

Tesis de Posgrado

Selección sexual relacionada con el tamaño corporal, parámetros genético-cuantitativos multivariados, y divergencia morfométrica multivariada entre poblaciones de dos especies cactófilas del género *Drosophila*

Norry, Fabián Marcelo

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:

Norry, Fabián Marcelo. (1995). Selección sexual relacionada con el tamaño corporal, parámetros genético-cuantitativos multivariados, y divergencia morfométrica multivariada entre poblaciones de dos especies cactófilas del género *Drosophila*. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2782_Norry.pdf

Cita tipo Chicago:

Norry, Fabián Marcelo. "Selección sexual relacionada con el tamaño corporal, parámetros genético-cuantitativos multivariados, y divergencia morfométrica multivariada entre poblaciones de dos especies cactófilas del género *Drosophila*". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1995. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2782_Norry.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

TESIS DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

TEMA:

SELECCION SEXUAL RELACIONADA CON EL TAMAÑO CORPORAL,
PARAMETROS GENÉTICO-CUANTITATIVOS MULTIVARIADOS,
Y DIVERGENCIA MORFOMÉTRICA MULTIVARIADA ENTRE
POBLACIONES DE DOS ESPECIES CACTÓFILAS DEL GÉNERO
Drosophila

por

FABIAN MARCELO NORRY

DIRECTOR DE TESIS: PROF. JUAN CESAR VILARDI

LUGAR DE TRABAJO:
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
1428 BUENOS AIRES
ARGENTINA

Nº 7824

52

A mi familia

CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS	
RESUMEN.....	1
I. INTRODUCCION.....	4
LINEAMIENTOS GENERALES.....	5
I-a. LA SELECCION NATURAL.....	7
I-a1. Conceptos y Definiciones.....	7
I-a2. Componentes de la Aptitud.....	10
I-a3. La Aproximación Fenotípica en el Análisis del Proceso Selectivo.....	12
I-a4. La Respuesta a la Selección Direccional Sobre Caracteres Poligénicos.....	14
I-a5. Visualizando la Fuerza y la Forma de la Selección Sobre Caracteres Correlacionados.....	20
I-b. OBJETIVOS DEL TRABAJO.....	26
I-b1. Caracterización de la Selección Sexual Relacionada con el Tamaño Corporal (SSRT) en <i>Drosophila buzzatii</i>	26
I-b2. Estimación de la Heredabilidad de Caracteres Morfo- métricos en Moscas Derivadas de Dos Poblaciones Naturales de <i>Drosophila buzzatii</i>	29
I-b3. Estimación y Comparación de Matrices de Corre- laciones Genéticas y Fenotípicas y Matrices de Varianzas y Covarianzas Genéticas Asociadas a Caracteres Morfométricos.....	30

I-b4. Evaluación de la Estructura de Correlaciones Genéticas y Fenotípicas con Respecto al Modelo del Desarrollo en Discos Imaginales.....	33
I-b5. Estudio de la Variación en el Tamaño y la Forma Corporal, y Reconstrucción de las Fuerzas Selectivas Responsables de la Divergencia Morfométrica Observada entre Poblaciones de <i>Drosophila buzzatii</i> y <i>D. koepferae</i>	36
I-c. GENERALIDADES SOBRE EL GENERO <i>Drosophila</i>	40
I-d. Las especies <i>Drosophila buzzatii</i> y <i>D. koepferae</i>	42
II. MATERIAL Y METODOS.....	44
II-a. POBLACIONES MUESTREADAS.....	45
II-b. MEDIOS DE CULTIVOS Y DE OVIPUESTA UTILIZADOS EN LOS DIFERENTES EXPERIMENTOS.....	46
II-c. CARACTERIZACION DE SELECCION SEXUAL RELACIONADA CON EL TAMANO CORPORAL (SSRT) EN <i>Drosophila buzzatii</i>	47
II-c1. Diseño Experimental.....	47
II-c2. Análisis de Datos.....	51
II-d. ESTIMACION DE PARAMETROS GENETICOS (HEREDABILIDADES Y CORRELACIONES GENETICAS).....	58
II-d1. Procedimientos experimentales.....	58
II-d2. Análisis de datos.....	61
II-e. MOSCAS DE <i>Drosophila buzzatii</i> y <i>D. koepferae</i> DERIVADAS DE LA POBLACION NATURAL DE QUILMES.....	63
II-f. COMPARACION DE MATRICES DE VARIANZAS Y COVARIANZAS GENETICAS, DE CORRELACIONES GENETICAS Y DE CORRELACIONES FENOTIPICAS ESTIMADAS.....	65

II-g. PRUEBAS DE HIPOTESIS ACERCA DE LA ESTRUCTURA DE CORRELACIONES FENOTIPICAS Y GENETICAS.....	68
II-h. ANALISIS DE LA VARIACION EN EL TAMANO Y LA FORMA CORPORAL Y RECONSTRUCCION DE LAS FUERZAS SELECTIVAS RESPONSABLES DE LA DIVERGENCIA MORFO- METRICA OBSERVADA.....	70
III. RESULTADOS.....	75
III-a. CARACTERIZACION DE SELECCION SEXUAL RELACIONADA CON EL TAMANO CORPORAL EN <i>Drosophila buzzatii</i>	76
III-b. HEREDABILIDADES DE CARACTERES MORFOMETRICOS EN MOSCAS DERIVADAS DE DOS POBLACIONES NATURALES DE <i>Drosophila buzzatii</i>	85
III-c. MATRICES DE CORRELACIONES GENETICAS Y FENOTI- PICAS Y MATRICES DE VARIANZAS Y COVARIANZAS GENETI- CAS DE CARACTERES MORFOMETRICOS.....	92
III-d. ANALISIS DE LA ESTRUCTURA DE MATRICES DE CORRELACIONES GENETICAS Y FENOTIPICAS.....	104
III-e. VARIACION EN EL TAMANO Y LA FORMA CORPORAL, Y RECONSTRUCCION DE LAS FUERZAS SELECTIVAS RESPONSA- BLES DE LA DIVERGENCIA MORFOMETRICA OBSERVADA EN- TRE LAS POBLACIONES Y ESPECIES EXAMINADAS.....	112
FIGURAS.....	127
IV. DISCUSION.....	142
IV-a. SELECCION SEXUAL RELACIONADA CON EL TAMANO CORPORAL (SSRT) EN <i>Drosophila buzzatii</i>	143
IV-b. LA HEREDABILIDAD DE CARACTERES MORFOMETRICOS.....	153

IV-c. COMPARACION ENTRE CORRELACIONES GENETICAS Y FENOTIPICAS, Y MATRICES DE VARIANZAS Y COVARIANZAS GENETICAS.....	161
IV-c1. Similitud de Matrices de Correlaciones Genéticas y de Varianzas y Covarianzas Genéticas.....	161
IV-c2. Similitud entre la Matriz de Correlaciones Genéticas y la Matriz de Correlaciones Fenotípicas.....	166
IV-c3. Comparación Intersexual de las Matrices de Correlaciones Fenotípicas.....	172
IV-c4. Comparaciones Interpoblacionales e Interespecíficas de las Matrices de Correlaciones Fenotípicas.....	173
IV-d. LA ESTRUCTURA DE LAS MATRICES DE CORRELACIONES GENETICAS Y FENOTIPICAS EN RELACION AL SISTEMADEL DESARROLLO EN DISCOS IMAGINALES.....	175
IV-e. DIVERGENCIA EN EL TAMANO Y LA FORMA CORPORAL, Y RECONSTRUCCION DE LAS FUERZAS SELECTIVAS RESPONSABLES DE LA DIVERGENCIA MORFOMETRICA.....	184
IV-e1. Divergencia Morfométrica.....	184
IV-e2. Reconstrucción de las Fuerzas Selectivas Responsables de la Divergencia Morfométrica.....	190
V. REFERENCIAS.....	198

RESUMEN

Los recientes avances conceptuales dentro del campo de la genética cuantitativa, han brindado las herramientas teóricas necesarias para caracterizar la evolución del fenotipo medio en poblaciones naturales. La teoría predice que la micro-evolución adaptativa del fenotipo depende de la forma de selección natural operando sobre los caracteres adaptativos, y particularmente de las varianzas y covarianzas genéticas y fenotípicas entre tales caracteres. Por ello, los estudios empíricos sobre estos factores son cruciales para reconstruir las fuerzas selectivas responsables de la excursión evolutiva del fenotipo, y requieren de (i) una caracterización multivariada de la selección natural y (ii) la evaluación de la estructura y estabilidad de las varianzas y covarianzas genéticas entre series de caracteres fenotípicos.

En el trabajo presente se investigó la forma de selección sexual operando sobre caracteres morfométricos correlacionados, las heredabilidades y las correlaciones y covarianzas genéticas y fenotípicas entre caracteres morfométricos de la cabeza, el tórax y las alas en *Drosophila buzzatii*. Asimismo, se investigó si la estructura de las correlaciones genéticas y fenotípicas refleja la homología del desarrollo en discos imaginales, y se examinó la diferenciación morfométrica multivariada entre *D. buzzatii* y *D. koepferae*, en simpatria y en alopatria.

Los resultados de diferentes análisis de selección indicaron que la superficie de selección para la aptitud copulatoria relacionada con el tamaño corporal, es básicamente una función creciente y monótona del ancho de la cara y la cabeza del macho de *D. buzzatii*. La selección sexual sobre estos caracteres da lugar a selección indirecta sobre el tamaño general del cuerpo, que es una variable fenotípica neutra con respecto al éxito copulatorio. Tal selección parece estar asociada a la transferencia de levaduras vivas desde los machos a las hembras durante el cortejo en esta especie. Aunque dicha asociación no implica que sea la causa de la selección sexual detectada, sus efectos podrían ser importantes si, como sugieren estudios previos, las

levaduras transferidas durante el cortejo incrementan la fecundidad y/o la sobrevivencia de la progenie.

Todos los caracteres examinados (longitud del tórax, ala y ojo, ancho del ala, escutelo, cabeza y cara) exhibieron valores de heredabilidades significativos en el laboratorio. Tanto las heredabilidades como las correlaciones y covarianzas genéticas de caracteres del tórax y las alas son muy similares entre dos poblaciones examinadas de *D. buzzatii*. Este resultado sugiere que el supuesto de estabilidad en la estructura de covarianzas genéticas, que es crucial para los estudios genético-cuantitativos de evolución fenotípica, puede ser razonable al menos para el trabajo presente.

Las heredabilidades son más parecidas entre los caracteres que derivan de un mismo disco imaginal, que entre los que derivan de diferentes discos. Asimismo, las correlaciones genéticas y fenotípicas son mayores entre los caracteres derivados de un mismo disco imaginal, que entre los que derivan de diferentes discos, implicando que la estructura de correlaciones podría reflejar la homología del desarrollo en discos imaginales. Esto puede tener importantes efectos sobre la micro-evolución morfométrica, permitiendo un mayor grado de independencia evolutiva entre caracteres de diferentes partes corporales que entre caracteres derivados de un mismo disco imaginal.

Todas las correlaciones genéticas y fenotípicas estimadas son de signo positivo, y las correlaciones genéticas entre algunos caracteres de la cabeza y el tamaño de las alas son cercanas a cero. La estructura de correlaciones genéticas en *D. buzzatii* es similar a la de correlaciones fenotípicas de la misma especie y de *D. koepferae*. Esto sugiere que las correlaciones fenotípicas generalmente pueden ser buenas estimas de sus contrapartes genéticas. Además, las matrices de correlaciones fenotípicas son similares a través de las poblaciones/especies examinadas. Esta similitud podría reflejar similitud en la estructura de correlaciones genéticas, lo cual es crucial para validar la aplicación de los modelos genético-cuantitativos al estudio evolutivo.

Las poblaciones examinadas de *D. buzzatii* y *D. koepferae* se diferencian en el tamaño y la forma corporal. La longitud del ojo evolucionó en la dirección opuesta a la del resto de los caracteres examinados. El modelo de divergencia observado es difícil de explicar por procesos estocásticos, porque la diferenciación morfométrica entre *D. buzzatii* y *D. koepferae* es sustancialmente mayor en alopatria que

en simpatria. Las diferencias morfométricas observadas se interpretan mejor como adaptaciones locales, puesto que la diferenciación entre ambas especies es sustancialmente mayor entre localidades de condiciones climáticas muy diferentes, que dentro de una misma localidad. Con respecto a la forma corporal, los caracteres de la cabeza evolucionaron en la dirección opuesta a los de las alas y la divergencia en la forma corporal se debe a los tamaños relativos de las alas y la cabeza. Un análisis de gradientes de selección indicó que la selección divergente actuó principalmente sobre el tamaño del ala, la longitud del ojo, y el ancho de la cabeza. La selección direccional sobre estos caracteres habría sido la principal responsable de la diferenciación morfométrica entre las poblaciones/especies examinadas. De este modo, el tamaño corporal se habría diferenciado sólo a través de sus correlaciones con estos caracteres. Los posibles mecanismos de tal selección se discuten con respecto a adaptaciones para la regulación de la temperatura corporal el y el vuelo (tamaño del ala y longitud del ojo), y selección sexual (ancho de la cabeza). La selección direccional sobre la longitud del ojo habría actuado en la dirección opuesta a la del tamaño de las alas. Dado este modelo de selección y el hecho de que el tamaño de las alas está correlacionado positivamente con la longitud del ojo, las correlaciones genéticas habrían constreñido la tasa de arribo a un nuevo pico adaptativo, retardando el proceso de diferenciación morfométrica.

Una conclusión general, es que el tamaño corporal de estos insectos parece evolucionar principalmente como una respuesta correlacionada, indirecta, a la selección sobre el tamaño de partes corporales funcionalmente importantes. Las correlaciones genéticas positivas entre los tamaños de diferentes partes corporales, pueden constreñir la diferenciación evolutiva de la forma corporal básica de *Drosophila*. La importancia micro-evolutiva de las correlaciones genéticas y fenotípicas se ilustra a lo largo del trabajo.

Palabras Claves: selección sexual relacionada con el tamaño, tamaño y forma corporal, superficie de selección sexual, evolución morfométrica, correlaciones genéticas y fenotípicas, constreñimientos, discos imaginales, gradientes de selección divergente, diferenciación, *Drosophila*.

INTRODUCCION

"The role of the mathematical theory is that of an intermediary between bodies of factual knowledge discovered at two levels, that of the individual and that of the population. It must deduce from the postulates at the level of the individual and from models of population what is to be expected in populations, and then modify its postulates and models on the basis of any discrepancies with observations and so on.... Evolution is something that happens to population, and without a mathematical theory, connecting the phenomena in populations with those in individuals, there could be no very clear thinking on the subject" — Sewall Wright, 1960.

LINKAMIENTOS GENERALES

Los cambios fenotípicos ocurridos en poblaciones naturales y especies biológicas pueden ser el resultado de selección natural y/o deriva genética. Mientras que la mayoría de los biólogos acuerdan en que tales cambios no pueden ocurrir sin selección natural, hay una contradicción aparente entre dos observaciones frecuentes: (a) la fuerte intensidad de selección direccional asociada a caracteres fenotípicos en muchos organismos, y (b) la baja tasa de evolución fenotípica sobre períodos considerables de tiempo. Esta discrepancia es evidente para caracteres morfológicos. En efecto, las intensidades de selección direccional estimadas para caracteres morfológicos en poblaciones naturales suelen ser lo suficientemente altas como para esperar tasas de evolución muy superiores a las observadas (*e.g.*, Endler, 1986; Price y Boag, 1987; van Tienderen, 1994). Asimismo, a partir del análisis macro-evolutivo es aparente que las tasas de evolución morfológica frecuentemente han sido tan lentas como para ser explicadas por deriva genética (*e.g.*, Eldredge y Gould, 1972; Wake y col., 1983; Björklund, 1991a,b, 1994; Lynch, 1990; Brooks y McLennan, 1991; Harvey y Pagel, 1991). Varias explicaciones posibles para esta discrepancia han sido propuestas, incluyendo presiones de selección estabilizadora y fluctuante (*e.g.* Lynch, 1990), y también diferentes formas de constreñimientos evolutivos (ver Mainard-Smith y col., 1985; Arnold, 1992).

Debido a que la evolución fenotípica es un proceso que ocurre en las poblaciones naturales, es difícil abordar su estudio sin conexión con la teoría de la genética de poblaciones. Es de interés particular encontrar propiedades de procesos micro-evolutivos que podrían ayudar a explicar modelos observados de variación fenotípica entre poblaciones y especies biológicas. Entre diferentes

aproximaciones recientes al problema de la evolución fenotípica, el progreso conceptual más tangible emergió del campo de la genética cuantitativa: el estudio de la herencia de caracteres afectados por muchos loci. Muchos trabajos teóricos en la última década y media han concentrado su interés en corregir modelos de la teoría genética cuantitativa para adaptarlos al estudio de la micro-evolución fenotípica. Así, la ecuación matricial de la respuesta a la selección direccional sobre caracteres cuantitativos correlacionados, popularizada por el trabajo seminal de Lande (1979), ha sido adaptada para predecir la respuesta a fuerzas reales o hipotéticas de selección natural, caracterizar constreñimientos evolutivos, y reconstruir las fuerzas selectivas responsables de la divergencia entre unidades taxonómicas vivientes (revisado en Lande, 1988; Arnold, 1992). Implícita en este entramado teórico subyace una caracterización multivariada del proceso selectivo (Thompson, 1977; Lande, 1979; Lande y Arnold, 1983). Paralelamente, dentro del mismo intervalo, la genética cuantitativa también brindó métodos estadísticos para poner a prueba la hipótesis nula de que la divergencia observada entre dos o más taxa es equivalente a la esperada si la mutación y la deriva genética fueran las únicas causas de la evolución (Lande, 1976; Charlesworth, 1984; Turelli y col., 1988; Lynch, 1990). El presente trabajo ha sido motivado por tales recientes progresos teóricos en la disciplina de la genética cuantitativa.

Mientras que la observación de caracteres morfométricos sujetos a fuertes presiones de selección direccional ha sido un descubrimiento común en poblaciones naturales de *Drosophila* (e.g., Partridge, y col., 1987; Taylor y Kekic, 1988; Santos y col., 1988, 1992; Hasson y col., 1993; Aspi y Hoikkala, 1995), una característica motable entre muchas especies de *Drosophila* es la gran similitud morfológica (Mather y Dobzhansky, 1939; Reed y Reed, 1948; Burla y col., 1949; Rizki, 1951; Townsend, 1954; Spassky, 1957; Spicer, 1993). Dada esta aparente discrepancia entre la existencia de altas intensidades de selección

direccional y bajas tasas evolutivas en la morfología de *Drosophila*, es de interés caracterizar algunos de los procesos selectivos, y las propiedades de la variabilidad genética y fenotípica que estarían involucradas en la micro-evolución morfológica de especies de este género. Con tal intención, y poniendo atención cuidadosa sobre los más recientes progresos conceptuales en el campo de la genética cuantitativa, el presente estudio fue conducido para caracterizar algunos aspectos relevantes para la micro-evolución morfológica de dos especies sinmórficas y cactófilas del género *Drosophila*, *D. buzzatii* y *D. koepferae*. En la sección "1-a" de la introducción del trabajo, se presenta una conceptualización de la teoría de la selección natural, con el fin de precisar los conceptos y la terminología requeridos para caracterizar los objetivos específicos de la tesis, detallados en la sección "I-b."

