K.Y. 1989. The dynamics of sexual selection and founder effects in species formation. En: "Genetics, Speciation and the Founder Principle". Giddings, L.V.; Kaneshiro, K.Y.; Anderson, W.W. (eds.) Capítulo 13: 279-296. Oxford University Press. New York.
- Kimura, M. 1965. A stochastic model concerning the maintenance of genetic variability in quantitative characters. PNAS (USA) 54: 731-736.
- Kimura, M. 1983. The neutral theory of molecular evolution. Cambridge University Press. Cambridge.
- Kircher, H.W. 1982. Chemical composition of cacti and its relationship to Sonora Desert. En: "Ecological Genetics and Evolution: The cactus-yeast-*Drosophila* model system". Barker, J.S.F.; Starmer, W.T. (eds.) pág. 143-158. Academic Press. Sydney.
- Knibb, W.R.; Barker, J.S.F. 1988. Polymorphic inversion and Esterase loci complex on chromosome 2 of *Drosophila buzzatii*. II. Spatial variation. Aust. J. Biol. Sci. 41: 239-246.
- Knibb, W.R.; East, P.D.; Barker, J.S.F. 1987. Polymorphic inversion and Esterase loci complex on chromosome 2 of *Drosophila buzzatii*. I. Linkage disequilibria. Aust. J. Biol. Sci. 40: 257-269.
- Krebs, R.A.; Barker, J.S.F. 1991. Coexistence of ecologically similar colonising species: Intra- and interspecific competition in *Drosophila aldrichi* and *Drosophila buzzatii*. Aust. J. Zool. 39: 579-593.
- Krebs, R.A.; Barker, J.S.F.; Armstrong, T.P. 1992. Coexistence of ecologically similar colonising species. III. *Drosophila aldrichi* and *D.*

- buzzatii*: larval performance on, and adult preference for, three *Opuntia* cactus species. *Oecologia* 92: 362-372.
- Krimbas, C.B. 1984. On adaptation, neo-darwinian tautology, and population fitness. *Evol. Biol.* 17: 1-51.
- Krimbas, C.B.; Loukas, M. 1980. The inversion polymorphism of *Drosophila subobscura*. *Evol. Biol.* 12: 163-234.
- Krimbas, C.B.; Powell, J.R. 1992. Introduction. En: "*Drosophila* inversion polymorphism". Krimbas, C.B.; Powell, J.R. (eds.) pág 1-52. CRC. Press.
- Lande, R. 1977. The influence of the mating system on the maintenance of genetic variability in polygenic characters. *Genetics* 86: 485-498.
- Lande, R. 1979a. Quantitative genetic analysis of multivariate evolution applied to brain: body size allometry. *Evolution* 33: 402-416.
- Lande, R. 1979b. Effective deme sizes during long-term evolution estimated from rates of chromosomal rearrangement. *Evolution* 33: 234-251.
- Lande, R.; Arnold, S.J. 1983. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution* 37: 1210-1226.
- Levenne, H. 1953. Genetic equilibrium when more than one ecological niche is available. *Am. Nat.* 87: 331-333.
- Levins, R.; Lewontin, R. 1985. *The dialectical biologist*. Harvard University Press.
- Lewontin, R.C. 1970. The units of selection. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 1: 1-16.