I-a. LA SELECCION NATURAL

I-a1. Conceptos y Definiciones

En forma independiente, C. Darwin y A. Russel Wallace, llegaron a la idea de la selección natural como proceso fundamental del cambio evolutivo. Ambos autores presentaron esta idea en la "Linnean Society" de Londres en 1858, la cual fue en cierto grado inadvertida (el informe anual de la sociedad decía "nada de importancia ocurrió en 1858"). Dicha indiferencia se disipó al año siguiente cuando Darwin publicó su obra "Sobre el Origen de la Especies" (Darwin, 1859). Aquí Darwin enunció el principio de la selección natural de la siguiente manera: "...a esta conservación de las diferencias y variaciones

individuales favorables y a la destrucción de las perjudiciales, la he llamado Selección Natural o supervivencia del más apto."

Debido a que la herencia biológica no fue bien comprendida por Darwin, este ha sido el punto más débil de su paradigma de la evolución biológica. Sin embargo, pocos años más tarde de la publicación de "El origen de las especies," Gregorio Mendel elaboró los principios fundamentales de la herencia, hecho este que fue desconocido por Darwin. En 1866, Mendel publicó sus resultados en las Actas de la Sociedad de Historia Natural de Brunn, una revista local de escasa circulación en la comunidad científica de esa época. Los descubrimientos de Mendel permanecieron prácticamente desconocidos hasta 1900, cuando tres botánicos trabajando en forma independiente (Hugo de Vries, en Holanda; Carl Correns, en Alemania; Eric van Tschermack, en Austria) redescubrieron las leyes de la herencia propuestas por Mendel en 1866. Posteriormente, los avances conceptuales de la teoría genética en la segunda década de este siglo, entre los que se encuentran la teoría cromosómica de la herencia, facilitaron la incorporación de la genética mendeliana al seleccionismo. Particularmente en la década del 30, tuvo lugar la fusión, frecuentemente llamada Neodarwinismo, de la genética mendeliana y la teoría de la selección natural a través de los análisis teóricos por G. Yule, H. Weinberg, R. Fisher, S. Wright y B. Haldane (revisado por Wright, 1968; Provine, 1986), donde el concepto de selección natural fue cuantificado a través del parámetro llamado aptitud (*fitness* entre los autores angloparlantes). A individuos de diferentes genotipos (g_1, g_2, g_3, g_4) les fueron asignadas diferentes aptitudes relativas (w_1, w_2, w_3, w_4), las cuales corresponden a los números relativos de prole reproductiva producida por los individuos de cada genotipo. De este modo, las frecuencias (f_1, f_2, f_3, f_4) de los individuos con diferentes genotipos están determinadas por sus aptitudes relativas, y la aptitud media de una población puede calcularse como $W = \sum f_i w_i$. Desde entonces el proceso de selección

natural pudo entenderse como la reproducción diferencial de variantes genéticas alternativas. Los individuos que poseen variantes genéticas útiles para sus portadores, como son las adaptaciones al ambiente, es probable que dejen más progenie que aquéllos con variantes genéticas alternativas, menos adaptativas. Tal relación direccional entre la selección natural y la adaptación está expresada por el Teorema Fundamental de la Selección Natural (Fisher, 1930): "*la tasa de aumento en la aptitud de una población en cualquier tiempo es igual a su varianza genética en la aptitud en dicho momento.*" En contraste, la mutación, la migración y la deriva genética, son procesos al azar respecto de la adaptación, y las variantes genéticas aumentan o disminuyen de frecuencia por estos procesos, independientemente de si son útiles como adaptaciones a sus portadores.

Contemporáneamente, la universalidad de epistásis en procesos del desarrollo embrionario condujo a S. Wright a ver a los genotipos como *sistemas de interacción*, en los cuales los efectos de las variantes genéticas sobre la aptitud dependen de la acción combinada de alelos en diferentes loci (*e.g.*, ver Wright, 1968). Para extender este concepto al Teorema Fundamental de la Selección Natural, Wright (1932) visualizó dicho sistema de interacción como un paisaje multidimensional de cimas y valles, cuya altura en cualquier punto indicaría la aptitud de los genotipos correspondientes a ese punto. Pueden haber múltiples cimas, algunas más altas que otras, debido a que los loci polimórficos pueden estar interactuando epistáticamente en sus influencias sobre la aptitud. En sus últimas discusiones, él se refirió a una superficie relacionada, el "paisaje adaptativo" (o superficie de selección), para describir la aptitud media (W) de una población en función de frecuencias génicas (ver Provine, 1986). En esta metáfora tan popular para el cambio evolutivo, las cimas representan posibles composiciones genéticas (*i.e.*, combinaciones de frecuencias alélicas en diferentes loci) para las cuales W es alta, y los valles representan posibles composiciones para las cuales W es

baja. Bajo este esquema, las frecuencias alélicas de un sistema genético seleccionado cambiarían desde un estado inicial (*e.g.*, un valle) hasta alcanzar una cima. Debido a que la selección sólo puede incrementar W , no es posible que el proceso de selección natural *per se* lleve a la población desde una cima a otra de mayor altura, porque esto requiere pasar por un valle (*i.e.*, disminuir W). Si el ambiente cambiara el paisaje adaptativo podría cambiar, y de este modo la población podría alcanzar una cima nueva (generalmente adyacente a la anterior).

Se notará que Wright usó un paisaje en el cual la dimensión vertical es la aptitud media de la población y las dimensiones horizontales son también atributos de la población (frecuencias génicas). G. G. Simpson sugirió que esta idea podría aplicarse a caracteres fenotípicos (Simpson, 1953), y como se verá en la sección I-a5 ha sido extendida a caracteres (fenotipos) de variación continual (Lande, 1979; Lande y Arnold, 1983; Schluter, 1988; Phillips y Arnold, 1989; Schluter y Nychka, 1994).

I-a2. Componentes de la Aptitud

En la sección anterior, la aptitud ha sido referida como una medida relativa del éxito reproductivo en el ciclo de vida completo. Aquí, la aptitud referida en estos términos será brevemente denotada como ERCVC. ERCVC comprende diferentes componentes bien definidos (Prout, 1969), los cuales resultan en episodios de selección que pueden ser estudiados por separado. Hay tres componentes principales de ERCVC, los cuales pueden definirse como:

- Viabilidad: supervivencia diferencial desde el estadio de huevo hasta el de adulto prerreproductivo.
- Éxito de apareamiento: aptitud diferencial para el apareamiento.

-Fecundidad: contribución diferencial al acervo genético de la población debida a diferencias en la cantidad de huevos o cigotos producidos.

Dependiendo de la biología de la especie, los componentes de viabilidad y éxito de apareamiento pueden dividirse en varios subcomponentes, cada uno representando posibles eventos de selección. La acción combinada de todos los componentes del ERCVC sobre un sistema genético dado, resulta en el efecto neto que la selección natural ejerce sobre aquel sistema de una generación a la siguiente.

Aunque el ERCVC puede ser considerado como una variable muy útil para estudios evolutivos, la aproximación de estimar exclusivamente este parámetro es completamente inadecuada si la meta es averiguar la causa de selección. Eventualmente, la aptitud puede dividirse en todos sus componentes, para los cuales la causalidad del proceso selectivo puede ser completamente diferente. Consecuentemente, las causas de selección natural deben investigarse separadamente para cada componente.

Además, una medida del ERCVC solamente, no es suficiente para detectar todas las posibles formas de selección que influyen a un polimorfismo. Específicamente, en la presencia de genes que exhiben efectos ventajosos para algunos componentes del ERCVC y desventajosos para otros, puede ocurrir una situación de equilibrio en la cual los diferentes genotipos involucrados presenten valores estadísticamente similares del ERCVC. Aunque no está clara la frecuencia en que este modo de selección, conocida como pleiotropía antagonística entre componentes de la aptitud, puede conducir a tal situación de equilibrio, su presencia no puede detectarse con una medida del ERCVC solamente (esto requiere estimar separadamente cada componente del ERCVC).

I-a3. La Aproximación Fenotípica en el Análisis del Proceso Selectivo

Entender la presencia, forma, y causas de variación genética y fenotípica requiere comprender porqué y cómo la selección natural ocurre en las poblaciones naturales. Contrastando con una vasta literatura que documenta evidencia indirecta de selección natural modelando la variación observada en poblaciones naturales de muchos organismos (revisado en Endler, 1986), hay muy pocos casos en los cuales se conocen las causas, los mecanismos y los agentes de la selección natural. Por reconocer que los fenotipos, en lugar de los genotipos, son los blancos primarios de la selección natural, cambiando la distribución de caracteres fenotípicos dentro de generaciones, es posible la distinción lógica y operacional entre selección fenotípica y respuesta heredada a esa selección (*i.e.*, el significado ecológico del fenotipo *versus* su transmisión a las generaciones siguientes). Tal distinción es el primer paso a tener en cuenta para hacer una caracterización adecuada de la selección natural.

En este contexto surge la necesidad de definir a la aptitud en términos del fenotipo (en lugar del genotipo, como en la sección I-a1). En términos fenotípicos, la aptitud referida al ERCVC puede expresarse como el éxito reproductivo medio de todos los individuos que tienen un mismo fenotipo z (Schluter, 1988). Esta misma definición puede ser aplicada a, y referida a, cualquier componente particular de la aptitud (*e.g.*, Schluter, 1988, 1986). Entonces, la aptitud absoluta de un individuo, W , se define como la aptitud esperada para su fenotipo z , $W(z)$, más una desviación individual cuyo valor medio para todos los individuos con fenotipo z es cero. La aptitud absoluta media de la población será

$$\bar{W} = \int W(z) p(z)$$

donde la integración se extiende sobre todos los fenotipos en la población (Lande y Arnold, 1983). La aptitud relativa de cada individuo (w) se define con respecto a la aptitud media en la población: $w = W(z) / \bar{W}$, tal que la aptitud relativa esperada para los individuos con fenotipo z es:

$$w(z) = W(z) / \bar{W}; \quad \text{y} \quad \bar{w} = 1$$

Por extensión a esta definición, la aptitud de un fenotipo puede verse como una contribución demográfica relativa (Endler, 1986), y la selección natural puede visualizarse como un proceso en el cual, si una población tiene:

- a) variación en algún carácter
- b) una relación consistente entre dicho carácter y la aptitud de apareamiento, fecundidad y/o supervivencia -(variación en $w(z)$)
- c) una relación consistente, para dicho carácter, entre los progenitores y sus descendientes (heredabilidad)

Entonces:

- 1) La distribución del carácter será diferente entre distintas clases de edades o distintos estadios del ciclo de vida, más allá de lo esperado a partir de la ontogenia.
- 11) Si la población no está en equilibrio (para ese carácter), entonces la distribución del carácter en la descendencia será predeciblemente diferente de la distribución en los progenitores más allá de lo esperado a partir de las condiciones (a) y (c) únicamente.

Esta idea sugiere que la selección natural puede ser caracterizada adecuadamente si se combinan medidas de selección sobre caracteres fenotípicos con estimas de parámetros genéticos para los caracteres seleccionados. Por ejemplo, estudios en poblaciones naturales pueden medir las fuerzas selectivas sobre caracteres particulares, y si la población no estuviera en equilibrio y el carácter exhibiera variación genética heredable, la población mostrará una respuesta en la dirección predicha hasta arribar a una cima del paisaje adaptativo. Bajo esta aproximación, cualquier intento de medir selección natural debe confrontar explícitamente la pregunta de qué es un carácter. En el presente trabajo, el término carácter se referirá a una variable fenotípica medible (ver Crespi, 1990). En la sección siguiente se mostrará que para la mayoría de los caracteres la situación real es más compleja de lo que parece sugerir esta sección, y se presentará la teoría formal que sustenta a la aproximación fenotípica en el análisis del proceso selectivo.

1-a4. La Respuesta a la Selección Direccional Sobre Caracteres Poligénicos

Muchos caracteres morfológicos, comportamentales y fisiológicos presentan variación continua, es decir que para tales caracteres los individuos difieren en pequeños incrementos dentro de un rango de variación con gradación cuasi-continua. En poblaciones naturales, esta clase de variación observada para un carácter suele ser en gran parte causada por el ambiente y en parte por diferencias genéticas (variantes alélicas) en varios o muchos loci que afectan al carácter. En añadidura, un carácter que está influenciado por muchos loci tiene herencia poligénica, y virtualmente casi cualquier carácter exhibe algún grado de variación poligénica. Antes de hacer una introducción a la teoría de selección sobre caracteres poligénicos, es necesario

definir algunos parámetros usados en genética cuantitativa para describir las causas de variación en tales caracteres.

En genética cuantitativa, toda variación medible es primariamente cuantificada en términos de medias, varianzas y covarianzas. Por ejemplo, la variación total observada para un carácter, se expresa como la varianza fenotípica (VP), la cual resulta de la varianza genética (VG) y la varianza ambiental (VE) del carácter:

$$VP = VG + VE$$

Para un carácter poligénico dado, VG es la fracción de la varianza fenotípica atribuible a la acción combinada de genes que afectan a la distribución (*e.g.*, media y varianza) del carácter en la población. Además, el efecto genotípico que los genes ejercen sobre el fenotipo puede variar de locus en locus, pudiendo distinguirse tres componentes principales de VG, llamados abreviadamente VA, VD y VI.

VA es la varianza genética aditiva y representa la fracción de VG que es atribuible a efectos aditivos de alelos dentro y entre loci. VD es la fracción de VG debida a desviaciones de dominancia en uno o más locus. Finalmente, si los loci interactúan epistáticamente en sus influencias sobre el fenotipo, la varianza genética incluye otro componente que es la varianza debida a la interacción epistática entre genes (VI) (ver Falconer, 1989, para una descripción detallada de los componentes de VG).

Cuando un carácter esta sujeto a selección natural o artificial, como resultado de tal selección, de los tres componentes de VG, sólo VA será el responsable de cambios genéticos en la distribución del carácter en la población. Esto es así porque VA es el único componente de VG que determina la cantidad en la cual los fenotipos serán afectados por los genes transmitidos desde una generación a la siguiente. De este modo, sólo los términos aditivos de

VG intervienen en las ecuaciones formales que modelan la respuesta a la selección, natural o artificial.

En su forma más temprana, la respuesta (R) predicha a una generación de selección direccional sobre un carácter dado, fue modelada por la siguiente expresión:

$$R = (VA / VP) s \quad (1)$$

donde s es el diferencial de selección direccional observado, el cual representa la diferencia en valores medios del carácter después y antes del episodio de selección. Por ejemplo, si los individuos más grandes son más eficientes para aparearse, entonces el diferencial de selección observado para el tamaño corporal ($s = X_A - X_T$) tomará un valor positivo, ya que X_A será el tamaño corporal medio en los individuos -más grandes- que se aparearon y X_T es el tamaño corporal medio para la población total. En realidad, el diferencial s es equivalente a la covarianza entre aptitudes relativas y el carácter (Robertson, 1966; Price, 1970), de modo que s es una medida bivariada de la asociación entre un carácter y la aptitud. Es importante notar que s representa el cambio en el valor medio del carácter dentro de una misma generación, mientras R es el cambio esperado en el valor medio del carácter en la generación siguiente a aquélla en la que los parámetros VA , VP y s fueron estimados.

El término (VA/VP) de la expresión (1) es conocido como la heredabilidad en sentido estricto (h^2) del carácter, su valor oscila entre 0 y 1, y representa la fracción heredable de la variación total del carácter en la población.

La ecuación (1) fue establecida en la década del 30, y es - algunas veces- llamada la ecuación del criador o mejorador (breeder's equation, entre los autores angloparlantes), porque su uso principal ha sido para predecir cuanta mejora ha de esperarse para un atributo cuando la selección artificial es practicada sobre aquel atributo o

carácter. La concepción de la ecuación del criador ha conducido a una visualización inadecuada del proceso selectivo, por considerar a la selección como si esta actuara sobre caracteres únicos, en forma aislada. Sin embargo, el proceso de selección sobre un carácter poligénico ha de ser notablemente más complejo de lo que parece indicar la ecuación del criador. La complicación adicional resulta del hecho que los caracteres poligénicos con frecuencia covarian genéticamente -es decir, ellos suelen estar genéticamente asociados uno con el otro. Específicamente, la asociación entre un carácter en progenitores y otro carácter en la progenie puede adscribirse a la covarianza genética aditiva entre esos caracteres. En consecuencia, cuando la selección se aplica sobre un carácter que presenta variación heredable, aquel carácter responderá a la selección, pero muchos otros caracteres también, dependiendo de sus covarianzas (o correlaciones) genéticas aditivas con el carácter sobre el cual la selección ha sido directamente aplicada. Estas repuestas correlacionadas pueden ser perjudiciales y por eso deben también tenerse en cuenta en cualquier programa de mejoramiento. La ineficacia de la ecuación (1) para aplicaciones prácticas fue notada muy tempranamente con observaciones de la siguiente clase: "...cuando las gallinas de un corral son seleccionadas para incrementar la producción de huevos, la producción tiende a incrementar, pero el tamaño corporal disminuye" (ver Dickerson, 1955).

Las covarianzas -y correlaciones- genéticas entre caracteres resultan de efectos pleiotrópicos de genes (esto es, un mismo gen que afecta a más de un carácter), o bien, de un desequilibrio de ligamiento entre genes que afectan a diferentes caracteres. La ocurrencia casi universal de pleiotropía y ligamiento es la causa de la generalidad observada para correlaciones genéticas entre caracteres.

Otra causa de covariación -y correlación- entre caracteres es de origen ambiental, y ocurre cuando los mismos factores ambientales

influyen en el desarrollo embrionario de caracteres diferentes. En teoría, la suma de las covarianzas genéticas y ambientales entre dos caracteres determina la covarianza fenotípica observada entre ellos. A diferencia de las covarianzas genéticas, la estimación de covarianzas fenotípicas entre pares de caracteres es directa y esta sujeta a menor error experimental.

Teniendo en mente las consideraciones precedentes sobre variación y covariación genética y fenotípica, se puede reconsiderar el problema de predecir la respuesta evolutiva a la selección direccional. A fines del siglo pasado y comienzos del presente, K. Pearson hizo contribuciones fundamentales a la teoría de la selección sobre caracteres correlacionados (revisado por Lande y Arnold, 1983). Sin embargo, él no pudo arribar a un modelo claro para predecir la respuesta a la selección sobre tales caracteres, porque nunca aceptó una base mendeliana para la herencia de la variabilidad cuantitativa (como se mencionó arriba, la ecuación [1] fue recién desarrollada en la década del 30, y es correcta sólo para el caso excepcional de un carácter genéticamente independiente de cualquier otro). Paradójicamente, desde 1936 (Smith, 1936) hasta 1979, el progreso conceptual más relevante para este problema surgió del interés, puramente práctico, para desarrollar programas de selección que den los mejores resultados, por ejemplo: "Para encontrar un índice que dé la mejor respuesta genética agregada a la selección, uno debe conocer las varianzas genéticas y fenotípicas y las covarianzas de los caracteres como así también el valor económico de cada carácter" (Hazel, 1943). Durante este período, con tales objetivos completamente prácticos se establecieron los ingredientes básicos para una caracterización adecuada del proceso selectivo (*e.g.*, Young y Weiler, 1960; Magee, 1965), pero permanecieron inadvertidos por los biólogos evolutivos. La solución general para la teoría evolutiva emergió en 1979, con un trabajo de R. Lande, quien usó las propiedades de la distribución gaussiana multivariada para predecir la respuesta a la

selección natural y trayectorias evolutivas (Lande, 1979). Los ingredientes para tal solución consistieron de una caracterización de constreñimientos genéticos múltiples -esto es, restricciones genéticas impuestas a la evolución- encapsulados en una matriz G, y una caracterización multivariada de la selección -un vector de gradientes de selección direccional (β) (ver sección 1-a5). Explícitamente, el vector (DZ) que contiene el cambio esperado en los valores medios de cada uno de los caracteres luego de una generación de selección direccional (respuesta a la selección direccional), está predicho por el siguiente producto de matrices:

$$DZ = G P^{-1} S \quad (2)$$

donde G es la matriz de varianzas y covarianzas genéticas aditivas, P^{-1} es la inversa de la matriz de varianzas y covarianzas fenotípica (P), y S el vector columna de diferenciales de selección direccional (Lande, 1979, Lande y Arnold, 1983). Cada fila de los vectores DZ y S se refieren a caracteres particulares (notar que el símbolo s se usa para el diferencial de selección direccional sobre un carácter dado, mientras que S es el vector que contiene a dichos diferenciales s). G y P son matrices simétricas, en las cuales cada fila (i) y columna (j) se refieren a caracteres particulares. Cada elemento g_{11} ubicado sobre la diagonal principal de G, es la varianza genética aditiva del carácter i en la población, y todos los otros elementos g_{1j} son las covarianzas genéticas aditivas entre pares (i,j) de caracteres. Similarmente, cada elemento p_{11} ubicado sobre la diagonal principal en la matriz P, es la varianza fenotípica del carácter i en la población, y todos los otros elementos p_{1j} son las covarianzas fenotípicas entre pares de caracteres. La heredabilidad de un carácter será simplemente: $h^2 = g_{11}/p_{11}$. Finalmente, cada elemento s_1 del vector S, es el diferencial de selección observado (llamado s en la ecuación [1]) para cada carácter. La homología entre las

ecuaciones (1) y (2) puede visualizarse fácilmente. En la ecuación (1) la varianza genética aditiva (VA) es multiplicada por la inversa de la varianza fenotípica (VP) y por el diferencial s . En la ecuación (2), los miembros univariados VA y VP^{-1} son reemplazados por sus homólogos multivariados G y P^{-1} , cuyo producto es multiplicado por el vector columna (S) que contiene los diferenciales s para cada carácter. De este modo, la ecuación (2) puede entenderse como una generalización multivariada de la ecuación (1), la cual contempla las respuestas múltiples a la selección direccional sobre caracteres correlacionados.

1-a5. Visualizando la Fuerza y la Forma de la Selección Sobre Caracteres Correlacionados

Bajo el subtítulo anterior se presentaron las ecuaciones formales que predicen la respuesta (esto es, cambios esperados de una generación a la siguiente) a selección direccional actuando sobre caracteres poligénicos. La sección presente extiende aquella previa por brindar una introducción al problema de estimar la intensidad (y forma) en que la selección actúa cambiando la distribución de caracteres dentro de una misma generación. Como se mencionó anteriormente, la existencia de correlaciones fenotípicas entre caracteres es un fenómeno casi universal. Consecuentemente, cualquier intento de estimar las fuerzas selectivas sobre caracteres o atributos particulares debe inevitablemente confrontar el problema de considerar los efectos de tales correlaciones. Por ejemplo, uno puede proceder a utilizar simples estadísticos bivariados, tales como el diferencial de selección s , para estimar la asociación entre la aptitud y un carácter A. Luego, permítase imaginar que otro carácter B está fenotípicamente correlacionado con A. Entonces, la selección direccional actuando solamente sobre B conducirá a cambios correlacionados sobre A, medidos por estadísticos bivariados (e.g., diferencial s), los cual puede dar

la impresión de una relación causal entre el carácter A y la aptitud, incluso aunque A sea un carácter adaptativamente neutro. Para evaluar la relación directa entre la aptitud y cada carácter (A y B), se requiere medir ambos caracteres a A y B, y luego controlar analíticamente los efectos de las correlaciones entre estos caracteres. Tal control analítico es necesariamente una caracterización multivariada del proceso selectivo. Para el caso de selección direccional (es decir, si la relación entre el fenotipo y la aptitud es una función monótonamente creciente o decreciente), entonces tal caracterización multivariada que interviene en ecuaciones dinámicas del cambio evolutivo es un miembro de la ecuación (2) presentada en la sección 1-a4. Explícitamente, el vector columna resultado del producto ($P^{-1} * S$), se denomina gradiente de selección direccional (β), y es el homólogo multivariado del diferencial s en la ecuación (1). De aquí, la ecuación (2) puede escribirse como $DZ = G \beta$. Cada elemento β_i del vector β mide la fuerza directa de la selección actuando sobre cada carácter i , anulando los efectos indirectos debidos a la selección actuando sobre los otros caracteres medidos y fenotípicamente correlacionados con este (Lande y Arnold, 1983). De este modo, para estudios en poblaciones naturales, β será la mejor medida de la fuerza de selección direccional actuando sobre un conjunto de caracteres interrelacionados. En contraste, el diferencial s de la ecuación (1) mide la suma del efecto directo de la selección sobre un carácter particular, más los efectos indirectos debidos a la selección actuando sobre caracteres fenotípicamente correlacionados con aquel atributo o carácter. La ineficacia del diferencial s para estimar la fuerza real de la selección sobre un carácter puede verse cuando en un estudio los diferenciales s se comparan con los β . Por ejemplo, en un estudio el coeficiente β para un carácter dado podría ser significativamente mayor que cero, indicando que la selección verdaderamente actuó para incrementar el valor medio de aquel atributo o carácter, pero el diferencial s para el mismo carácter podría ser

igual a cero, o incluso de signo contrario al del coeficiente β , como consecuencia de cierta selección actuando sobre uno o más caracteres fenotípicamente correlacionados con éste (Lande y Arnold, 1983).

Usando las propiedades de la distribución gaussiana multivariada, Lande y Arnold (1983) mostraron que el procedimiento de estimar β haciendo el producto de matrices, $P^{-1} * S$, es matemáticamente equivalente a calcular los coeficientes de regresión parcial de una regresión múltiple de aptitudes relativas (variable dependiente) sobre los caracteres (variables independientes). De aquí que en la práctica los coeficientes β sean estimados directamente desde un análisis de regresión lineal múltiple.

Tradicionalmente, la selección natural ha sido clasificada en selección direccional, estabilizadora y disruptiva (Endler, 1986 p. 16-21). Como una extensión del concepto de paisaje adaptativo de S. Wright, estas tres clases de selección usualmente se representan por una función de la aptitud definida, respectivamente, por una línea recta, un pico o un valle. De este modo, la selección estabilizadora está definida por la existencia de una aptitud intermedia óptima, mientras que la selección disruptiva está definida por la existencia de una aptitud intermedia mínima, dentro de los valores máximo y mínimo que toma el fenotipo en la población. Mientras que los diferenciales s y β miden selección direccional, Lande y Arnold (1983) definieron gradientes o diferenciales de selección cuadrática, los cuales equivalen a los coeficientes de una regresión cuadrática entre la aptitud relativa (variable dependiente) y los caracteres (variables independientes). Para dar una definición más general de selección estabilizadora y disruptiva, estos autores visualizaron a la selección cuadrática como la curvatura en la relación entre la aptitud y el fenotipo, y establecieron las relaciones formales de estos diferenciales con las ecuaciones determinísticas del cambio evolutivo. Sin embargo, esta conceptualización de Lande y Arnold (1983) a veces entra en conflicto con la clasificación tradicional (para discusión

ver Mitchell-Olds y Shaw, 1987; Phillips y Arnold, 1989), específicamente cuando la función de la aptitud es una curva, no rectilínea, no monótonamente creciente o decreciente (ver Phillips y Arnold, 1989 p 1210). En particular, el concepto tradicional de selección estabilizadora se ha aplicado para describir un equilibrio adaptativo, lo cual implica un pico en la superficie de la aptitud (Wright, 1969, 1977; Lande, 1979). Cuando la función de la aptitud es una curva, no rectilínea, que crece o decrece no monótonamente (e.g., una curva asintótica), el fenotipo medio de la población tenderá a cambiar más allá del valor fenotípico máximo o mínimo en la población. En este caso, bajo la definición tradicional la selección sería puramente direccional, pero bajo la definición de Lande y Arnold (1983) habría una combinación de selección estabilizadora y direccional.

Por razones históricas y para evitar confusión entre selección direccional y estabilizadora, se han retenido las definiciones tradicionales de selección direccional, estabilizadora y disruptiva, aunque ellas sean tan sólo tipológicas y cualitativas (ver Phillips y Arnold, 1989 p. 1211). Ello no implica que los gradientes de selección cuadrática hallan entrado en desuso; en realidad, estos diferenciales son necesarios para describir la dinámica evolutiva del fenotipo bajo presiones de selección estabilizadora o disruptiva (Lande y Arnold, 1983; Phillips y Arnold, 1989).

Dado que los gradientes de selección direccional y cuadrática representan coeficientes de regresiones entre la aptitud (variable dependiente) y los caracteres fenotípicos (variables independientes), ellos equivalen a visualizar a la aptitud como una función del fenotipo. En consecuencia existe una superficie de selección, la cual está definida por la función entre la aptitud y el fenotipo (gradientes de selección), y dicha superficie es una extensión del concepto de paisaje adaptativo formulado por S. Wright (ver I-al). Sin embargo, esta superficie de selección no es un paisaje adaptativo, sino una superficie de la aptitud individual como una función de los

valores de los caracteres fenotípicos individuales (Phillips y Arnold, 1989). En este punto, es conveniente aclarar que en la literatura evolutiva se han utilizado tres conceptos diferentes de superficie de selección: (i) el paisaje adaptativo, (ii) la mejor aproximación cuadrática a la superficie de selección y (iii) la superficie de selección individual (f) (Phillips y Arnold, 1989). El concepto (i) fue discutido en la sección I-a1. El concepto (ii) corresponde al gradiente de selección cuadrática, el cual estima la curvatura de la superficie de selección y es necesario para describir la dinámica evolutiva de fenotipos bajo selección estabilizadora o disruptiva (Lande y Arnold, 1983; Phillips y Arnold, 1989). Finalmente, el concepto (iii) se refiere a una superficie de selección individual (f), la cual representa la asociación entre la aptitud esperada de un individuo y su valor fenotípico para varios caracteres. Por ejemplo, la sobrevivencia de un individuo durante una parte del ciclo de vida puede depender de tres caracteres: Z_1 , Z_2 y Z_3 . En este caso W es la sobrevivencia (aptitud) y $f(z_1, z_2, z_3)$ es la función de la aptitud individual que mide la probabilidad de que un individuo sobreviva como una función de sus medidas para los tres caracteres (Z_1, Z_2, Z_3). De este modo, la superficie f permite hacer predicciones de la sobrevivencia o el éxito reproductivo de los individuos y determina si uno o más picos y valles de la aptitud ocurren dentro del rango de los fenotipos presentes en la población (Schluter, 1988; Schluter y Nychka, 1994). La superficie f también puede ser usada para determinar cuáles caracteres están bajo selección natural directa y cuáles son afectados sólo a través de sus correlaciones con los caracteres seleccionados (Lande y Arnold, 1983; Schluter y Nychka, 1994). Adicionalmente, desde una perspectiva ecológica la superficie f describe las consecuencias de la aptitud de fenotipos interactuando con su ambiente (ver Schluter, 1988). En ausencia de selección dependiente de la frecuencia, la superficie de selección individual puede entenderse como un rasgo del ambiente externo que determina la aptitud de

fenotipos alternativos pero que existe independientemente de ellos (Schluter, 1988; Schluter y Nychka, 1994). La verdadera forma de la superficie f puede ser simple (*e.g.*, definida por una recta o plano, una parábola o campana, etc) o altamente irregular. Por eso, la superficie f debe ser estimada usando técnicas que no hagan suposiciones acerca de su forma (en esta vena, notar que la estimación de gradientes de selección hace suposiciones explícitas sobre la forma de selección). Sólo recientemente se desarrollaron técnicas no paramétricas flexibles que permiten encontrar la superficie f a partir de datos observacionales (Schluter, 1988; Schluter y Nychka, 1994).

De este modo, a partir de los años setenta (*e.g.*, Lande, 1976) hasta el presente (*e.g.*, Schluter y Nychka, 1994), se desarrollaron las herramientas teóricas necesarias para poder medir y caracterizar adecuadamente el proceso de la selección natural actuando directamente sobre el fenotipo. En la práctica, el análisis de la selección fenotípica sólo será completo si en el estudio se consideran todos los caracteres correlacionados que sean adaptativamente importantes. Por supuesto que tales caracteres nunca se conocen a priori para realizar un estudio de selección, pero una inspección previa de la biología y ecología de la especie, y manipulación experimental (Wade y Kalisz, 1990), pueden ayudar a esta tarea. Incluso aunque este problema de caracteres adaptativos no considerados en el estudio puede sesgar en algún grado el análisis, las herramientas teóricas referidas en esta sección (*e.g.*, gradientes de selección, función f), tienen la ventaja de poder (i) corregir el problema de la correlación entre los caracteres, al menos para los caracteres estudiados, y (ii) caracterizar adecuadamente la forma de selección que opera. Posiblemente, un análisis de gradientes de selección sea más valioso cuando se lo interpreta como un análisis exploratorio. Por ejemplo, un análisis tal, puede sugerir los caracteres sobre los cuales la selección actúa primariamente, y luego pueden diseñarse experimentos adecuados para comprobar estas sugerencias (Mitchell-Olds y Shaw,

1987; Wade y Kalisz, 1990). Recientemente, numerosos estudios empíricos han tratado de caracterizar el proceso selectivo mediante el análisis de gradientes de selección (e.g., Lande y Arnold, 1983; Arnold y Wade, 1984a, 1984b; Conner, 1988; Wiernasz, 1989; Hews, 1990; Ligon y col., 1990; Morre, 1990; Zuk y col., 1990; Anholt, 1991; Warner y Schultz, 1992; Arnold y Duvall, 1994; Norry y col., 1995a). Los resultados de tales estudios han sido elocuentes en mostrar que la selección correlacionada es la forma predominante de selección en la naturaleza, y que la aproximación de analizar a la selección como si esta actuara aisladamente sobre caracteres únicos carece de significación biológica y evolutiva.

I-b. OBJETIVOS DEL TRABAJO

I-b1. Caracterización de la Selección Sexual Relacionada con el Tamaño Corporal (SSRT) en *Drosophila buzzatii*

La teoría de selección sexual, originalmente propuesta por Darwin (1858, 1871) para explicar la evolución de caracteres que presentan dimorfismo sexual, distingue dos clases de selección sexual: (a) selección intrasexual y (b) selección intersexual. Mientras que ambos tipos de selección sexual resultan del éxito diferencial en el apareamiento, la clase (a) es la consecuencia de la competencia entre los individuos de un mismo sexo (generalmente los machos) para lograr aparearse, y la clase (b) resulta de la elección de pareja que los individuos de un sexo (generalmente la hembras) ejercen sobre el fenotipo de los del otro sexo. Ambos tipos de selección sexual frecuentemente involucran morfologías y comportamientos complejos, y la distinción entre selección intrasexual y elección de apareamiento,

como así también la identificación de los caracteres responsables del éxito desigual en el apareamiento, suelen ser los principales problemas en estudios empíricos de selección sexual (e.g., ver Partridge y Halliday, 1984).

Los caracteres morfométricos, que reflejan el tamaño y la forma de los organismos, se indentifican frecuentemente como variables fenotípicas que están correlacionadas con el éxito en el apareamiento de muchas especies de animales. Sin embargo, debido a que tales caracteres están altamente inter-correlacionados con el tamaño general, suele ser muy difícil establecer si la selección actúa sobre un carácter morfológico particular o si, por el contrario, ella opera sobre el tamaño general. En el trabajo presente, este tipo frecuente de selección sexual será denotado abreviadamente como SSRT, indicando "selección sexual relacionada con el tamaño," la cual puede resultar de selección sobre el tamaño general del cuerpo, o bien, selección sobre uno o más caracteres correlacionados con el tamaño.

En estudios empíricos de selección sexual, SSRT ha sido un descubrimiento común en muchas especies de dípteros. Específicamente en el género *Drosophila*, se demostró la ocurrencia de una correlación positiva entre el tamaño corporal y el éxito en el apareamiento del macho en poblaciones naturales de las moscas de la fruta *D. melanogaster* y *D. pseudoobscura* (Partridge y col., 1987a), y de la mosca cactófila *D. buzzatii* (Santos y col., 1988, 1992). Aunque el tamaño corporal podría ser el blanco directo de tal SSRT, esta asociación también pudo resultar de la selección sobre caracteres funcionalmente importantes correlacionados con el tamaño general del cuerpo, en cuyo caso el tamaño corporal habría sido afectado sólo a través de su correlación con aquellos caracteres sexualmente seleccionados. En particular, los caracteres comportamentales correlacionados con el tamaño corporal (e.g., Partridge y col., 1987b; Boake, 1989), como así también los tamaños de partes corporales que interactúan con comportamientos específicos del apareamiento, podrían

ser los blancos directos de la SSRT. En tales casos, el estudio de la base comportamental de la SSRT, podría requerir establecer si la selección opera sobre un carácter particular o sobre el tamaño general del cuerpo. En añadidura, los análisis multivariados de selección (*e.g.*, Lande y Arnold, 1983; Crespi y Bookstein, 1989; Schluter y Nychka, 1994), al controlar estadísticamente los efectos espúreos debidos a la selección sobre caracteres correlacionados, son herramientas necesarias para distinguir los caracteres que realmente son seleccionados y los caracteres correlacionados que no experimentan selección directa. Mientras que tales análisis son más valiosos cuando se los consideran como "exploratorios," las conclusiones arribadas pueden evaluarse posteriormente mediante experimentos apropiados.

Recientemente, Norry y col. (1995a) aplicaron un análisis de gradientes selección en una manera exploratoria, para examinar la importancia relativa del tamaño corporal y los tamaños de las alas y la cabeza sobre éxito copulatorio en *D. buzzatii*. Aunque en ese estudio también se observó una asociación positiva entre el tamaño corporal y el éxito copulatorio del macho, no existió la menor evidencia de selección directa sobre el tamaño corporal, mientras que el ancho de la cara del macho fue el único carácter medido que predijo significativamente el éxito en el apareamiento (Norry y col., 1995a).

Para caracterizar con mayor precisión la relación entre el éxito copulatorio y la variación morfométrica en *D. buzzatii*, uno de los objetivos del presente trabajo fue el de manipular un factor ambiental que podría influenciar la SSRT, previamente detectada sobre el ancho de la cara del macho. Debido a que las levaduras pueden afectar el vigor o el nivel de actividad general de *Drosophila* (McRobert, 1986), el factor que se manipuló con una intención exploratoria fue la dieta de levadura en los machos. Además, las levaduras asociadas con la cabeza del macho y el abdomen de la hembra son transmitidas intersexualmente durante el cortejo de *D. buzzatii* (Starmer y col., 1988), y como sugieren las observaciones de Steele

(1986a,b) en otras especies de *Drosophila*, es posible que tal comportamiento esté asociado al éxito en el apareamiento. Puesto que la cabeza del macho es una parte corporal que interactúa con este comportamiento del cortejo, el trabajo presente también examina si la selección sugerida sobre el ancho de la cara está asociada con la transferencia de levaduras vivas desde el macho a la hembra cortejada.

I-b2. Estimación de la Heredabilidad de Caracteres Morfométricos en Moscas Derivadas de Dos Poblaciones Naturales de *Drosophila buzzatii*

El potencial para la evolución adaptativa de una población depende de varios factores, el más importante de los cuales es la presencia de variación genética en los caracteres fenotípicos sujetos a selección natural.