- Lewontin, R.C. 1974. *The Genetic Basis of Evolutionary Change*.
Columbia University Press. New York.
- Lewontin, R.C.; Ginzburg, L.R.; Tuljapurkar, S.D. 1978. Heterosis as
an explication for large amounts of genic polymorphism. *Genetics* 88:
149-170.
- Luckinbill, L.S.; Arking, R.; Clare, M.J.; Cirocco, W.C.; Buck, S.A.
1984. Selection for delayed senescence in *Drosophila melanogaster*.
Evolution 38: 996-1003.
- Luckinbill, L.S.; Clare, M.J. 1985. Selection for life span in *Drosophila*
melanogaster. *Heredity* 55: 9-18.
- Lynch, M.; Gabriel, W. 1987. Environmental tolerance. *Am. Nat.* 129:
283-303.
- MacIntyre, R.J.; Collier, G.E. 1986. Protein evolution in the Genus
Drosophila. En: "The genetics and biology of *Drosophila*." Ashburner,
M.; Carson, H.L.; Thompson, J.N. Jr. (eds.) Vol 3e pág 39-146.
Academic Press. London.
- Mangan, R.L. 1982. Adaptations to competition in cactus breeding
Drosophila. En: "Ecological Genetics and Evolution: The cactus-yeast-
Drosophila model system". Barker, J.S.F.; Starmer, W.T. (eds.) pág.
257-272. Academic Press. Sydney.
- Maynard Smith, J. 1978. Optimization theory in evolution. *Ann. Rev.*
Ecol. Syst. 9: 31-50.
- Maynard Smith, J. 1983. The genetics of stasis and punctuation. *Ann.*
Rev. Genet. 17: 11-25.
- Maynard Smith, J.; Hoekstra, R. 1980. Polymorphism in a varied
environment: how robust are the models? *Genet. Res.* 37: 45-57.

- Mayr, E. 1963. *Animal species and evolution*. Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts.
- Mayr, E. 1982. *The growth of biological thought*. Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts.
- Mayr, E. 1983. How to carry out the adaptationist program?. *Am. Nat.* 121: 324-334.
- McNeill Alexander, R. 1991. Apparent adaptation and actual performance. *Evol. Biol.* 25:357-373.
- Merrel, D.J. 1981. *Ecological Genetics*. University of Minnesota Press. Minneapolis.
- Merritt Emlen, J. 1973. *Ecology: An Evolutionary Approach*. Addison-Wesley Publishing Co.
- Murphy, P.A.; Gisel, J.T.; Manlove, M.N. 1983. Temperature effects on life history variation in *Drosophila simulans*.
- Nei, M. 1975. *Molecular population genetics and evolution*. Amsterdam. North-Holland.
- Nei, M.; Kojima, K.; Schaffer, H.E. 1967. Frequency changes of new inversions in populations under mutation-selection equilibria. *Genetics* 57: 741-750.
- Nevo, E. 1991. Evolutionary theory and processes of active speciation and adaptive radiation in subterranean mole rats, *Spalax ehrenbergi*, in Israel. *Evol. Biol.* 25: 1-125.
- Ng, D. 1988. A novel level of interactions in plant-insect systems. *Nature* 334: 611-613.

- Norry, F.M.; Vilardi, J.C.; Fanara, J.J.; Hasson, E. 1995. Sexual selection on morphometric traits in *Drosophila buzzatii*. J. Insect Behav. En prensa.
- Orr, H.A.; Coyne, J.A. 1992. The genetics of adaptation: a reassessment. Am. Nat. 140: 725-742.
- Pamilo, P. 1988. Genetic variation in heterogeneous environments. Ann. Zool. Fennici 25: 99-106.
- Parker, G.A.; Maynard Smith, J. 1990. Optimal theory in evolutionary biology. Nature 348: 27-33.
- Parsons, P.A. 1970. Genetic heterozygosity in natural populations of *Drosophila melanogaster* for ability to withstand desiccation. Theor. Appl. Genet. 40: 261-266.
- Parsons, P.A. 1973. Genetic resistance to environmental stresses in *Drosophila* populations. Ann. Rev. of Genet. 7: 239-265.
- Parsons, P.A. 1983. Ecobehavioral genetics: habitats and colonists. Ann. Rev. Ecol. Syst. 14: 35-55.
- Parsons, P.A. 1989. Acetaldehyde utilization in *Drosophila*: an example of hormesis.
- Partridge, L. 1988. Lifetime reproductive success in *Drosophila*. En: "Reproductive success" Clutton-Brock, T.H. (ed.) pag. 11-23. University Chicago Press. Chicago.
- Partridge, L.; Endler, J.A. 1987. Life history constraints on sexual selection. En: "Sexual selection: testing the alternatives". Bradbury, J.W.; Anderson, M.B. (eds.) pag 265-277. J. Wiley & Sons Limited.