Mientras que la selección natural actúa sobre el fenotipo de los individuos, la evolución adaptativa sólo será posible en la medida de que la variabilidad fenotípica tenga un componente heredable. En consecuencia, la proporción de la variabilidad fenotípica que es heredable en varios caracteres (la heredabilidad en sentido estricto, h^2), puede ser una medida necesaria para evaluar el potencial micro-evolutivo del fenotipo medio de una población. En particular, esto permitiría evaluar el nivel general de constreñimientos micro-evolutivos imputables a la herencia (Arnold, 1992). Por ejemplo, en la ausencia de variabilidad fenotípica heredable, el fenotipo medio obviamente no podrá evolucionar, incluso aunque esté sujeto a fuerte selección direccional (Falconer, 1989).

Una característica notable entre muchas especies del género *Drosophila*, es la baja tasa de evolución morfométrica (ver Spicer, 1993, y referencias dentro). Por ello, dada la relación subyacente entre el parámetro de heredabilidad y el potencial para la micro-

evolución adaptativa del fenotipo medio, puede ser de interés examinar este parámetro para caracteres morfométricos de diferentes partes corporales de *Drosophila*. En particular, el estudio presente fue conducido para evaluar tres hipótesis nulas de interés para caracterizar la variabilidad morfométrica que es potencialmente capaz de evolucionar. En primer lugar se examinó si la evolución adaptativa de caracteres morfométricos está constreñida por valores de heredabilidad iguales o cercanos a cero en *D. buzzatii*. En segundo lugar, se examinó si las heredabilidades son iguales entre caracteres de diferentes partes corporales de esta especie. Finalmente, también se examinó si las heredabilidades de caracteres morfométricos son similares entre diferentes poblaciones

I-b3. Estimación y Comparación de Matrices de Correlaciones Genéticas y Fenotípicas y Matrices de Varianzas y Covarianzas Genéticas Asociadas a Caracteres Morfométricos

Debido a las correlaciones genéticas entre caracteres fenotípicos, la selección operando sobre un carácter particular puede afectar sustancialmente a la micro-evolución de muchos otros caracteres, incluso aunque ellos sean neutros. Por esta razón, cualquier intento de (i) predecir adecuadamente la evolución fenotípica asociada a la selección observada en poblaciones, o (ii) reconstruir las fuerzas selectivas responsables de la divergencia fenotípica entre taxones vivientes, requiere considerar la asociación genética entre caracteres. La mayoría de los estudios empíricos recientes conducidos con tales intenciones se basan en la ecuación de la respuesta multivariada (DZ) a la selección direccional ($DZ = G \beta$). Así, las matrices G han sido usadas recientemente para predecir los efectos a largo plazo de la selección real o hipotética sobre caracteres o atributos correlacionados y también para reconstruir las

fuerzas selectivas necesarias para explicar las diferencias fenotípicas observadas (e.g., ver Lande, 1979; Price y col., 1984; Price y Grant, 1985; Arnold, 1988; Losfswold, 1988; Merila y col., 1994). Para ello es necesario asumir que la matriz de varianzas y covarianzas genéticas (G) no cambia sustancialmente durante (i) el intervalo evolutivo considerado o (ii) la divergencia observada. En ausencia de predicciones teóricas robustas, la validez de esta suposición sólo puede inferirse empíricamente, comparando matrices G entre poblaciones y/o especies que han divergido recientemente.

En principio, bajo selección las matrices G podrían cambiar de generación en generación, porque las varianzas y covarianzas genéticas aditivas son funciones de las frecuencias alélicas (Falconer, 1989). Muchos biólogos evolutivos sólo están familiarizados con el argumento, más temprano, imputable a Fisher (1930), de que la selección direccional y estabilizadora eventualmente eliminan toda variación (y covariación) heredable en caracteres poligénicos adaptativos. Sin embargo, existen modelos genético-cuantitativos (Lande, 1976, 1980a, 1984) que predicen que la tasa de mutación para un carácter afectado por muchos loci puede ser lo suficientemente alta como para arribar a un gradiente de equilibrio entre pérdida debida a selección y ganancia debida a mutación, tal que una cantidad de varianza y covarianza genética aditiva podría mantenerse aún en la presencia de selección natural. Además, el modelo de selección antagonística pueden explicar grandes cantidades de variación y covariación genética aditiva en poblaciones en equilibrio para caracteres pleiotrópicamente relacionados (Gimelfard, 1992; para un ejemplo empírico ver Brodie, 1989). Asimismo, es completamente posible que la selección actúe con frecuencia favoreciendo correlaciones específicas, funcionalmente importantes, entre conjuntos definidos de caracteres (ver Schluter y Nychka, 1994), en cuyo caso la constancia de matrices G sería aún más fácil de explicar.

El punto central es si la matriz G cambia realmente durante la excursión evolutiva del fenotipo. Turelli (1988) argumentó que esta problemática no puede resolverse sobre la base de la investigación teórica y apeló a más trabajo experimental. Estudios empíricos recientes han verificado una cierta constancia en matrices G cuando son comparadas entre poblaciones de una misma especie (*e.g.* Wilkinson y col., 1990; Shaw, 1991; Brodie, 1993; Thomas y Barker, 1993) o entre taxones relacionados (*e.g.* Lofsvold, 1986; Kohn y Atchley, 1988; Cowley y Atchley, 1990). Aunque son muy pocos los estudios publicados que han examinado empíricamente la estabilidad relativa de las matrices G, hay alguna evidencia de que los constreñimientos genéticos pueden ser evolutivamente persistentes (Lande, 1980a,b; Cheverud, 1984; Phillips y Arnold, 1989; ver Arnold, 1992 p. 93). En el presente, se necesitan más estudios comparativos de matrices G en poblaciones, especies y taxones superiores de filogenias conocidas, si se aspira a determinar cuál clase de caracteres muestra estabilidad en varianzas y covarianzas genéticas y cuál no, y sobre qué escala de tiempo (Arnold, 1992; Brodie, 1993).

Desafortunadamente, la estimación de correlaciones genéticas requiere grandes tamaños muestrales (Klein y col., 1973) y diseños experimentales que suelen ser muy complicados al aplicarlos en determinados organismos. Debido a las dificultades experimentales para realizar las estimaciones, una comparación de matrices de correlaciones genéticas entre más de dos poblaciones o especies es frecuentemente impracticable (Roff, 1995). Las correlaciones fenotípicas, por el contrario, son notablemente más fáciles de estimar y los errores estándar de las mismas son siempre mucho menores. Dado que la correlación fenotípica entre dos caracteres es el resultado de la suma de la correlación genética y la correlación ambiental entre ellos, es fácil entender que las correlaciones fenotípicas podrían ser similares o proporcionales a las correlaciones genéticas. Al analizar 41 pares de matrices de correlaciones genéticas, Cheverud (1988)

concluyó que las matrices de correlaciones fenotípicas pueden ser similares o proporcionales a las matrices de correlaciones genéticas. Más aún, por simulación Roff (1995) mostró que las correlaciones fenotípicas son tan buenos estimadores de las correlaciones genéticas como, o incluso mejores que, las correlaciones genéticas estimadas.

Con respecto a esta problemática y a la estabilidad evolutiva de las matrices G, uno de los objetivos del presente trabajo fue el de evaluar la similitud en la estructura de matrices G y de correlaciones genéticas y fenotípicas de caracteres morfométricos en moscas derivadas de poblaciones naturales de *D. buzzatii* y *D. koepferae*. Para ellos se estimaron las matrices G y de correlaciones genéticas asociadas a caracteres morfométricos en dos poblaciones bonaerenses de *D. buzzatii*. En la misma vena, se estimaron matrices de correlaciones genéticas y fenotípicas para los mismos caracteres en moscas de *D. buzzatii* y *D. koepferae* derivadas de una población geográfica distante y climáticamente diferente de las anteriores (Prov. de Tucumán, Argentina), en la cual ambas especies son simpátricas. Todas las matrices estimadas fueron comparadas estadísticamente (i) para evaluar la estabilidad de la estructura de asociaciones genéticas y fenotípicas de los caracteres estudiados, y (ii) para evaluar la similitud entre las correlaciones genéticas y fenotípicas.

I-b4. Evaluación de la Estructura de Correlaciones Genéticas y Fenotípicas con Respecto al Modelo del Desarrollo en Discos Imaginales

Como se indicó en I-a4, las matrices de varianzas y covarianzas genéticas (G) son necesarias para predecir la respuesta evolutiva a la selección fenotípica, y por ende para predecir las tasas y trayectorias de la micro-evolución fenotípica (Lande, 1979). En consecuencia, resulta de sumo interés identificar factores que determinan la estructura de tales matrices. En particular, las

relaciones funcionales y del desarrollo entre caracteres pueden influenciar la estructura de covariación fenotípica y genética (e.g., Cowley y Atchley, 1990; Kingsolver y Wiernasz, 1991; Windig, 1994). Por ejemplo, los efectos pleiotrópicos de genes que afectan a caracteres fenotípicos que comparten vías comunes del desarrollo pueden conducir a covariación genética entre caracteres. Como resultado, la estructura de una matriz G asociada a un conjunto de caracteres inter-correlacionados puede reflejar el modelo de organización del desarrollo u homología (Lande, 1980a, 1984; Cheverud, 1982; Atchley, 1984; Cowley y Atchley, 1990; Kingsolver y Wiernasz, 1991; Windig, 1994). Por otra parte, la estructura de G también puede reflejar relaciones funcionales (adaptativas) entre caracteres. Por ejemplo, Cheverud (1984) argumentó que en las cercanías de un pico adaptativo las correlaciones genéticas entre caracteres evolucionarán para coincidir con la curvatura de la superficie de selección, es decir, con las correlaciones selectivas entre los caracteres. Algunos análisis teóricos muestran que en el equilibrio, G es una función de las relaciones del desarrollo (dadas por la matriz de los efectos mutacionales sobre las varianzas y covarianzas) y las relaciones funcionales (dadas por una matriz que representa selección estabilizadora multidimensional) (Lande 1980, 1984; Turelli, 1988). Las relaciones funcionales y del desarrollo pueden ser similares, y suele ser muy difícil distinguir experimentalmente los efectos debidos al desarrollo de aquellos debidos a la coadaptación funcional, porque esto requiere evidencia independiente sobre la organización del desarrollo y la coadaptación funcional. Es evidente que los efectos del desarrollo y los funcionales no son mutuamente excluyentes, y bajo selección estabilizadora, el desarrollo embrionario y las relaciones funcionales pueden evolucionar en concierto (Cheverud, 1984; Wagner, 1986).

Como ilustraron Cowley y Atchley (1990), los insectos holometábolos son buenos candidatos para estudiar las relaciones entre

el desarrollo y el cambio evolutivo. En ellos, partes corporales diferentes (*e.g.*, alas, patas, etc.) derivan de precursores celulares diferentes, llamados discos imaginales, influenciados por baterías de genes diferentes. Los discos imaginales se desarrollan a partir de linajes celulares independientes que son establecidos tempranamente en la embriogénesis (Postlethwait y Schneiderman, 1973). Ellos pueden ser considerados como unidades semiautónomas, ya que la estirpación de un único disco imaginal durante la etapa larvaria resulta en la ausencia de las estructuras adultas derivadas de aquel disco pero no de las de otros discos (Gehring y Nothiger, 1973). Además, algunas evidencias de mutaciones homeóticas surgieron que el desarrollo de cada segmento de *Drosophila* puede estar controlado por una combinación única de loci (*e.g.*, Yund y Germeraad, 1980). Consecuentemente, una hipótesis interesante para evaluar, es si los caracteres derivados de un mismo disco imaginal estén genéticamente más intercorrelacionados que con caracteres derivados de otros discos. Desde un punto de vista adaptacionista, tal modelo de correlaciones genéticas entre caracteres facilitaría el ajuste fino evolutivo de una población a las condiciones locales, al permitir cierto grado de independencia evolutiva entre partes corporales (Cowley y Atchley, 1990). Sin embargo, debido a la ocurrencia casi universal de pleiotropía y ligamiento, uno no esperaría independencia absoluta entre caracteres de distinto origen de desarrollo. Lo esperable es que los caracteres estén más altamente correlacionados si ellos derivan de un mismo disco imaginal que si lo hacen de distintos discos. Recientemente, Cowley y Atchley (1990) han examinado la estructura de correlaciones genéticas y fenotípicas en una población experimental de *D. melanogaster*, y concluyeron que la estructura de correlaciones refleja la organización del desarrollo en discos imaginales.

El trabajo presente extiende aquel de Cowley y Atchley (1990), (i) por examinar si la estructura de correlaciones genéticas y/o fenotípicas refleja el origen del desarrollo de los caracteres

derivados de dos discos imaginales en dos especies cactófilas, *D. buzzatii* y *D. koepferae*, y (iii) por analizar esta relación en moscas recientemente derivadas de poblaciones naturales. En particular, se examinaron las correlaciones entre caracteres morfométricos derivados de los discos ala y ojo-antena, a partir de los cuales derivan una gran parte del toráx y la cabeza, respectivamente. Dado que el estudio se realizó con moscas recientemente derivadas de poblaciones naturales, en lugar de poblaciones de muchas generaciones de laboratorio, las estructuras de correlaciones examinadas no son el resultado de evolución bajo condiciones artificiales. De este modo, las hipótesis del desarrollo son evaluadas sobre la estructura de correlación relevante para la evolución morfométrica en poblaciones naturales de *Drosophila*.

I-b5. Estudio de la Variación en el Tamaño y la Forma Corporal, y Reconstrucción de las Fuerzas Selectivas Responsables de la Divergencia Morfométrica Observada entre Poblaciones de *Drosophila buzzatii* y *D. koepferae*

Los cambios en el tamaño corporal ocurridos dentro y entre poblaciones y/o especies, pueden estar acompañados por cambios en la forma corporal, y viceversa. Una de las principales metas de la biología evolutiva es entender las características y causas de tales cambios (Futuyma, 1987). En principio esta clase de cambios fenotípicos pueden ocurrir por selección natural y/o deriva genética. Cuando se conoce con certeza el tiempo transcurrido desde la divergencia entre las poblaciones o especies estudiadas, pueden aplicarse pruebas estadísticas -llamadas pruebas de tasas- que permiten evaluar la hipótesis nula de que la tasa de cambio observada es igual a la esperada por deriva (Lande, 1976; Charlesworth, 1984; Turelli, 1988; Lynch, 1990). Esta hipótesis nula puede ser rechazada

con un determinado nivel de significación si: (i) la tasa de cambio observada es menor que la esperada por el azar, en cuyo caso se sugiere la ocurrencia de selección estabilizadora; (ii) la tasa de cambio observada es mayor que la esperada por el azar, en cuyo caso la selección direccional sería la responsable. Mientras que esta aproximación es muy valiosa cuando se dispone de información filogenética muy detallada de los taxones comparados (e.g. Spicer, 1993), una limitación de las pruebas de tasas es que los efectos de las correlaciones genéticas entre caracteres no pueden evaluarse en una forma simple. Consecuentemente, los resultados obtenidos deben tomarse con cautela si, como en el caso de los caracteres morfométricos, los caracteres estudiados no son genéticamente independientes. Como se mencionó tempranamente en este trabajo, hay una contradicción aparente entre dos observaciones frecuentes: (a) la fuerte intensidad de selección direccional observada sobre caracteres morfológicos en poblaciones naturales, y (b) la baja tasa de evolución morfológica observada en períodos considerables de tiempo. La explicación de tal discrepancia requiere una caracterización adecuada del proceso selectivo. En principio, si la divergencia morfométrica entre las unidades taxonómicas estudiadas fuera adaptativa, el cambio morfométrico observado ha de ser el resultado de selección direccional. En la sección I-a4 se presentó la familia de ecuaciones formales que modelan la respuesta a la selección direccional sobre caracteres poligénicos, mostrándose que la aplicación de la ecuación univariada ($R = h^2 s$) es válida sólo para aquellos casos, extremadamente excepcionales, de caracteres genéticamente independientes de otros. Cuando las correlaciones genéticas entre caracteres son significativas, entonces la respuesta predicha a la selección direccional está modelada por la ecuación matricial $DZ = G\beta$ (ver I-a5). Ordenando esta expresión en la forma de $\beta = G^{-1} DZ$, es posible estimar la fuerza neta de selección direccional responsable de la divergencia fenotípica entre un par de unidades taxonómicas

vivientes (Lande, 1979; Price y Grant, 1985; Riska, 1985; Lofsvold, 1988; Merila y col., 1994). De este modo, estimando las diferencias fenotípicas medias y la matriz G asociada a los caracteres involucrados, puede calcularse el gradiente de selección β que define la vía evolutiva asociada a la tasa máxima de incremento en la aptitud media de la población (Lande, 1979, 1980a). Esta aproximación también es apropiada para identificar constreñimientos evolutivos que ayudarían a explicar la tasa de micro-evolución morfológica y el modelo de diferenciación fenotípica entre poblaciones y especies. Por ejemplo, las covarianzas genéticas positivas entre caracteres seleccionados en direcciones opuestas pueden constreñir la respuesta a la selección, limitando en algún grado a la diversificación evolutiva (*e.g.*, Merila y col., 1994). Realmente hay evidencia empírica que indica que las covarianzas genéticas ancestrales han influenciado la diversificación entre taxones (Arnold, 1981; Schluter, 1984; Price y Grant, 1985; Riska, 1985; Lofsvold, 1988; Merila y col., 1994), y continúan haciéndolo (Kirkpatrick y Lofsvold, 1992).

Otra cuestión que puede ser abordada con la ecuación matricial $\beta = G^{-1} DZ$, es la de evaluar si los cambios en el tamaño y la forma se deben a selección sobre el tamaño general, o por el contrario, selección sobre el tamaño de partes corporales individuales. Los cambios en la forma corporal a veces son interpretados en un contexto estrictamente adaptativo, como un reflejo de cambios en requerimientos estructurales y fisiológicos asociados con cambios en el tamaño (*e.g.*, Calder, 1984; Reiss, 1989). Tales cambios pueden resultar de respuestas indirectas (correlacionadas) de selección sobre el tamaño general, o por el contrario, selección sobre el tamaño de partes corporales funcionalmente importantes (ver Lande, 1979). Por ejemplo, como una consecuencia de que el tamaño general suele exhibir altas y positivas correlaciones genéticas con caracteres morfológicos (Falconer, 1981, p. 284-287; Cheverud, 1988; Riska y col., 1989), la selección para incrementar el tamaño de una parte corporal producirá

cambios correlacionados en el tamaño de otras partes, y de este modo un incremento en el tamaño general del cuerpo. Debido a que las respuestas indirectas (correlacionadas) a la selección suelen ser menores que las ocurridas en los caracteres seleccionados directamente, tal selección ha de producir cambios en la forma y el tamaño corporal. Por ejemplo, Lande (1979) sugirió que entre taxones de mamíferos muy relacionados, la diferenciación en la relación alométrica entre el tamaño cerebral y el tamaño corporal, sería el resultado de selección direccional sobre el tamaño corporal.

En el trabajo presente se analiza la variación en el tamaño y la forma corporal entre dos poblaciones naturales de *D. buzzatii*, entre una población de *D. buzzatii* y otra de *D. koepferae*, y entre moscas de ambas especies provenientes de una población en la que habitan en forma simpátrica. Luego de analizar la variación en el tamaño y la forma corporal entre poblaciones/especies, se estimó la intensidad neta de selección direccional necesaria para explicar la variación interpoblacional e interespecífica observada en varios caracteres morfométricos. Para ello se estimó el gradiente de selección direccional (β) mediante la ecuación $\beta = G^{-1} DZ$, para cada par de poblaciones/especies comparadas, usando la matriz G estimada en una de ellas. Los coeficientes β se usaron (i) para reconstruir las fuerzas selectivas que habrían actuado para producir la divergencia observada, y (ii) para evaluar el efecto de las correlaciones genéticas en la diferenciación morfométrica.

I-c. GENERALIDADES SOBRE EL GÉNERO *Drosophila*

El género *Drosophila*, aparentemente de origen africano y más longevo que 30 millones de años (Throckmorton, 1975, 1982), se halla integrado por más de 1500 especies vivientes. Su distribución geográfica y climática es extremadamente amplia, encontrándose representantes de este género tanto en las altas montañas como en el nivel del mar, o en los trópicos y la tundra, aunque la mayor cantidad de ellos se encuentre en zonas selváticas (Throckmorton, 1975, 1982).

El éxito evolutivo de los drosofilidos, caracterizado por la variedad de habitats colonizados y el número de especies vivientes, puede asociarse a la gran cantidad de sustratos reproductivos utilizados (Throckmorton, 1982). Las especies de *Drosophila* generalmente se alimentan y reproducen en sustratos ricos en levaduras (Begon, 1982), los cuales pueden encontrarse en muchas regiones terrestres. Las levaduras brindan estímulo y son una fuente principal de alimento tanto para los estadios larvarios como para la mosca adulta. Asimismo, las moscas de *Drosophila* parecen ser un importante agente de dispersión de levaduras (Gilbert, 1980; Starmer y col., 1982), sugiriendo la existencia de una potencial co-evolución entre la levaduras y las especies asociadas de *Drosophila* (Starmer y Fogleman, 1986).

A pesar de la notable variedad de climas colonizados, una característica notable del género *Drosophila* es la gran similitud morfológica frecuentemente observada en comparaciones interespecíficas. Tal similitud morfológica realmente atrajo el interés de muchos investigadores (e.g., Mather y Dobzhansky, 1939; Reed y Reed, 1948; Burla y col., 1949; Rizki, 1951; Townsend, 1954; Spassky, 1957; Spicer, 1993).

El ciclo de vida de los drosofilidos puede resumirse de la siguiente manera:

- a) el espermatozoide entra al óvulo en el útero de la hembra (excepto unas pocas especies que son partenogénicas). Se completan las divisiones de la célula huevo. Se forma el núcleo cigótico. La hembra deposita los huevos sobre el sustrato reproductivo.
- b) desarrollo embrionario, hasta llegar al primer estado larvario.
- c) se pasa por tres estados larvarios.
- e) se forma la pupa.
- f) el imago emerge de la pupa.
- g) llega al estado adulto y adquiere la madurez sexual.

La duración del ciclo de vida completo puede variar considerablemente entre especies. Así, hay especies boreales que sólo tienen una generación por año, mientras muchas otras especies pueden tener más de diez generaciones anuales.

El alto nivel de similitud morfológica ha sido una de las principales dificultades para el establecimiento de relaciones filogenéticas y una sistemática bien definida del género *Drosophila*. Esto llevó a que la mayor parte del conocimiento de las relaciones filogenéticas entre las drosófilas provenga de estudios reproductivos, cromosómicos y moleculares (MacIntyre y Collier, 1986), más bien que morfológicos.

Para sólo dar una idea de la complejidad de la sistemática del género, acá sólo se pretenderá dar una breve descripción de la ubicación sistemática actual de las especies consideradas en este estudio.

Las especies del género *Drosophila* han sido agrupadas en ocho subgéneros, de los cuales *Sophophora* y *Drosophila* fueron subdivididos en grupos debido a su gran diversidad. Dentro del subgénero *Drosophila*, uno de los más ricos en cantidad de especies es el grupo repleta, de origen americano, al que pertenecen las especies estudiadas en el presente trabajo.

Las especies del grupo *repleta* se distinguen por el color gris o marrón del mesonoto con quetas rodeadas de manchas oscuras, a veces formando figuras complejas (Vilela, 1983). Las especies de este grupo son cactófilas, ya que se alimentan y reproducen específicamente sobre tejidos en descomposición de varios cactus de los desiertos americanos.

Las especies descritas asignadas al grupo *repleta* (más de ochenta) se han clasificado en cinco subgrupos: *repleta*, *mercatorum*, *hydei*, *mulleri* y *fasciola* (Wasserman, 1962, 1982). A su vez, dentro del subgrupo *mulleri* se distinguen 4 unidades taxonómicas llamadas "complejos:" *meridiana*, *anceps*, *eremofila* y *buzzatii* (Ruiz y Wasserman, 1993). En base a criterios reproductivos y citológicos, las especies de cada complejo se han agrupado en "clusters." Así, dentro del complejo *buzzatii* se reconocen 3 "clusters:" *stalker*, *martensis* y *buzzatii* (Ruiz y Wasserman, 1993). Ruiz y Wasserman (1993) sugieren que el cluster *stalker* es el ancestral del complejo *buzzatii*, y el cluster *martensis*, el más reciente.

I-d. Las especies *Drosophila buzzatii* y *D. koepferae*

Junto con otras dos especies descritas (*D. serido* y *D. borborema*), *D. buzzatii* y *D. koepferae* recientemente han sido asignadas al cluster *buzzatii*, complejo *buzzatii*, subgrupo *mulleri* (Ruiz y Wasserman, 1993). Estas especies, autóctonas de América del Sur, son sinmórficas y bajo lupa sólo es posible distinguirlas por la genitalia del macho (Fontdevila y col., 1988).

La especie *D. buzzatii*, descrita por Paterson y Wheeler (1942), probablemente se originó dentro del área que va desde la Provincia de San Luis hasta el sur de la Provincia del Chaco, Argentina (Fontdevila y col., 1982; Ruiz y col., 1982). Una de las características de esta especie es su gran capacidad dispersiva,

habiendo sido considerada por David y Tsacas (1980) como uno de los veintiún drosófilidos de distribución subcosmopolita. Recientemente ha colonizado el Viejo Mundo, junto con algunas cactáceas del género *Opuntia* introducidas por el hombre en tiempos del descubrimiento de América (Fontdevila y col., 1982, y referencias dentro).

La especie *D. koepferae*, descrita por Fontdevila y col. (1988), tiene una distribución mucho más restringida que *D. buzzatii*. Hasta donde se conoce, la misma sólo habita en los Valles Calchaquíes de la Argentina y la zona montañosa de Bolivia (Ruiz y col., 1982).

Las poblaciones naturales de ambas especies suelen ser cromosómicamente polimórficas para inversiones paracéntricas, siendo el sistema de inversiones de algunos cromosomas característico de cada especie y utilizado para distinguirlas (Fontdevila y col., 1980; Ruiz y Wasserman, 1993).

Siendo cactófilas, los únicos sustratos reproductivos y de alimentación para ambas especies corresponden a los tejidos en descomposición de varias cactáceas del género *Opuntia* y del tipo columnar de la subfamilia *Ceroidae*. Mientras ambas especies son simpátricas en algunas localidades del noroeste argentino, hay una marcada especificidad en el nicho reproductivo. Así, el principal sustrato reproductivo de *D. buzzatii* correspondería a los tejidos en descomposición de especies de *Opuntia*, y el correspondiente a *D. koepferae*, son los tejidos de cactus columnares (Hasson y col., 1992).

La ecología de las drosófilas cactófilas, en la cual todos los estadios preadultos se desarrollan en los sustratos de cactus específicos que pueden muestrearse fácilmente, hace de estos insectos un material de reconocida utilidad para estudios ecológicos y micro-evolutivos (Barker, 1982). Esta característica combinada con su amplia distribución geográfica, han hecho de *D. buzzatii* una de las especies de *Drosophila* más ampliamente utilizadas en estudios micro-evolutivos.

MATERIAL Y METODOS

II-a. POBLACIONES MUESTREADAS

Arroyo Escobar. La población natural llamada Arroyo Escobar en estudios previos (e.g., Hasson y col., 1991), está situada en la localidad de Ing. Maschwitz (34°23' S, 58°44' O, 5 m s.n.m.), Provincia de Buenos Aires, a la altura del km 35 de la Ruta nacional Nº 9, junto a las vías del ferrocarril Gral. Mitre. Esta localidad pertenece a la Provincia fitogeográfica de la Pampa (Cabrera, 1976). La temperatura media anual en este sitio es de 15.9 °C, con un amplio rango de temperaturas entre invierno (mínimo absoluto registrado: -7.5 °C) y verano (máximo absoluto registrado: 41.6 °C) (Hasson y col., 1991).

La única especie de cactus presente en esta localidad es *Opuntia vulgaris* (Hasson y col., 1991). Las especies cactófilas del género *Drosophila* presentes en ella son: *D. buzzatii* (96.6%), *D. pararepleta* (2.4%) y *D. meridionalis* (1%) (Hasson y col., 1992).

Otamendi. Esta localidad comparte las características climáticas indicadas para la población de Arroyo Escobar, y también pertenece a la Provincia fitogeográfica de la Pampa.

La única especie de cactus presente es *Opuntia vulgaris*, y *D. buzzatii* es la especie de *Drosophila* cactófila dominante en esta localidad.

Quilmes. La población natural llamada Quilmes en estudios previos (e.g., Hasson y col., 1992), está situada cerca de la

localidad de Quilmes, a 200 km al Oeste de la Ciudad de San Miguel de Tucumán (26°37' S, 65°54' O, 2000 m.s.n.m.), en el límite entre las Provincias Fitogeográficas de la Prepuna y el Monte.

Las especies de cactus presentes en esta localidad son *Trichocereus terscekii* (cardón) y *Opuntia sulphurea* (Hasson y col., 1992)

Las especies cactófilas del género *Drosophila* presentes en esta localidad son: *D. koepferae* (78.8%), *D. buzzatii* (15.2%) y *D. serido* (6%) (Hasson y col., 1992).

Aunque *D. koepferae* y *D. buzzatii* utilizan como recursos de alimentación y reproducción a los tejidos de ambas especies de cactáceas (sustratos) presentes en esta población, *D. koepferae* emerge diferencialmente de los sustratos de *T. terscekii* mientras *D. buzzatii* lo hace de los sustratos de *O. sulphurea* (Hasson y col., 1992).

II-b. MEDIOS DE CULTIVOS Y DE OVIPUESTA UTILIZADOS EN LOS DIFERENTES EXPERIMENTOS

Medio de David (1962) para cultivar moscas axénicas. Este medio es muy nutritivo para *Drosophila* y su fórmula es:

Harina de maiz	180 gr
Levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	120 gr
Agar	8 gr
Sal	2 gr
Agua	1400 ml

En la preparación, las levaduras se matan por ebullición durante media hora.

Se agrega una solución funguicida consistente de 2 ml de ácido propiónico y 3 gr de nipagin disueltos en 10 ml de etanol.

Medio de oviposición. El medio utilizado para obtener colecciones de huevos y/o larvas de primer estadio tiene la siguiente composición:

Agar	3 gr
Acido acético	6 ml
Etanol	2 ml
H ₂ O	175 ml

II-c. CARACTERIZACION DE SELECCION SEXUAL RELACIONADA CON EL TAMAÑO CORPORAL (SSRT) EN *Drosophila buzzatii*

II-c1. Diseño Experimental

Las moscas utilizadas para este estudio son derivadas de la población natural de Arroyo Escobar, en la cual los únicos recursos tróficos y reproductivos para *D. buzzatii* son los tejidos en putrefacción de *Opuntia vulgaris*, brevemente denotados como "sustratos."

Se colectó un total de 50 sustratos durante Abril de 1994, los cuales se aislaron en bolsas plásticas y se transportaron al laboratorio. Las moscas de *D. buzzatii* que emergieron de estos sustratos se colectaron diariamente, usando un tubo aspirante introducido dentro de las bolsas. Grupos de 10 moscas de cada sexo se pusieron en frascos estériles de vidrio de 95 x 35 mm, conteniendo 11 ml de medio de cultivo de David (1962). Se estableció un total de ocho

de estos cultivos como líneas independientes, transfiriendo para cada generación 15 machos y 15 hembras de cada línea a un tubo nuevo con 11 ml de medio de cultivo de David (1962). A partir de la tercer generación de cada línea se obtuvieron moscas axénicas (*i.e.*, libres de otros organismos vivos) usando el procedimiento que se describe más adelante. Con estas moscas se hicieron dos experimentos de apareamiento en masa a temperatura ambiente (20-23°C): el experimento 1 se hizo con *machos axénicos*; el experimento 2 se realizó con machos tratados con una dieta de levaduras (*machos no axénicos*). En ambos experimentos se usaron sólo hembras axénicas (ver *Experimento de Apareamiento en Masa*).

Obtención de Moscas Axénicas. Para obtener moscas axénicas a partir de la tercera generación de cada línea, se utilizó el procedimiento de Starmer y Gilbert (1982). Este procedimiento consiste en desinfectar la superficie de los huevos exponiéndolos a una solución acuosa de 60% de hipoclorito de sodio durante 15 minutos. Para tal fin, se pusieron grupos de 10 hembras fecundadas de la segunda generación de cada línea en cajas acrílicas de 60 mm de diámetro y 70 mm de alto, conteniendo 6.5 ml de medio para oviposición. Luego de dos días se sacaron las hembras de estas cajas, y el tratamiento esterilizante de la superficie de los huevos se aplicó directamente sobre la superficie del agar del medio de ovipuesta conteniendo los huevos de la tercer generación.

En condiciones constantes de temperatura de cultivo y densidad larvaria, la variabilidad fenotípica del tamaño corporal disminuye sustancialmente en *Drosophila* (Pantelouris, 1957; Tantaway, 1964; Robertson, 1987). Para generar variación fenotípica del tamaño corporal, los cultivos axénicos se replicaron en dos temperaturas, 13±2 y 26±2 °C. usando condiciones no controladas de densidad larvaria. Las moscas axénicas que emergieron de estos cultivos, se colectaron como adultos vírgenes separando los machos y las hembras

antes de que ellos arribaran a la madurez sexual (24 h luego de la eclosión). Estas moscas se agruparon sobre ambas temperaturas de cultivo a través de todas las líneas, y se mantuvieron separadas por sexo hasta el momento del experimento de apareamiento en masa.

Obtención de Machos No Axénicos. Las levaduras son una fuente de alimento primordial para *Drosophila* (Begon, 1982), y son un componente básico de la flora asociada a los sustratos de *Opuntia* (Barker y col., 1984, 1987). Con el fin de emplear la misma flora de levaduras utilizada por *D. buzzatii* en la naturaleza, se colectaron sustratos de *O. vulgaris* en la población natural de Arroyo Escobar. Los sustratos en los que se observaron larvas de *D. buzzatii*, se abrieron asépticamente y se tomaron de ellos extractos de 30 ml de material sólido y semilíquido que fueron puestos sobre medio agar-agar dentro de frascos de vidrio estéril (70 mm de alto, 140 mm de diámetro). Para inhibir el crecimiento bacteriano, el medio se acidificó con ácido fosfórico a pH 4 (Barker y col., 1987). Luego, el grupo de machos destinado para el experimento (ii), se puso dentro de estos frascos (en una densidad de veinte por frasco) conteniendo el material rico en levaduras provenientes de los sustratos de *Opuntia*, como único recurso de alimento durante 48 horas.

Experimento de Apareamiento en Masa. Ambos experimentos de apareamiento consistieron en la liberación de moscas vírgenes, de 6 a 8 días de edad, dentro de una caja rectangular y opaca (300 x 200 x 100 mm) con tapa de vidrio incoloro. Las moscas fueron liberadas en una razón de sexos de 50:50 y durante una hora se colectaron todas las parejas en cópula, usando un tubo aspirante previamente esterilizado. Estas moscas se designaron como "apareadas." Las moscas que persistieron en la caja después de una hora de iniciado el experimento se colectaron y designaron como "no apareadas." Los machos apareados y los no apareados se guardaron a -18 °C para su posterior medición. Las

hembras apareadas de cada experimento se guardaron para realizar los cultivos de sus abdómenes que se indican a continuación.

Cultivos de Abdómenes de Hembras. Con el fin de verificar la transmisión de levaduras desde los machos no axénicos a las hembras axénicas durante el cortejo y/o el apareamiento, se disecaron los abdómenes de las hembras apareadas y de las no apareadas, luego se homogeneizaron y plaquearon sobre un medio completo de agar de extracto de levadura (YM, Difco) (Barker y col, 1987). Estos cultivos de abdómenes se incubaron a 23-25 °C durante 2 a 5 días y se realizaron para las hembras de ambos experimentos, 1 y 2, constituyendo los primeros (1) un control negativo, puesto que los machos eran axénicos. La observación de unidades de formación de colonias en estos cultivos permitió verificar la transmisión de levaduras desde los machos no axénicos a las hembras durante el cortejo y/o la copulación (Starmer y col., 1988).

Caracteres Medidos. Los caracteres medidos en los machos de ambos experimentos son: longitud del tórax (LT), longitud del ala (LA), ancho de la cabeza (ACB) y ancho de la cara (ACR) (ver Fig. 1). LT se midió desde la vista lateral y con un aumento de 100 x. Para medir LA, la distancia desde el punto de intersección de la vena III con la vena anterior hasta el extremo distal de la vena III, se extirpó el ala izquierda y se la midió sobre un portaobjetos usando un aumento de 50 x. Para medir ACB y ACR, la cabeza removida del cuerpo se observó desde su vista frontal con un aumento de 100 x. Todas las mediciones se realizaron usando el micrómetro del ocular de un microscopio Wild.

II-c2. Análisis de Datos

Siguiendo el protocolo estándar (Lande y Arnold, 1983; Schluter y Nychka, 1994), todas las mediciones (en mm) se transformaron a logaritmos naturales y cada carácter se estandarizó para que tenga una distribución con media cero y unidad de varianza, con el fin de obtener una escala apropiada para los análisis. Esta transformación corresponde a la expresión: $(x_i - X) / DE$, donde x_i es la medida del carácter en el individuo i transformada a logaritmo natural, X es la media muestral de los valores medidos transformados y DE es la desviación estándar de los mismos.

Estimación de la Aptitud Copulatoria Relativa. La aptitud copulatoria absoluta se midió como estado copulatorio, asignando 0 a los machos no apareados y 1 a los apareados. La aptitud copulatoria relativa (AR) se estimó dividiendo la aptitud absoluta por la aptitud media (*i.e.*, la proporción de machos apareados) en el experimento (Lande y Arnold, 1983).

Estimación de Diferenciales Univariados de Selección Direccional. El efecto total de la selección direccional sobre el cada carácter se midió como diferencial de selección direccional estandarizado (S'). Este diferencial representa la suma del efecto de la selección directa sobre un carácter dado, más los efectos indirectos debidos a la selección actuando sobre caracteres fenotípicamente correlacionados con éste. Los diferenciales S' se calcularon como la covarianza entre la aptitud copulatoria relativa (AR) y cada carácter estandarizado (Lande y Arnold, 1983). Esta covarianza es matemáticamente equivalente a la diferencia, en unidades de desviación estándar fenotípica, entre los valores medios del carácter en la muestra post- (machos apareados) y pre-selectiva (todos los machos) (Robertson, 1966; Price, 1970).