- Partridge, L.; Farquaer, M. 1983. Lifetime reproductive success of male fruit flies (*Drosophila melanogaster*) is related to their size. *Anim. Behav.* 31: 871-877.
- Partridge, L.; Harvey, P.H. 1988. The ecological context of life history evolution. *Science* 241: 1449-1455.
- Partridge, L.; Hoffman, A.; Jones, J.S. 1987. Male size and mating success in *Drosophila melanogaster* and *D. pseudoobscura* under field conditions. *Anim. Behav.* 35; 468-476.
- Patterson, J.T.; Stone, W.S. 1952. *Evolution in the genus Drosophila*. MacMillan. New York.
- Patterson, J.T.; Wheeler, M.R. 1942. Description of new species of the subgenera *Hirtodrosophila* and *Drosophila*. *Univ. Texas Publ.* 4213:67-109.
- Pease, C.M.; Bull, J.J. 1988. A critique of methods for measuring life-history trade-offs. *Jour. Evol. Biol.* 1: 293-303.
- Peris, F. 1991. Adaptación trófica y evolutiva de *Drosophila* en zonas áridas. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona. Bellaterra. Barcelona.
- Peris, F.; Quezada-Díaz, J.E.; Barbadilla, A.; Ruiz, A.; Santos, M.; Fontdevila, A. 1991. Definición del nicho trófico de *Drosophila buzzatii*. En: "VIII Seminario de Genética de Poblaciones y Evolución". Universidad Autónoma de Barcelona.
- Petit, C.; Ehrman, L. 1969. Sexual selection in *Drosophila*. *Evol. Biol.* 3: 177-223.
- Prevosti, A.; Ribó, G.; Serra, L.; Aguade, M.; Balaña, J.; Monclús, M.; Mestres, F. 1988. Colonization of America by *Drosophila subobscura*:

- Experiment in natural population that supports the adaptive role of chromosomal inversion polymorphism. PNAS (USA) 85: 5597-5600.
- Prevosti, A.; Serra, L.; Ribó, G.; Aguadé, M.; Sagarra, E.; Monclús, M.; García, M. 1985. The colonization of *Drosophila subobscura* in Chile. II. Clines in the chromosomal arrangements. Evolution 39: 838-844.
- Prevosti, A.; Serra, L.; Sagarra, C.; Aguadé, M.; Ribó, G.; Monclús, M. 1990. Clines of chromosomal arrangements of *Drosophila subobscura* in South America evolve closer to Old World patterns. Evolution 44: 218-221.
- Primack, R.B.; Kang, H. 1989. Measuring fitness and natural selection in wild plant populations. Ann. Rev. Ecol. and Syst. 20: 367-396.
- Prout, T. 1969. The estimation of fitnesses from population data. Genetics 63: 949-967.
- Prout, T. 1971a. the relation between fitness components and population in *Drosophila*. I. The estimation of fitness components. Genetics 68: 127-149.
- Prout, T. 1971b. the relation between fitness components and population in *Drosophila*. I. Population prediction. Genetics 68: 151-167.
- Prout, T.; Barker, J.S.F. 1989. Ecological aspects of the heritability of body size in *Drosophila buzzatii*. Genetics 123: 803-813.
- Rausher, M.D. 1983. Ecology of host-selection behavior in phytophagous insects. En: "Variable plants and herbivores in natural and managed systems". Denno, R.F.; McClure, M.S. (eds.) pag. 223-257. Academic Press. New York.