Estimación del Gradiente de Selección Direccional. La intensidad de selección direccional directa sobre cada carácter se estimó mediante el gradiente de selección direccional estandarizado (β') (Lande y Arnold, 1983). Los coeficientes β' se calcularon por el método de Lande y Arnold (1983), el cual se basa en la regresión lineal múltiple de aptitudes relativas sobre los caracteres estandarizados. Los coeficientes de regresión parcial de este modelo de regresión son diferenciales de selección, intervienen en ecuaciones formales del cambio evolutivo, y estiman la fuerza directa de selección sobre cada carácter (Lande y Arnold, 1983). Sin embargo, cuando los caracteres (variables independientes en el modelo de regresión) están altamente inter-correlacionados, el gradiente de selección estimado, como así también la evaluación de su significación estadística, puede resultar afectado por un problema muy frecuente en estadísticas multivariadas: el problema de multicolinealidad (ver Sokal y Rohlf, 1981; Mitchell-Olds y Shaw, 1987; Crespi y Bookstein, 1989). Cuando los caracteres están muy correlacionados la mejor solución a este problema es estimar β' sobre los ejes ortogonales de un Análisis de Componentes Principales (ACP), computando la regresión de aptitudes relativas (variable dependiente) sobre los primeros dos o tres componentes principales de la matriz de varianzas y covarianzas fenotípicas (Lande y Arnold, 1983; Mitchell-Olds y Shaw, 1987). Aunque los componentes principales (CPs) de un ACP sin rotación son ortogonales, la rotación varimax, que mantiene la ortogonalidad de componentes, simplifica la interpretación al minimizar el número de variables que tienen altos pesos sobre cada componente. Por esta razón, se usó la rotación varimax para extraer los primeros tres CPs de la matriz de varianzas y covarianzas fenotípicas asociada a los datos estandarizados. Luego, la regresión múltiple de la aptitud copulatoria relativa (AR) sobre los CPs rotados estimó el β' de estas variable compuestas, y su significación se evaluó con la razón del F

(Lande y Arnold, 1983). Todos estos análisis se realizaron con el programa de computador SPSS (Nie y col., 1975).

Finalmente, debido a que la variable dependiente (aptitud copulatoria) es dicotómica, se realizó una regresión múltiple en la escala logística (como sugiere Schluter, 1988) usando el programa de computador STATISTICS (1988). La variable dependiente de esta regresión es la aptitud copulatoria no estandarizada, que toma los valores 0 ó 1. Con la intención de evaluar la robustez de los resultados, esta regresión se realizó tanto para los caracteres originales como para las variables compuestas del ACP.

Estimación del Gradiente de Selección Direccional sobre Caracteres Ajustados por Tamaño. Como un ciclo complementario de evaluación de la estructura de correlación de los caracteres con la aptitud copulatoria (AR), β' también se estimó en un estilo "path" analítico (Crespi y Bookstein, 1989; Crespi, 1990), evaluando la regresión múltiple de AR sobre los caracteres ajustados por tamaño. Específicamente se usó el método de Burnaby (1966) (ver abajo) para remover la variación en el tamaño general desde los caracteres originales. Entonces, β' para los caracteres así ajustados por tamaño estimó la fuerza directa de la selección sobre cada carácter "libre" de la variación en tamaño general. Para corregir el problema de multicolinealidad, se usó el método de todos los subconjuntos (Hocking, 1976) para encontrar el mejor modelo de variables predictoras en la regresión. Este procedimiento, disponible en el programa STATISTICS, evalúa todos los subconjuntos posibles de variables predictoras, y escoge aquél que produce el más alto coeficiente de determinación múltiple R^2 (Hocking, 1976). Finalmente, se estimó β' para las variables sugeridas por este método.

Método de Burnaby. Un problema básico en estudios morfométricos es la separación de la variación en el tamaño corporal *versus* la

variación en la forma corporal. Cuando la intención es remover la variación morfométrica debido al tamaño, la primer pregunta que surge es cuál de las variables representa al tamaño. Una solución *ad hoc* es usar variables tales como la longitud total o el peso corporal como un índice de tamaño, y luego otras variables ("consideradas" menos relacionadas con el tamaño) pueden ser ajustadas por tamaño al reemplazarlas por los residuales de sus regresiones sobre la variable de tamaño. Sin embargo, tales residuales no son satisfactorios como una medida morfométrica libre de tamaño, porque ellos siempre comparten un factor que representa el error de medida de la variable considerada como tamaño (Bookstein y col., 1985, p. 114). De este modo, tales residuales comparten un factor de varianza común debida al tamaño. Una estima adecuada del tamaño general debe reducir sustancialmente este efecto. Por eso, el término tamaño debe interpretarse como un factor general (una variable latente que es una combinación lineal de una serie apropiada de variables. Ver Bookstein y col., 1985) basado sobre las mediciones de varias variables observadas, en lugar de una sola variable o carácter que puede ser medida directamente. Hay distintas formas de obtener un factor de tamaño general, pero la más común es calcular el primer componente principal de una matriz de varianzas y covarianzas asociada a caracteres morfométricos transformados a una escala logarítmica (Jolicœur, 1963; Bookstein y col., 1985; Rohlf y Bookstein, 1987). Este es el método que se usó en este estudio, considerando al tamaño como el primer autovector de la matriz de varianzas y covarianzas fenotípicas dentro de los grupos analizados, y a la forma como toda variación ortogonal a este factor de tamaño general. Entre otros métodos de ajuste de tamaño, el método de Burnaby (1966) se usó en el trabajo presente por ser el único que simplemente construye variables ortogonales a este factor general del tamaño.

Hay varios algoritmos posibles del método de Burnaby (1966), pero uno muy compacto es el siguiente (Rohlf y Bookstein, 1987):

Si F_1 es el vector de orden p del factor general de tamaño, entonces la matriz

$$L = I_p - F_1 (F_1^t F_1)^{-1} F_1^t$$

proyecta cualquier vector sobre el subespacio complementario a F_1 . El símbolo t denota la matriz transpuesta. "L" es una matriz simétrica de orden $p \times p$, e " I_p " es la matriz identidad (1 sobre la diagonal, 0 fuera de la diagonal) de orden $p \times p$. Entonces, el vector j perpendicular al factor F_1 (i.e., vector de forma) será:

$$H'_j = L E_j$$

donde E_j es el autovector j de la matriz de varianzas y covarianzas totales, T . (Esta matriz T se calcula sobre las desviaciones de las observaciones respecto al vector de medias generales, y corresponde a la matriz de cuadrados medios totales en el análisis multivariado de la varianza, MANOVA.) Finalmente, se puede computar una matriz de datos ajustados (X') para F_1 , según:

$$X' = X L$$

Este procedimiento es matemáticamente equivalente a proyectar a los individuos sobre los autovectores dentro de grupos, reemplazar con ceros a los valores para las proyecciones sobre el primer eje, y luego rotar los individuos al espacio original. Los datos ajustados de esta forma tendrán valores diferentes de los originales, puesto que los efectos de las diferencias en el tamaño general dentro de grupos han sido completamente removidos, y los puntos de datos estarán ahora sobre un hiperplano dentro del espacio original.

Este procedimiento ha sido usado para distintos objetivos de esta tesis, y en todos los casos el análisis se realizó usando el programa BURNABY disponible con Rohlf y Bookstein (1990).

Estimación No Paramétrica de la Superficie de Selección Individual. La función de aptitud puede ser de una forma muy simple (e.g., lineal o cuadrática) o una muy compleja. Consecuentemente, la estimación de la verdadera superficie de selección requiere de un método que no haga suposiciones a priori sobre su forma. La técnica estadística que actualmente permite tal estimación libre de suposiciones apriorísticas es aquella conocida como *spline* cúbica (Schluter, 1988; Wabba, 1990). Una *spline* cúbica es una colección de funciones polinomiales cúbicas puestas juntas en forma tal que la función ajustada pasa suavemente a través de todos los puntos de datos observados (Schluter, 1988; Wabba, 1990). Esta curva no paramétrica permite estimar una amplia variedad de funciones de aptitud para un carácter dado. A diferencia de una regresión polinomial estándar que produciría un ajuste global a los datos, esta técnica no paramétrica produce una estima más local de la superficie de regresión (ver Schluter, 1988, para detalles). La suavidad, definida por la cantidad de picos y valles, de un ajuste de la curva *spline* a cualquier conjunto de datos está controlada por una constante positiva, llamada lambda o "parámetro de suavidad" (Graven y Wabba, 1979). Si lambda es cercana a cero la curva será extremadamente áspera (numerosos picos y valles), mientras que cuando lambda es grande la curva es una recta. El mejor lambda para los datos en mano se elige objetivamente por el poder predictivo de la función correspondiente, el cual puede evaluarse por el método conocido como "validación cruzada" (Graven y Wabba, 1979; Schluter, 1988). Este método involucra eliminar una observación a la vez del conjunto de datos y predecir la aptitud del individuo faltante con la curva *spline* cúbica ajustada para los datos restantes. El valor de validación de cruce generalizado (VCG) es una medida del error predictivo total asociado con un valor de lambda dado (Graven y Wabba, 1979; Schluter, 1988), y de aquí que el mejor valor de lambda es aquél que minimiza el valor de VCG (para ejemplos ver Schluter, 1988). En el estudio presente, esta técnica se aplicó usando

el programa GLMS (versión 15, septiembre de 1987) generosamente provisto por Dolph Schluter. Los errores estándar de la función estimada se calcularon sobre 400 réplicas "bootstrap" (Efron, 1982), usando el mismo programa.

Recientemente, Schluter y Nychka (1994) extendieron esta técnica para el caso multivariado, en el cual la función se ajusta considerando más de un carácter. El procedimiento que ellos recomiendan se basa en la técnica de *Proyección Seguida de Regresión* (Friedman y Stuetzle, 1981), y asume que la selección no actúa fuertemente sobre todas las dimensiones del fenotipo. Entonces el método de *Proyección Seguida de Regresión* toma secciones de la superficie en las direcciones en las cuales la selección actúa más fuertemente. En esta aproximación, la superficie (f) de la selección toma la forma de:

$$\begin{aligned} f(z) &= f_1(a'_1 z) + f_2(a'_2 z) + \dots + f_p(a'_p z) = \\ &= f_1(x_1) + f_2(x_2) + \dots + f_p(x_p) \end{aligned}$$

donde f_1 , f_2 , ..., f_p son funciones de regresiones de variables únicas, y z es el vector de caracteres fenotípicos originales estandarizados. Cada x_j es una variable única, calculada como una combinación lineal de los caracteres originales. En el nombre *Proyección Seguida de Regresión*, el término "proyección" hace referencia a los vectores de constantes a_j que identifican las direcciones de cada sección de la superficie de selección individual, y el término "seguida de regresión" se interpreta como las etapas computacionales necesarias para encontrar dichas direcciones (ver Schluter y Nychka, 1994).

En el caso específico de los datos presentes, el tamaño de muestra restringió el análisis a una única sección de la superficie de selección, y de este modo sólo se pudo examinar la mejor primera dirección (a_1) -aquella reteniendo la mayoría de la variación en la

aptitud copulatoria (Schluter y Nychka, 1994). Las etapas computacionales se realizaron con la versión 1.2 del programa "pp" generosamente cedido por D. Schluter y D. Nychka.

II-d. ESTIMACION DE PARAMETROS GENETICOS (HEREDABILIDADES Y CORRELACIONES GENETICAS)

II-d1. Procedimientos experimentales.

Colecciones de Moscas Salvajes. Las estimaciones se realizaron sobre moscas derivadas de las poblaciones naturales de Arroyo Escobar y Otamendi. Para ambos casos se establecieron isolíneas (líneas derivadas de una única hembra) a partir de hembras salvajes inseminadas en la naturaleza. Tales moscas se capturaron con redes entomológicas, empleando banana fermentada como cebo colocado en baldes de 300 mm de diámetro. El número de baldes usados en cada colección fue de 20, los cuales fueron distribuidos al azar, sobre el suelo, a lo largo del área de la población. Esta técnica de muestreo es ampliamente usada en estudios ecogenéticos con *Drosophila*.

Diseño Experimental. Para las estimaciones en la población de Arroyo Escobar, se colectaron moscas salvajes durante el período 15-17 de marzo de 1993, siguiendo el procedimiento indicado previamente. Luego de la colección, las moscas fueron anestesiadas con eter sulfúrico y separadas por sexo observando la genitalia con una lupa. Las hembras se pusieron individualmente en tubos estériles de vidrio (95 x 20 mm), conteniendo 5 ml de medio del cultivo estéril de David (1962). La mayoría de las hembras colectadas estaban inseminadas, resultando setenta isolíneas efectivas. De la G1 de cada isolínea se

tomaron siete machos y siete hembras vírgenes, transfiriéndose un macho y una hembra de cada isolínea (140 moscas) a cada una de siete cajas plásticas (100 x 200 x 300 mm) dentro de las cuales se colocaron dos cajas de Petri (70 mm de diámetro) con medio de ovipuesta. Las moscas se aparearon libremente dentro de estas cajas plásticas, y luego de 72 hrs se colectaron diariamente muestras de treinta huevos tomados de las cajas de Petri. Estas muestras se sembraron en tubos (22 mm de diámetro, 90 mm de altura) que contuvieron 5 ml de medio de cultivo de David (1962). De cada caja de apareamiento se realizaron veinte cultivos de esta clase, a la temperatura constante de 25 °C. Con este procedimiento se mantuvieron constantes los principales factores ambientales que afectan el desarrollo de caracteres morfométricos en *Drosophila*: alimento, densidad larvaria y temperatura (Pantelouris, 1957; Tantaway, 1964; Robertson, 1987). Los descendientes de estos últimos cultivos fueron los progenitores del experimento de heredabilidad, con los cuales se establecieron parejas colocando dentro de un tubo un macho y una hembra vírgenes que emergieron de cultivos diferentes. De esta forma se hicieron ciento cincuenta parejas. La hembra de cada uno de estos cruzamientos se transfirió a un camarilla plástica diseñada para coleccionar huevos. Estas camarillas consistieron de un cilindro de plástico transparente (20 mm de diámetro, 30 mm de altura) con tapa de algodón, con 3 ml de medio de ovipuesta. De estas camarillas se tomó una muestra de treinta huevos (150 muestras, una de cada camarilla) la cual fue sembrada en un tubo (22 mm de diámetro, 90 mm de altura) que contuvo 5 ml de medio de cultivo de David (1962). Finalmente, los descendientes de estos últimos cultivos y los progenitores de los mismos, se guardaron a -18 °C para su posterior medición. En total resultaron 105 familias, de las cuales se midieron ambos padres, tres hijos y tres hijas.

Para las estimaciones en la población de Otamendi se realizó el mismo diseño experimental que en el caso de la población de Arroyo Escobar, con la únicas diferencias que: (i) el número de familias que

resultaron efectivas en el experimento fue sólo de 71; (ii) para reducir el número de mediciones, se midieron ambos padres y sólo dos hijos y dos hijas de cada familia. El punto (ii) (cuatro hijos medidos, en lugar de seis) se justificó porque en esta población las estimaciones se realizaron únicamente para caracteres del tórax y alas (ver abajo), que en la población de Arroyo Escobar, examinada previamente, exhibieron altas heredabilidades. De este modo, dado que no se realizaron estimaciones para caracteres de bajas heredabilidades (Falconer, 1989), el número de hijos medidos por familia para la población de Otamendi resultó suficiente para dar estimas relativamente precisas.

Caracteres Medidos. Los caracteres medidos para las estimaciones sobre la población de Arroyo Escobar fueron: longitud del tórax (LT), ancho del escutelo (AE), longitud del ala (LA), ancho del ala (AA), ancho de la cabeza (ACB), ancho de la cara (ACR) y largo del ojo (LO). Los caracteres medidos para las estimaciones sobre la población de Otamendi fueron: LT, AE, LA y AA. Cada uno de estos caracteres se detallan en la Fig. 1.

Todas la mediciones se realizaron con el micrómetro del ocular de un microscopio estereoscópico, Wild. Todos los caracteres, excepto LA, se midieron a 100 x de aumentos (1 unidad ocular= 0.0125 mm); LA se midió a 50 x de aumentos (1 unidad ocular= 0.025 mm).

El carácter LT se midió observando a la mosca desde la vista lateral. Para medir AE se colocó a la mosca sobre una superficie de agar y se la observó desde la vista dorsal. Para medir los caracteres de las alas, el ala izquierda de cada mosca se estirpó con agujas de disección usando una lupa. Luego se colocó el ala sobre un portaobjetos con una gota de laca a la piroxilina diluida al 50% con "thinner," y sobre ella se adhirió un cubreobjetos. De esta forma las alas quedan extendidas, permitiendo medir correctamente LA (distancia desde el punto de intersección de la vena lll con la vena anterior

hasta el extremo distal de la vena III) y AA (distancia entre los extremos distales de las venas II y V). Para medir los caracteres ACB, ACR y LO, se extirpó y observó la cabeza desde su vista frontal.

II-d2. Análisis de datos

Estimación de Heredabilidades. Todas las estimaciones se basaron sobre datos tomados como unidades oculares y transformados a logaritmos naturales. La heredabilidad en sentido estricto (h^2) de cada carácter, y su error estándar, se estimó mediante las regresiones lineales de (i) progenie media sobre padre, (ii) progenie media sobre madre y (iii) medias de progenies sobre medias de progenitores (Falconer, 1989). En los modelos de regresión (i) y (ii), h^2 es igual a dos veces la pendiente estimada para la recta de regresión, mientras que en el caso (iii), h^2 es igual a dicha pendiente (Falconer, 1989). El error estándar de las estimas (i) y (ii) es igual a dos veces el de la pendiente de la recta estimada, y el error estándar de la estima (iii) equivale al de la pendiente estimada. Debido a que los caracteres medidos presentan dimorfismo sexual (las hembras son más grandes que los machos), se aplicó una corrección ajustando los valores medidos en machos a los valores equivalentes en las hembras. Esta corrección consistió en multiplicar a los valores de los machos por la razón valor medio en hembras sobre valor medio en machos, el cual es un procedimiento muy usado (e.g., Mérila y col., 1993). Todas las regresiones fueron inspeccionadas para valores atípicos, "outliers." Debido a que la eliminación de valores atípicos no afectó seriamente a las estimas, los resultados presentados corresponden al conjunto completo de datos.

Estimación de Correlaciones Genéticas. Como en el caso de heredabilidades, las estimaciones de correlaciones genéticas se

basaron sobre los datos ajustados por sexo y transformados a logaritmos naturales de las unidades oculares. La transformación logarítmica es útil para aproximar la distribución de los datos a una distribución normal multivariada de los valores reproductivos (Falconer, 1989). Las correlaciones genéticas entre caracteres se calcularon mediante las covarianzas entre los valores medios de las progenes y los valores medios de progenitores (Falconer, 1989). Esto produce dos estimas de correlaciones genéticas para cada par de caracteres X e Y:

$$r_1 = \text{cov}(X', Y) / [\text{cov}(X', X) \text{cov}(Y', Y)]^{0.5}$$

$$r_2 = \text{cov}(X, Y') / [\text{cov}(X', X) \text{cov}(Y', Y)]^{0.5}$$

el símbolo X' o Y' denota valores de progenie y su ausencia (X o Y) valores en los progenitores; r_1 y r_2 son estimas independientes y la media aritmética de ambas estimas es la estima final de las correlaciones genéticas (van Noordwijk, 1984; Merila y Gustafsson, 1993). El error estándar de cada correlación genética se estimó usando la fórmula de Reeve (1955):

$$ES = (1 - r^2/4) [(ESh^2_y ESh^2_x / h^2_y h^2_x)]^{0.5}$$

donde ES es el error estándar de la correlación genética (r) entre los caracteres X e Y, y ESh^2 es el error estándar del valor de heredabilidad del carácter X o Y.

Estimación de Matrices de Varianzas y Covarianzas Genéticas.

Las correlaciones genéticas no pueden usarse directamente para predecir la respuesta a la selección. Para cada matriz de correlación particular puede existir un número infinito de matrices de covarianzas, y diferentes matrices de covarianzas con idénticas estructuras de correlación pueden producir trayectorias evolutivas cualitativamente diferentes bajo presiones selectivas idénticas (Kohn

y Atchley, 1988; Cheverud y col., 1989). Por tal motivo, también se calculó la matriz de varianzas y covarianzas genéticas (G) a partir de los datos usados para estimar las correlaciones correspondientes, transformados como se indicó arriba. Las varianzas genéticas se calcularon como dos veces la covarianza entre el mismo carácter en las progenies medias y los progenitores medios, dado que el término de covarianza pura estima sólo la mitad de la varianza genética aditiva del carácter (Falconer, 1989). La covarianza genética entre cada par de caracteres se calculó como la suma de dos covarianzas recíprocas

$$COV_{\mathbf{e}} = COV((X'', Y'') + COV(Y'', X''))$$

donde '' denota los valores de padres medios y ' los valores de progenies medias.

II-e. MOSCAS DE *Drosophila buzzatii* y *D. koepferae* DERIVADAS DE LA POBLACION NATURAL DE QUILMES

Las moscas derivadas de la población de Quilmes que fueron examinadas, representan muestras aleatorias de cultivos obtenidos a partir de isolíneas de hembras colectados en la naturaleza.

Se midió una muestra aleatoria de *D. buzzatii* y *D. koepferae* cultivadas en un medio preparado con una suspensión de tejidos licuados de: (a) *Opuntia sulphurea* y (b) *Trychocereus terscheckii* (ver abajo). Experimentos previos indicaron que el valor medio de cada carácter morfométrico medido no varía entre las moscas de *D. buzzatii* cultivadas en los medios a, b y de David (1962), al menos cuando se cultivan a 25 °C (Norry, F., Fanara, J. y Hasson, E., datos no publicados). Para ambas especies de *Drosophila*, se midieron 50 moscas

de cada sexo cultivadas en el medio de *O. sulphurea*, y 50 moscas de cada sexo cultivadas en el medio de *T. terschekii*. De este modo, se midió un total de 200 moscas de *D. buzzatii* y 200 de *D. koepferae*, derivadas de la población de Quilmes.

Todas las mediciones fueron realizadas por el tesista. Estas moscas fueron provistas amablemente por el Lic. Juan J. Fanara y el Dr. Esteban Hasson (Universidad de Buenos Aires), y una reseña de los muestreos y procedimientos seguidos por estos investigadores para obtener tales moscas es la siguiente:

Se obtuvo una muestra de hembras salvajes colectadas en la población natural de Quilmes (colección dirigida por el Prof. A. Fontdevila, Univ. Autónoma de Barcelona). Tanto *D. buzzatii* como *D. koepferae* habitan en esta población, siendo morfológicamente casi indistinguibles. Las isolíneas de las hembras colectadas en el campo se separaron por especie, según la inspección citológica de los cromosomas politénicos de las larvas de tercer estadio. Con estas hembras se estableció un total de 73 isolíneas de *D. koepferae* y 48 de *D. buzzatii*. De éstas se colectó la progenie en la forma de adultos vírgenes los cuales se cruzaron al azar para establecer los cultivos en el laboratorio. De la G2 de estos cultivos se tomaron al azar 100 moscas de cada sexo las cuales se transfirieron a una caja plástica provista con cajas de Petri conteniendo medio de ovipuesta. Para cada especie se hicieron dos réplicas de estas cajas de ovipuesta, y se colectaron muestras de larvas de primer estadio tomadas de las mismas. Las larvas colectadas se sembraron en tubos con 5 ml (40 larvas por tubo) de uno de dos tipos de medio de cultivo: (a) medio preparado con tejidos de *O. sulphurea*; (b) medio preparado con tejidos de *T. terschekii*. Para cada tipo de medio se realizaron diez cultivos los cuales crecieron a la temperatura de 25 ± 1 °C. Los medios (a) y (b) se prepararon con muestras del cactus correspondiente colectadas en el campo y mantenidas a -18 °C hasta su utilización. La preparación del medio consistió en licuar los tejidos del cactus, y el material

licuado puesto en los tubos de cultivo se autoclavó a 1 atm durante 20 min. Luego de este autoclavado, a cada tubo se le agregaron algunas gotas de líquido extraído de un cultivo de la microflora asociada a la necrosis de cada especie de cactus en la naturaleza.

Mediciones Morfométricas. Los caracteres que se midieron en estas moscas son los mismos que se detallan para la población de Arroyo Escobar en II-d1 (Fig. 1).

II-f. COMPARACION DE MATRICES DE VARIANZAS Y COVARIANZAS GENÉTICAS, DE CORRELACIONES GENÉTICAS Y DE CORRELACIONES FENOTÍPICAS ESTIMADAS

La comparación de matrices de covarianzas, tales como matrices G, o de correlaciones, puede interpretarse como una serie de hipótesis anidadas: (H1) identidad de matriz (igualdad de los elementos correspondientes), (H2) proporcionalidad de matriz (los elementos de una matriz son un escalar múltiple de los elementos en la otra matriz), y (H3) similitud en estructura de componentes principales (Flury, 1987; Arnold, 1992; Cowley y Achtley, 1992a). Las primeras dos hipótesis pueden interpretarse representando los elementos de la matriz (covarianzas o correlaciones) en un sistema de coordenadas, horizontal y vertical, tal que los componentes fuera de la diagonal de una matriz se grafican versus los componentes correspondientes en la otra matriz. Bajo H1, los puntos en el gráfico se alinearán en una recta de 45°. Bajo H2, los puntos se alinearán en una recta que pase por el origen. Esta aproximación es la que se usó para la comparación

de matrices de covarianzas y correlaciones estimadas. La hipótesis H3 no fue examinada, porque el procedimiento corriente depende del supuesto de normalidad multivariada.

Para el caso de las matrices de correlaciones fenotípicas se calcularon las correlaciones de rangos de Spearman (r_s) y de Kendall (r_k) entre los elementos de ambas poblaciones comparadas, como una media útil de la similitud entre tales matrices. Mientras estos coeficientes dan una medida útil del grado de similitud entre matrices (Kohn y Atchley, 1986), su valor como prueba estadística para este fin requiere cautela a causa de la ausencia de independencia entre los elementos de una matriz de correlación. Naturalmente, tanto las pruebas paramétricas como las no paramétricas de asociación entre dos variables se basan en el supuesto de independencia mutua dentro de las muestras, y los elementos de matrices de correlaciones o covarianzas claramente no satisfacen tal supuesto. Una prueba paramétrica para evaluar la similitud entre matrices de covarianzas es aquella conocida como "prueba de la razón de log-probabilidad" (Morrison, 1976), la cual usa los logaritmos de los determinantes de las matrices de varianzas y covarianzas, y es muy sensible a la falta de normalidad multivariada. La utilidad de esta prueba para la comparación de matrices de covarianzas o de correlaciones genéticas o fenotípicas es muy limitada, porque dichas matrices suelen ser singulares, o sus determinantes son cercanos a cero, y no se cumple el supuesto de normalidad multivariada (e.g., Kohn y Atchley, 1988). Shaw (1991) desarrolló un método paramétrico para poner a prueba la hipótesis H1, pero este también requiere que las matrices comparadas sigan una distribución normal multivariada y su potencia depende de la precisión con la que se estimó cada elemento de las matrices (Cowley y Achley, 1992a). Dadas a estas tremendas dificultades, la alternativa de usar H2, en lugar de H1, como hipótesis nula, parece más adecuada (Cowley y Achley, 1992a). H2 puede evaluarse con métodos no paramétricos basados en procedimientos de permutación de matrices (Lovsvold, 1986; Kohn y

Atchley, 1988; Cowley y Achley, 1992a) tales como la prueba de Mantel (ver Dietz, 1983; Hurbert, 1987). El estadístico de la prueba de Mantel (1967) es: $Z = \sum X_{ij} Y_{ij}$, donde X_{ij} e Y_{ij} son los elementos fuera de la diagonal de las matrices X e Y . Si dos matrices muestran relaciones similares (*i.e.*, son al menos proporcionales), entonces Z es grande con respecto a lo que se esperaría por azar. Una excelente evaluación estadística del valor de Z es comparar su valor observado, con su distribución permutacional. Dicha distribución es aquella obtenida si se compara una matriz dada, X , con todas las matrices posibles obtenidas al permutar al azar el orden de los elementos en la otra matriz, Y . En la práctica, en lugar de usar la población completa de permutaciones posibles ($N!$), se usa una muestra de permutaciones obtenidas al azar. Ya que la permutación del orden de los objetos no afecta a la media ni a la varianza de una matriz, el coeficiente de correlación de Pearson está monótonamente relacionado con Z (Smouse y col., 1986). La significación de este índice se evalúa bajo la hipótesis nula que la similitud observada no es mayor que la esperada si las matrices estuvieran estructuradas al azar. El nivel de significación, p , obtenido con este método es la probabilidad de obtener un valor $[Z = (X_{\text{observado}} - X_{\text{esperado}}) / \text{VAR}(X_{\text{esperado}})^{0.5}]$ más extremo que el valor obtenido asumiendo que X sigue aproximadamente una distribución Tipo III de Pearson con la media y varianza muestrales de la distribución permutacional de Z .

En el trabajo presente, se evaluó la similitud en la estructura de las matrices estimadas comparando el valor del estadístico estandarizado de similitud de matriz (Z') con el de su distribución permutacional, utilizando el programa NTSYS (Rohlf, 1988).

II-g. PRUEBAS DE HIPOTESIS ACERCA DE LA ESTRUCTURA DE CORRELACIONES FENOTIPICAS Y GENETICAS

En el trabajo presente, sólo las matrices de correlaciones y de varianzas y covarianzas genéticas estimadas para moscas derivadas de la población de Arroyo Escobar, son de interés para evaluar la estructura de correlaciones genéticas con respecto al modelo del desarrollo de discos imaginales. Por el contrario, la matriz G estimada en la población de Otamendi claramente no es de utilidad para este fin, porque todos los caracteres medidos derivan de un mismo disco imaginal (el disco ala). De los caracteres asociados a la matriz G estimada en la población de Arroyo Escobar (II-d1), TL, AE, LA y AA derivan del disco imaginal "ala" y todos los caracteres medidos de la cabeza (ACB, ACR, y LO) derivan del disco imaginal "ojo-anténico". Consecuentemente, la matriz G estimada en la población de Arroyo Escobar brinda la posibilidad de examinar si, para estos dos discos imaginales, las correlaciones genéticas son más altas entre caracteres derivados de un mismo disco imaginal que entre caracteres derivados de diferentes discos.

Las mediciones realizadas para estimar las matrices de correlaciones y de varianzas y covarianzas genéticas en la población de Arroyo Escobar, también permitieron estimar la matriz de correlaciones fenotípicas asociada a los mismos caracteres ACR, ACB, LO, LT, AE, LA y AA (Fig. 1). Además, estos caracteres se midieron con idénticos procedimientos en las moscas de *D. buzzatii* y *D. koepferae* derivadas de la población de Quilmes (ver II-e), permitiendo estimar en cada caso la matriz de correlaciones fenotípicas correspondiente. Consecuentemente se dispuso de un total de tres matrices de correlaciones fenotípicas para los mismos caracteres (LT, AE, LA, AA, ACB, ACR y LO), dos de ellas estimadas en moscas derivadas de dos poblaciones naturales muy diferentes de *D. buzzatii* (Arroyo Escobar y

Quilmes), y la otra estimada en moscas derivadas de una población de *D. koepferae* (Quilmes). Estas tres matrices de correlaciones se usaron para examinar si las correlaciones fenotípicas son mayores dentro que entre discos imaginal. La razón para usar la matriz de correlaciones, en lugar de matrices de varianzas y covarianzas, es que ésta representa la asociación entre los caracteres en una escala estandarizada.

Para examinar la estructura de correlaciones entre partes corporales se evaluó la similitud entre cada matriz de correlaciones genéticas/fenotípicas estimada y la matriz de hipótesis formulada, para lo cual se usó la prueba de Mantel descrita arriba (Cowley y Atchley, 1990a). Los elementos de la matriz de hipótesis formulada, reflejan la esperaza a priori de la estructura de correlación, y la hipótesis nula puesta a prueba es que la similitud entre la matriz observada y la matriz de hipótesis no es mayor que la esperada si las matriz observada estuviera estructurada al azar. Un resultado estadísticamente significativo de esta prueba se interpreta como que la estructura de correlación observada es consistente con la estructura de la matriz de hipótesis. Específicamente, la matriz de hipótesis formulada en el presente trabajo se refiere a la correlación entre caracteres derivados de un mismo disco imaginal y la correlación entre caracteres derivados de diferentes discos. Los elementos de esta matriz fueron 1 si los caracteres correspondientes derivan del mismo disco imaginal, y 0 si ellos derivan de diferentes discos (Cowley y Atchley, 1990). Un procedimiento completamente similar fue aplicado por Cowley y Atchley (1990) para evaluar si los caracteres derivados de un mismo disco imaginal están genética y fenotípicamente más correlacionados entre sí que con caracteres derivados de diferentes discos en *D. melanogaster*.

II-h. ANALISIS DE LA VARIACION EN EL TAMAÑO Y LA FORMA CORPORAL Y
RECONSTRUCCION DE LAS FUERZAS SELECTIVAS RESPONSABLES DE LA
DIVERGENCIA MORFOMETRICA OBSERVADA

Los individuos usados para estos objetivos fueron: (i) moscas de *D. buzzatii* derivadas de la población natural de Arroyo Escobar, (ii) moscas de *D. buzzatii* derivadas de la población natural de Quilmes, y (iii) moscas de *D. koepferae* derivadas de la población natural de Quilmes. Los individuos representantes de la población (i), son una muestra aleatoria de 100 moscas de cada sexo de los progenitores/progenies correspondientes al experimento de heredabilidad indicado en (II-d1). Los individuos representantes de las poblaciones (ii) y (iii) corresponden a las muestras aleatorias obtenidas según se indicó en II-e.

Análisis de la Variación Morfométrica. Como se mencionó en II-c2 (Método de Burnaby), el tamaño general es interpretable como una variable latente, más bien que como una variable directamente medible tal como la longitud total o el peso corporal. Si la muestra de individuos presenta variación en tamaño, entonces el tamaño general puede ser estimado convenientemente por el primer autovector de una matriz de varianzas y covarianzas asociada a caracteres morfométricos (preferiblemente con los datos transformados a una escala logarítmica).

Naturalmente que el primer autovector de una matriz de varianzas y covarianzas sólo da la dirección en la cual hay máxima variación en la población. Sólo en el caso de existir variación en el tamaño corporal, esta dirección está muy relacionado con el tamaño, y toda variación ortogonal a esta dirección es interpretable como variación en la forma corporal (Jolicoeur, 1963; Bookstein y col., 1985; Rohlf y Bookstein, 1987). En caso contrario el primer componente

principal de tales matrices podría reflejar un factor no relacionado con el tamaño. En el caso presente, la variación en el tamaño corporal sería sustancial, y por ende el primer componente principal de la matriz de varianzas y covarianzas asociada a los caracteres medidos es interpretable como un factor general que representa al tamaño corporal. Entonces, se aplicó el método de Burnaby (1966) descrito en II-c2, para remover la variación en el tamaño corporal general. Mientras el término forma está sujeto a diferentes definiciones, en este estudio la "forma" se refiere al tamaño de una parte corporal relativo al tamaño general. Consecuentemente, los caracteres ajustados por el método de Burnaby serán interpretables como variables de forma corporal. Tal ajuste se realizó separadamente para cada sexo y para cada uno de todos los pares posibles de poblaciones/especies analizadas. Para cada carácter ajustado, se calculó la diferencia (DZ) entre los valores medios de las poblaciones/especies analizadas, dividida por el promedio de la desviación estándar de cada una. Los valores así calculados de DZ, representan la divergencia estandarizada para cada carácter con respecto a la forma corporal.

Finalmente, con el propósito de encontrar una función lineal que maximice la separación por la forma corporal entre las poblaciones/especies examinadas, se realizó un análisis de función discriminante sobre los caracteres ajustados por el método de Burnaby. Para este análisis los caracteres se ajustaron para todas las poblaciones/especies simultáneamente, en lugar de a pares. Luego se realizó el análisis de la función discriminante para los caracteres así ajustados, usando el paquete de programas STATGRAPHICS (1985).

Reconstrucción de las Fuerzas Responsables de la Divergencia Morfométrica entre las Poblaciones/Especies Examinadas. Se emplearon dos métodos para estimar la intensidad y dirección de selección requeridas para explicar la divergencia morfométrica entre estas poblaciones/especies.

Primero se aplicó la ecuación univariada que predice la respuesta a una generación de selección direccional, $R = h^2 s$, para estimar el diferencial de selección total (s) requerido para explicar la divergencia observada. Si DZ es la diferencia en el valor medio del carácter observada entre dos poblaciones comparadas, entonces suponiendo que h^2 y s son aproximadamente constantes, que el carácter no está correlacionado con ningún otro carácter seleccionado, y que el carácter en cuestión está normalmente distribuido, surge que $DZ = h^2 s t$, donde t es el número de generaciones desde que las poblaciones/especies han divergido. Ordenando esta ecuación como $s = DZ / h^2 t$, puede estimarse el diferencial de selección medio por generación. Si t es desconocido, entonces puede estimarse el diferencial de selección neto,

$$s_n = DZ / h^2$$

Entonces, usando los valores de DZ y h^2 estimados para cada carácter se calculó el diferencial de selección neto (s_n) para explicar el DZ observado, asumiendo que las correlaciones entre los caracteres es cero. Con este modelo se consideró que el cambio en el valor medio de cada carácter es genéticamente independiente del cambio ocurrido en cualquier otro carácter y se asumió que h^2 de cada carácter es aproximadamente constante entre poblaciones. Para ello se usaron las estimaciones de h^2 basadas sobre moscas derivadas de Arroyo Escobar (II-d2). En añadidura, los valores de h^2 estimados para caracteres morfométricos en estudios previos muestran una notable similitud entre poblaciones naturales de *D. buzzatii* (Prout y Barker, 1989; Ruiz y col., 1991; Thomas y Barker, 1993). Para todos los caracteres, DZ se estimó sobre las mediciones transformadas a logaritmos naturales, haciendo la diferencia entre los valores medios del carácter en cada población. También se calcularon los valores de DZ estandarizados (DZ'), dividiendo DZ por el promedio de la

desviación estándar dentro de ambas poblaciones/especies comparadas (Lynch, 1990; Merila y col., 1994). El diferencial s_n depende de la desviación estándar del carácter, de modo que para propósitos comparativos es conveniente expresarlo en unidades de desviación estándar fenotípicas (s'_n), tal que $s'_n = s_n/DE$, donde DE será el promedio de la desviación estándar del carácter en ambas poblaciones/especies comparadas.

Finalmente, se utilizó la ecuación general ($DZ = G \beta$) que predice la respuesta a la selección direccional sobre caracteres poligénicos (ver I-a4). Esta ecuación permite reconstruir la fuerza neta de la selección involucrada en la divergencia entre dos poblaciones/especies, tomando en cuenta las covarianzas genéticas entre los caracteres. Esto es posible ordenando dicha ecuación como

$$\beta_n = G^{-1} DZ$$

Los elementos del vector β_n son análogos a los diferenciales s_n , y estimarán la fuerza neta y la dirección en la cual la selección direccional actuó sobre cada carácter. La matriz G usada para este propósito es aquella estimada para la población de Arroyo Escobar (ver II-d2). Ya que los resultados obtenidos de esta forma dependen de las covarianzas genéticas entre los caracteres, ellos pueden compararse con la situación en la que las covarianzas genéticas son artificialmente tomadas como cero al usar la ecuación univariada, $s_n = DZ / h^2$. La comparación de ambos resultados puede ser de interés para evaluar el efecto de las correlaciones genéticas en la diferenciación fenotípica de poblaciones (e.g., Merila y col., 1994). Por ejemplo, un incremento en el valor medio de un carácter y disminución en otro, requerirá más selección si ambos caracteres estuvieran positivamente correlacionados que si ellos no estuvieran correlacionados o la correlación fuera negativa.