- Reig, O.A. 1983. Estado actual de la teoría de la formación de las especies animales. Informe final IX Cong. Lat. de Zool. pag. 37-57.
- Reznick, D.N.; Bryga, H. 1987. Life-history evolution in guppies (*Poecilia reticulata*) I. Phenotypic and genetic changes in an introduction experiment. *Evolution* 41: 1370-1385.
- Reznick, D.W.; Perry, E.; Travis, J. 1986. Measuring the cost of reproduction: a comment on papers by Bell. *Evolution* 40: 1338-1344.
- Robertson, F.W. 1963. The ecological genetics of growth in *Drosophila*. 6. The genetic correlation between the duration of the larval period and body size in relation to larval diet. *Genetical Research* 4: 74-92.
- Robertson, F.W. 1987. Variation of body size within and between wild populations of *Drosophila buzzatii*. *Genetica* 72: 111-125.
- Rodríguez, C.; Hasson, E.; Fanara, J.J.; Vilardi, J.C. 1992. Second chromosome polymorphism of *Drosophila buzzatii* is not associated with gametic selection and does not affect mating pattern. *Genet. Sel. Evol.* 24: 179-186.
- Rodríguez, C.; Hasson, E.; Fanara, J.J.; Vilardi, J.C. 1993. Efecto de las inversiones del cromosoma 2 de *Drosophila buzzatii* sobre el tamaño corporal en la naturaleza. XXIV Congreso Argentino de Genética - II Jornadas Argentino - Uruguayas de Genética. Posadas. Pag. 100
- Roff, D.A. 1977. Dispersal in dipterans: its costs and consequences. *J. Anim. Ecol.* 46: 443-456.
- Roff, D.A. 1981 On being the right size. *Am. Nat.* 118: 405-422.
- Roff, D.A. 1986. Predicting body size with life-history models. *Bioscience* 36: 316-323.

- Roff, D.A.; Mousseau, T.A. 1987. Quantitative genetics and fitness: lessons from *Drosophila*. *Heredity* 58: 103-118.
- Rose, M.R. 1982. Antagonistic pleiotropy, dominance, and genetic variation. *Heredity* 48: 63-78.
- Rose, M.R. 1983. Theories of life history evolution. *Am. Zool.* 23: 15-23
- Rose, M.R. 1984. Artificial selection on a fitness component in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* 38: 516-526.
- Rose, M.R.; Chalesworth, B. 1980. A test the evolutionary theories of senescence. *Nature* 287: 141-142.
- Rose, M.R.; Chalesworth, B. 1981a. Genetics of life-history in *Drosophila melanogaster*. I. Sib analysis of adult females. *Genetics* 97: 173-186.
- Rose, M.R.; Chalesworth, B. 1981b. Genetics of life-history in *Drosophila melanogaster*. II. Exploratory selection experiments. *Genetics* 97: 187-196.
- Rose, M.R.; Service, P.M.; Hutchinson, E.W. 1987. Three approaches to trade-offs in life history evolution. En: "Genetic constraints on adaptive evolution". Loeschcke, V. (ed.) Capitulo 5. Springer Verlag, Heidelberg. Berlin.
- Rossi, M.; Barrio, E.; Quezada-Díaz, J.E.; Latorre, A.; Hasson, E.; Moya, A.; Fontdevila, A. 1995. The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. XXX. Mitochondrial DNA variation in original and colonized populations. *Mol. Biol. Evol.* En prensa.
- Roughgarden, J. 1979. Theory of population genetics and evolutionary ecology: An introduction. Macmillen Publising Co., Inc. y Collier Macmillan Publishers.

- Ruiz, A. 1990. Por qué tienen las moscas el tamaño que tienen? En: "Temas actuales de Biología Evolutiva". Ruiz, A.; Santos, M. (eds.). Publicaciones de la Univ. Autónoma de Barcelona pag. 85-106. Barcelona.
- Ruiz, A.; Fontdevila, A.; Santos, M.; Seoane, M.; Torroja, E. 1986. The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. VIII. Evidence for endocyclic selection acting on the inversion polymorphism in a natural selection. *Evolution* 40: 740-755.
- Ruiz, A.; Fontdevila, A.; Wasserman, M. 1982. The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. III. Cytogenetic relationships between two sibling species of the buzzatii cluster. *Genetics* 101:503-518.
- Ruiz, A.; Heed, W.B. 1988. Host-plant specificity in the cactophilic *Drosophila mulleri* species complex. *J. Anim. Ecol.* 57:237-249.
- Ruiz, A.; Naveira, H.; Fontdevila, A. 1985. La historia evolutiva de *Drosophila buzzatii*. IV. Aspectos citogenéticos de su polimorfismo cromosómico. *Genet. Iber.* 36: 13-35.
- Ruiz, A.; Naveira, H.; Fontdevila, A. 1985. The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. V. Differential survivorship on *Opuntia* between *Drosophila buzzatii* and *Drosophila serido*. *Experientia* 41: 129-131.
- Ruiz, A.; Santos, M. 1989. Mating probability, body size, and inversion polymorphism in a colonizing population of *Drosophila buzzatii*. En: "Evolutionary biology of transient unstable populations". Fontdevila, A. (ed.) pág. 96-113. Springer-Verlag. Berlin.
- Ruiz, A.; Santos, M.; Barbadilla, A.; Quesada-Diaz, J., Hasson, E.; Fontdevila, A. 1991. The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. XVIII. Genetic variance for body size in a natural population. *Genetics* 128: 739-750.

- Ruiz, A.; Wasserman, M. 1993. Evolutionary cytogenetics of the *Drosophila buzzatii* species complex. *Heredity* 70:582-596.
- Sánchez, A. 1986. Relaciones filogenéticas en los clusters *buzzatii* y *martensis* (grupo *repleta*) de *Drosophila*. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona.
- Santos, M. 1986. The role of genic selection in the establishment of inversions polymorphism in *Drosophila subobscura*. *Genetica* 69: 35-45.
- Santos, M.; Fowler, K.; Partridge, L. 1994. Gene-environment interaction for body size and larval density in *Drosophila melanogaster*: an investigation of effects on development time, thorax length and adult sex ratio. *Heredity* 72: 515-521.
- Santos, M.; Ruiz, A.; Barbadilla, A.; Quezada-Diaz, J.; Hasson, E.; Fontdevila, A. 1988. The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. XIV. Larger flies mate more often in nature. *Heredity* 61: 255-262.
- Santos, M.; Ruiz, A.; Fontdevila, A. 1989. The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. XIII. Random differentiation as a partial explication of chromosomal variation in a structured natural population. *Am. Nat.* 133: 183-197.
- Santos, M.; Ruiz, A.; Quezada-Diaz, J.; Barbadilla, A.; Fontdevila, A. 1992. The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. XX. Positive phenotypic covariance between field adult fitness components and body size. *J. Evol. Biol.* 5: 403-422.
- Santos, M.; Tarrío, R.; Zapata, C.; Alvarez, G. 1986. Sexual selection on chromosomal polymorphism in *Drosophila subobscura*. *Heredity* 57: 161-169.
- Scheiner, S.M.; Lyman, R.F. 1989. The genetics of phenotypic plasticity. I. Heritability. *J. Evol. Biol.* 2: 95-107.

- Service, P.M.; Rose, M.R. 1985. Genetic covariation among life-history components: the effect of novel environments. *Evolution* 39: 943-945.
- Singer, M.C.; Ng, D.; Thomas, C.D. 1988. Heritability of oviposition preference and its relationship to offspring performance within single insect population. *Evolution* 42: 977-985.
- Sokal, R.R.; Rohlf, F.J. 1981. *Biometry*. W. H. Freeman and Company. New York. Segunda edición.
- Soulé, M. 1973. The epistasis cycle: A theory of marginal populations. *Ann Rev. Ecol. Syst.* 4: 165-187.
- Sperlich, D. 1966. Equilibria for inversion induced by x-rays in isogenic strains of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* 53: 853-842.
- Sperlich, D.; Pfriem, P. 1986. Chromosomal polymorphism in natural and experimental populations. En: "The Genetics and Biology of *Drosophila*". Carson, H.L.; Ashburner, M.; Thompson Jr., J.N. (eds.) vol 3e, pág. 257-309. Academic Press. London.
- Starmer, W.T.; Barker, J.S.F. 1986. Ecological genetics of the Adh-1 locus of *Drosophila buzzatii*. *Biol. J. of Linn. Soc.* 28: 373-385.
- Starmer, W.T.; Lachance, M.; Phaff, H.J.; Heed, W.B. 1990. The biogeography of yeast associated with decaying cactus tissue in North America, the Caribbean, and Northern Venezuela. En: "Evolutionary Biology" Hecht, M.K.; Wallace, B.; MacIntyre, R. (eds.) vol. 24: 115-190. Plenum Press. New York.
- Starmer, W.T.; Peris, F.; Fontdevila, A. 1988. The transmission of yeast by *Drosophila buzzatii* during courtship and mating. *Anim. Behav.* 36: 1691-1695.
- Starmer, W.T.; Wolf, L.L. 1989. Causes of variation in wing loading among *Drosophila* species. *Biol. J. of the Linn. Soc.* 37: 247-261.

- Stearns, S.C.; Koella, J.C. 1986. The evolution of phenotypic plasticity in life-history traits: predictions of reaction norms for age and size at maturity. *Evolution* 40: 893-913.
- Taylor, C.E.; Condra, C. 1980. r- and K- selection in *Drosophila pseudoobscura*. *Evolution* 34: 1183-1193.
- Templeton, A.R. 1980. The evolution of life histories under pleiotropic constraints and r- selection. *Theor. Popul. Biol.* 18: 279-289.
- Thoday, J.M. 1953. Components of fitness. *Evolution* 7: 96-113.
- Thomas, R.H. 1993. Ecology of body size in *Drosophila buzzatii*: untangling the effects of temperature and nutrition. *Ecological Entomology* 18: 84-90.
- Thompson, J.N.; Pellmyr, O. 1991. Evolution of oviposition behavior and host preference in *Lepidoptera*. *Ann. Rev. Entomol.* 36: 65-89.
- Throckmorton, L.H. 1962. The problem of phylogeny in the genus *Drosophila*. *Univ. Texas Public.* 6205:207-343.
- Throckmorton, L.H. 1975. The phylogeny ecology and geography of *Drosophila*. En: "Handbook of Genetics". King, R.C. (ed.) Vol. 3 pág: 421-469. Plenum Publ. Corp. New York.
- Throckmorton, L.H. 1982. Pathways of evolution in the Genus *Drosophila* and the founding of the Repleta group. En: "Ecological, Genetics and Evolution". Barker, J.S.F.; Starmer, W.T. (eds.) pág: 33-47. Academic Press. Australia
- Tosi, D.; Sene, F.M. 1989. Further studies on chromosomal variability in the complex taxon *Drosophila serido* (Diptera, Drosophilidae). *Rev. Brasil. Genet.* 12:729-745.

- Turelli, M. 1984. Heritable variation via mutation-selection balance: Lerch's zeta meets the abdominal bristle. *Theor. popul. biol.* 25: 138-193.
- Turner, J.R.G. 1977. Butterfly mimicry: the genetical evolution of an adaptation. *Evol. Biol.* 10: 163-206.
- Vacek, D.C. 1982. Interactions between microorganisms and cactophilic *Drosophila* in Australia. En: "Ecological Genetics and Evolution: The cactus-yeast-*Drosophila* model system". Barker, J.S.F.; Starmer, W.T. (eds.) pág. 115-190. Academic Press. Sydney.
- Vacek, D.C.; East, P.D.; Barker, J.S.F.; Soliman, M.H. 1985. Feeding and oviposition preferences of *Drosophila buzzatii* for microbial species isolated from its natural environment. *Biol. J. Linn. Soc.* 24: 175-187.
- Via, S. 1986. Genetic covariance between oviposition preference and larval performance in an insect herbivore. *Evolution* 40: 778-785.
- Via, S.; Lande, R. 1985. Genotype-environment interaction and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution* 39: 505-522.
- Vilela, C.A. 1983. A revision of the *Drosophila* species group. (Diptera-Drosophilidae). *Rev. Bras. Ent.* 27:1-114.
- Vilela, C.A.; Sene, F.M.; Pereira, M.A.Q.R. 1980. On the *Drosophila* fauna of Chaco and east slopes of the Andes in Argentina. *Rev. Bras. Biol.* 40: 837-841.
- Vilela, C.R.; Sene, F.M. 1977. Two new neotropical species of the repleta group of the genus *Drosophila*. *Papeis Avulao Zool. S. Paulo* 30 (20):295-299.
- Wade, M.J.; Kalisz, S. 1980. The causes of natural selection. *Evolution* 44: 1947-1955.

- Wallace, B. 1975. Hard and Soft selection revisited. *Evolution* 29: 465-473.
- Wallace, B. 1984. Adaptation, neo-darwinian tautology, and population fitness: a reply. *Evol. Biol.* 17: 59-71.
- Wallace, B. 1991. Coadaptation revisited. *J. of Heredity* 82: 89-95.
- Wasserman, M. 1960. Cytological and Phylogenetic relationships in the repleta group of the genus *Drosophila*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 46:842-859.
- Wasserman, M. 1962a. Cytological studies of the repleta group of the genus *Drosophila*:III. The mercatorum subgroup. *Univ. Texas Publ.* 6205:63-72.
- Wasserman, M. 1962b. Cytological studies of the repleta group of the genus *Drosophila*:IV. The hydey subgroup. *Univ. Texas Publ.* 6205:73-84.
- Wasserman, M. 1962c. Cytological studies of the repleta group of the genus *Drosophila*:V. The mulleri subgroup. *Univ. Texas Publ.* 6205:85-118.
- Wasserman, M. 1962d. Cytological studies of the repleta group of the genus *Drosophila*:VI. The fasciola subgroup. *Univ. Texas Publ.* 6205:119-134.
- Wasserman, M. 1963. Cytology and phylogeny of *Drosophila*. *Amer. Natur.* 97: 333-
- Wasserman, M. 1982a. Cytological evolution in the *Drosophila repleta* species group. En: "Ecological, Genetics and Evolution". Barker, J.S.F.; Starmer, W.T. (eds.) pág: 19-64. Academic Press. Australia

- Wasserman, M. 1982b. Evolution of the repleta group. En: "Genetics and Biology of the *Drosophila*". Ashburner, M.; Carson, H.L.; Thompson, J.N.Jr. (eds.) Vol 3b pág: 61-139. Academic Press.
- Wasserman, M. 1992. Cytological evolution of the *Drosophila repleta* species group. En: "*Drosophila* inversion polymorphism". Krimbas, C.B.; Powell, J.R. (eds.). Capitulo 9. CRC Press.
- Wharton, L.H. 1942. Analysis of the repleta group of *Drosophila*. Univ. Texas Publ. 4228:23-52.
- Williams, G.C. 1957. Pleiotropy, natural selection, and the evolution of senescence. *Evolution* 11: 398-411.
- Wright, S. 1931. Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 1: 97-159.
- Wright, S. 1977. Evolution and the genetics of populations: Experimental results and evolutionary deductions. Vol. 3 University of Chicago Press. Chicago.
- Yoon, J.S. 1989. Chromosomal evolution and speciation in Hawaiian. En: "Genetics, Speciation and the Founder Principle". Gidding, L.V.; Kaneshiro, K.Y.; Anderson, W.W. (eds.) pag 129-147. Oxford University Press. New York.
- Zouros, E. 1982. On the role of chromosomal inversions in speciation. *Evolution* 36: 414-416.