Como en el caso de diferenciales s , los diferenciales β dependen de la desviación estándar de los caracteres. Para los propósitos de comparar la fuerza real de la selección directa sobre cada carácter, el gradiente de selección (β_n) debe estar expresado en unidades de desviaciones estándar fenotípicas. Así expresado se lo llama gradiente de selección neta estandarizado (β'_n). Los coeficientes de β'_n pueden calcularse adoptando las unidades de desviaciones estándar de todos los caracteres, pero no de la aptitud (Lande y Arnold, 1983 p. 1219), tal que: $\beta'_n = D \beta_n$, donde D es una matriz diagonal cuyos elementos sobre la diagonal son las desviaciones estándar fenotípicas. Es decir que para el carácter i , $\beta'_{ni} = \beta_{ni} DE_i$, donde DE_i es la desviación estándar en el carácter i . Sin embargo, aunque los coeficientes β_n pueden ser comparados con los s_n para evaluar el efecto de las correlaciones genéticas en la diferenciación fenotípica de las poblaciones, los coeficientes de β'_n así calculados no pueden ser comparados directamente con los s'_n para el mismo propósito. La razón para ellos, es que al no disponer de una estima de la desviación estándar de la aptitud, β'_n no ha sido estandarizado con respecto a la aptitud (en tal caso la estandarización correcta es $\beta'_{ni} = \beta_{ni} DE_i / DE_a$, donde DE_a es la desviación estándar de la aptitud). Sin embargo los coeficientes β'_n son muy valiosos para comparar cualitativamente la magnitud de la intensidad de selección direccional directa sobre cada carácter.

Todas las operaciones con matrices (inversión y multiplicación) se realizaron con el programa QUATRO PRO.

RESULTADOS

III-a. CARACTERIZACION DE SELECCION SEXUAL RELACIONADA CON EL TAMANO
CORPORAL EN *Drosophila buzzatii*

El experimento de apareamiento (i) realizado con machos axénicos se basó sobre 110 moscas de cada sexo, y el correspondiente a machos no axénicos (ii) consistió de 109 moscas de cada sexo. En la Tabla A1 se dan la media y la desviación estándar de cada carácter medido en ambos experimentos del mismo diseño de apareamiento en masa. Todos los caracteres medidos se ilustran en la Fig. 1.

Diferenciales Univariados de Selección Direccional. Los diferenciales estandarizados de selección direccional (s') estimados en ambos experimentos, se indican en la Tabla A2. Mientras que no se observó variación significativa con respecto a la proporción de individuos apareados en ambos experimentos ($\chi^2_{(1)} = 2$), la variación entre ellos fue sustancial con respecto a los diferenciales de selección sexual estimados. Particularmente, cuando se usaron machos axénicos en el experimento de apareamiento, el diferencial s' no resultó significativamente distinto de cero para ninguno de los caracteres medidos (Tabla A2). Por el contrario, cuando el experimento se realizó con machos alimentados con levaduras (machos no axénicos), el diferencial s' estimado fue estadísticamente significativo y positivo para todos los caracteres, excepto LA (Tabla A2).

Cultivos de Abdómenes de Hembras Apareadas. Con respecto a los cultivos de los abdómenes de las hembras apareadas, también se observó variación entre ambos experimentos. Específicamente, sólo se observaron unidades de formación de colonias en los cultivos correspondientes a las hembras del experimento (ii), indicando que los machos alimentados con levaduras transmitieron levaduras vivas a las hembras durante el cortejo y/o el apareamiento. Por el contrario, en los cultivos correspondientes a las hembras de la réplica (i), donde todos los machos fueron axénicos, no se observó crecimiento alguno de levaduras, como se espera por la condición axénica de los machos.

Gradientes Estandarizados de Selección Direccional. Todos los caracteres medidos están positiva y altamente correlacionados entre sí (Tabla A3). Mientras un diferencial s' resulta de la suma de (i) la selección direccional operando sobre el carácter considerado más (ii) los efectos indirectos debidos a la selección sobre caracteres fenotípicamente correlacionados con aquel carácter, un gradiente de selección direccional estandarizado (β') estima sólo la intensidad de la selección directa sobre cada carácter. Los coeficientes del vector β' estimados sobre los primeros tres componentes principales de la matriz de varianzas y covarianzas fenotípicas asociada a los caracteres estandarizados, se muestran en la Tabla A4.

En ambos experimentos, los primeros tres componentes principales explicaron cerca del 90% de la varianza total en los caracteres estandarizados. En los machos axénicos no hubo evidencia de selección direccional para ninguna de estas variables compuestas (Tabla A4). Por el contrario, en los machos no axénicos, los coeficientes del gradiente de selección β' sobre las variables del ACP sugirieron selección directa sobre los componentes definidos por ACR

(CP3) y ACB (CP2) (Tabla A4). Remarcablemente, no existió la menor evidencia de selección direccional directa sobre el tamaño corporal, ya que el coeficiente de β' para CP1 (el componente definido por los dos caracteres conocidos como índices del tamaño corporal en *Drosophila*: LT y LA) no fue estadísticamente distinto de cero (Tabla A4). Estos resultados son consistentes con (i) los coeficientes de correlación múltiple entre la aptitud copulatoria relativa y los caracteres estandarizados (Tabla A5), y (ii) los coeficientes de la regresión logística múltiple de la aptitud copulatoria absoluta (variable dependiente) sobre los componentes principales rotados (Tabla A6).

Más aún, cuando cualquier efecto posible del tamaño general fue removido con el método de Burnaby, β' estimado sobre los caracteres ajustado por tamaño reveló selección direccional precisamente sobre estos dos caracteres de la cabeza (Tabla A7). Asimismo, ACR fue el carácter medido que claramente exhibió la mayor contribución lineal a la medida la aptitud copulatoria, según indica la magnitud del coeficiente de β' respectivo (Tabla A7).

La Superficie de Selección Individual Examinada con Técnicas de Spline Cúbica. La técnica de *spline* cúbica (descrita en II-c2) da una descripción muy útil de la forma de selección (e.g., direccional, estabilizadora o disruptiva) operando sobre los caracteres medidos.

En los machos axénicos, tampoco existió la menor evidencia de selección sexual estabilizadora ni disruptiva operando sobre los caracteres medidos, porque la función de la superficie de selección estimada con este método no fue definida por más de 2 parámetros efectivos, $\log_e \lambda > 7$ (para detalles ver explicación del método en II-c2).

En la Fig. 2 se muestra la función no paramétrica de la aptitud copulatoria estimada para el ancho de la cara estandarizado en los machos no axénicos. En las Figs. 3 y 4 se muestran los resultados obtenidos al aplicar la misma técnica para el caso de los componentes principales CP2 (definido por ACB) y CP3 (definido por ACR), sobre los cuales el gradiente de selección β' indicó selección direccional significativa (Tabla A4). Todas las estimaciones corresponden a un valor de lambda (parámetro de suavidad) para el cual se observó el mínimo valor predictivo. Notar que las funciones estimadas para estas variables fenotípicas no muestran un mínimo o un máximo local entre los valores fenotípicos extremos, indicando que la superficie de selección para estas variables fue esencialmente direccional. Además, la pendiente de la curva es claramente mayor para ACR o CP3 que para CP2 (Figs. 2, 3 y 4), un resultado que acuerda bien con los presentados en las Tablas A4, A5, A6 y A7. Los errores estándar de las funciones de aptitud estimadas, los cuales se calcularon sobre la base de 400 réplicas "bootstrap," verifican estas conclusiones.

Para el caso de la longitud del ala, la función de la aptitud copulatoria resultó ser rectilínea sobre este carácter (Fig. 5). Notar que la variación de la aptitud copulatoria predicha para este carácter es muy pequeña (comparar con Fig. 2), sugiriendo que la aptitud copulatoria es independiente de LA.

Para el caso de la longitud del tórax, la superficie de selección en los machos no axénicos fue esencialmente direccional. Aunque la función estimada sugiere la existencia de un óptimo cercano al valor medio de la longitud del tórax, la adición de un error estándar a la función estimada no verifica la presencia de tal óptimo (Fig. 6). De este modo se concluye que no hay evidencia inequívoca de selección estabilizadora sobre este carácter.

Con respecto a la estimación no paramétrica multivariada basada en el método de Schluter y Nychka (1994), no se encontró un valor del parámetro de suavidad (λ) que haga mínimo el error predictivo medido como validación de cruce generalizado (para detalles del método ver II-c2). Debido a esto, se eligió un valor de $\ln(\lambda)$ mayor que -4, porque con este valor la superficie de selección multivariada resultó definida por sólo dos parámetros efectivos (*i.e.*, un ajuste lineal, logístico). Tal ajuste lineal es sugerido por los resultados obtenidos al explorar la superficie de selección univariada (Figs. 2-4). La contribución estimada de cada carácter a la primera dirección de la superficie de selección multivariada se muestra en la Tabla A8. Estos resultados son consistentes con aquellos del gradiente de selección direccional en que ACR exhibió la más alta contribución lineal a la aptitud copulatoria (Tabla A8). Sin embargo la contribución estimada para el carácter LT fue relativamente alta, contrastando con los resultados de β' sobre las variables ortogonales del ACP. Incluso los efectos lineales estimados de ACR y LT sobre la aptitud fueron opuestos en signo, lo cual parece incompatible con el hecho de que el tamaño corporal incrementó sustancialmente por selección, según indican los diferenciales s' positivos y significativos para todos los caracteres, excepto LA (Tabla A3). Ya que los caracteres medidos están altamente correlacionados uno con el otro (Tabla A3), se concluye tentativamente que el problema de multicolinealidad afectó severamente a la contribución estimada de LT a la aptitud. En añadidura, si los caracteres examinados están altamente inter-correlacionados, el problema de multicolinealidad puede afectar sustancialmente a las contribuciones estimadas con el procedimiento de regresión seguida de proyección, como notaron Schluter y Nychka (1994).

Tabla A1. Media (X) y Desviación Estándar (DE) de los Caracteres Medidos en Ambos Experimentos de Apareamiento en Masa^a

Carácter	(1) Machos Axénicos				(2) Machos No Axénicos			
	Apareados (N= 67)		Todos (N= 110)		Apareados (N= 56)		Todos (N= 109)	
	X	DE	X	DE	X	DE	X	DE
LT	0.987	0.093	0.992	0.096	1.003	0.080	0.985	0.095
LA	1.529	0.102	1.535	0.105	1.499	0.108	1.484	0.114
ACB	0.865	0.082	0.866	0.080	0.890	0.074	0.863	0.089
ACR	0.386	0.041	0.385	0.040	0.405	0.042	0.383	0.048

^aN es el número de machos. Los estadísticos están en mm. Las abreviaciones de los caracteres para ésta y las tablas siguientes, se dan en la Fig. 1 y en Material y Métodos.

Tabla A2. Diferenciales de Selección Direccional Estandarizados (s')^a

(1) Machos Axénicos				(2) Machos No Axénicos			
LT	LA	ACB	ACR	LT	LA	ACB	ACR
-0.045	-0.052	-0.018	0.021	0.198*	0.126	0.304***	0.447**

^aLos niveles de significación para la correlación de rangos de Kendall entre la aptitud copulatoria (AR) y los caracteres son:

* $p < 0.05$.

** $p < 0.0001$.

Tabla A3. Coeficientes de Correlación de Pearson entre los Caracteres Estandarizados*

	(1) Machos Axénicos			(2) Machos No Axénicos		
	LA	ACB	ACR	LA	ACB	ACR
LT	0.847	0.814	0.825	0.818	0.831	0.729
LA		0.762	0.747		0.717	0.617
AC			0.865			0.733

*Todas las correlaciones fenotípicas indicadas en esta tabla son altamente significativas ($p < 0.0001$).

Tabla A4. Contribuciones (Loadings) de Cada Carácter a los Primeros Tres Componentes Principales (CPs) y Gradientes de Selección Direccional (β') Estandarizados sobre estas Variables Compuestas*

Carácter	(i) Machos Axénicos			(ii) Machos No Axénicos		
	CP1	CP2	CP3	CP1	CP2	CP3
LT	0.411	0.570	0.688	0.635	0.595	0.387
LA	0.376	0.860	0.321	0.898	0.316	0.268
ACB	0.843	0.431	0.280	0.367	0.839	0.373
ACR	0.723	0.299	0.580	0.296	0.343	0.891
β' :	0.034	-0.090	-0.014	-0.075	0.173*	0.462***

*Los valores en negrita indican las contribuciones más altas de cada carácter sobre cada PC rotado. Los estadísticos generales de las regresiones múltiples son: $R^2 = 0.23$, $F(3,105) = 10.68^{***}$ para machos no axénicos y $R^2 = 0.009$, $F(3,106) = 0.34$ para machos axénicos.

* $p < 0.05$.

** $p < 0.00001$.

Tabla A5. Coeficientes de Correlación Parcial entre la Aptitud Copulatoria Relativa y los Caracteres Estandarizados

(1) Machos Axénicos				(2) Machos No Axénicos			
LT	LA	ACB	ACR	LT	LA	ACB	ACR
-0.056	-0.039	-0.007	0.080	-0.140	-0.108	0.133	0.396

Tabla A6. Coeficientes de la Regresión Logística Múltiple de la Aptitud Copulatoria Absoluta sobre los Caracteres Estandarizados

(1) Machos Axénicos				(2) Machos No Axénicos			
LT	LA	ACB	ACR	LT	LA	ACB	ACR
-0.126	-0.079	-0.015	0.177	-0.387	-0.281	0.318	0.865*

*p < 0.005

Tabla A7. Gradiente Estandarizado de Selección Direccional sobre los Caracteres Ajustados por Tamaño con el Método de Burnaby^a

Carácter	β'_{sat}
LT'	
LA'	-
ACB'	0.252*
ACR'	0.494***

^a β'_{sat} se muestra para el mejor subconjunto de caracteres encontrado por el método de todos los subconjuntos recomendado por Hocking, 1976. Los estadísticos generales de la regresión múltiple para este subconjunto de caracteres son: $R^2 = 0.16$, $F(2,106) = 10.47^{***}$.

* $p < 0.05$.

*** $p < 0.0001$.

Tabla A8. Contribución de Cada Carácter a la Dirección a_1 de la Superficie de Selección en Machos No Axénicos

Carácter	a_1
LT	-0.591
LA	-0.009
ACB	0.154
ACR	0.791

III-b. HEREDABILIDADES DE CARACTERES MORFOMETRICOS EN MOSCAS DERIVADAS
DE DOS POBLACIONES NATURALES DE

Drosophila buzzatii

El diseño experimental usado para estimar la heredabilidad de varios caracteres morfométricos, condujo a un apareamiento aleatorio efectivo, dado que la correlación de Pearson entre ambos progenitores no fue significativa para uno u otro carácter medido (Tabla B1). El valor medio y el desvío estándar de cada carácter medido en las moscas derivadas de las poblaciones de Arroyo Escobar y de Otamendi se muestran, respectivamente, en las Tablas B2 y B3. Para el subconjunto de caracteres que se midieron en ambas poblaciones, los valores medios de los caracteres en las moscas derivadas de la población de Otamendi tienden a ser menores que en las correspondientes a la población de Arroyo Escobar, mientras que las varianzas tienden a mostrar la relación opuesta (ver Tablas B2 y B3). La prueba de Mann-Whitney (Sokal y Rohlf, 1981 p. 432) realizada sobre los progenitores medios, no indicó diferencias significativas entre la distribución de ambas poblaciones, para ninguno de estos caracteres ($|Z| < 1.1$, $p > 0.1$). Sin embargo, el mismo análisis estadístico indicó diferencias significativas sobre el primer componente principal de la matriz de varianzas y covarianzas fenotípicas de la muestra agrupada sobre ambas poblaciones ($Z = 2.3$, $p < 0.05$). Este primer autovector explicó cerca del 60% de la varianza total en los caracteres medidos, y todos los caracteres contribuyeron positivamente al mismo (primer autovector: LT= 0.35, AE= 0.69, LA=0.36, AA= 0.40). Dado que este componente puede interpretarse como un factor representante del tamaño corporal (ver

Método de Burnaby en II-c2), estos resultados sugieren que el tamaño corporal difiere en algún grado entre ambas poblaciones.

Las estimas de la heredabilidad de cada carácter se muestran para cada población en las Tablas B4 y B5. Las heredabilidades de todos los caracteres morfométricos medidos son significativas, y las estimas para los caracteres que fueron analizados en ambas poblaciones (LT, AE, LA, AA) indican heredabilidades similares entre poblaciones (comparar valores de Tablas B4 y B5). Para estos caracteres, la prueba paramétrica que evalúa la diferencia entre coeficientes de regresión lineal simple (Sokal y Rohlf, 1981 p. 499), no indicó heredabilidades significativamente distintas entre ambas poblaciones ($p > 0.3$).

En ambas poblaciones, el carácter medido que exhibió el mayor valor de heredabilidad es el ancho del escutelo, AE (Tablas B4 y B5). Además, los caracteres medidos sobre el tórax y las alas (LT, AE, LA y AA) exhiben valores de heredabilidad mayores que los de la cabeza (Tabla B4). En total, el valor medio de las heredabilidades promediadas a través de métodos y caracteres examinados en ambas poblaciones (LT-AE-LA-AA), es de 0.49 en las moscas derivadas de Arroyo Escobar y 0.52 en las derivadas de Otamendi. En otras palabras, aproximadamente un 50% de la variabilidad morfométrica del tórax y las alas es heredable en el laboratorio. La media aritmética de las heredabilidades estimadas para los caracteres de la cabeza (examinados en las moscas derivadas de Arroyo Escobar) es del 30%, mientras para los caracteres sobre el tórax y las alas el valor es del 49%.

Con respecto a una posible contribución del cromosoma X a la varianza genética aditiva, no se observa una tendencia bien definida de que las heredabilidades de los caracteres medidos sobre el tórax y las alas sean diferentes entre sexos (comparar regresiones sobre padres y madres, Tablas B4 y B5). Sin embargo, para algunos caracteres de la cabeza se observa alguna diferencia entre sexos (e.g., longitud

del ojo; ver DISCUSION), pero serian necesarios tamaños de muestras considerablemente mayores para poder detectar pequeñas diferencias de heredabilidades entre sexos (ver Cowley y Atchley, 1989).

Finalmente, notar que las heredabilidades estimadas corresponden a moscas desarrolladas bajo condiciones ambientales constantes. Como un resultado de la gran variabilidad ambiental que existe en las poblaciones naturales de *Drosophila* (ver Prout y Barker, 1989), las heredabilidades de estos caracteres en la naturaleza han de ser sustancialmente menores que los valores presentados en las Tablas B4 y B5. El coeficiente de variación (CV= desviación estándar / media) calculado para los caracteres medidos en este estudio es aproximadamente 4 a 5 veces mayor en las muestras de moscas de *D. buzzatii* colectadas en la naturaleza que en las condiciones de laboratorio usadas para estimar la heredabilidad (F. Norry, observación personal). De aquí surge que en la naturaleza, la media aritmética de todas las heredabilidades estimadas oscilaría, aproximadamente, entre los valores pequeños del 8 al 13%. De los caracteres medidos, la heredabilidad más alta sería para AE (≈ 12 a $0.16\% \pm ES$), y la más baja para ACR (≈ 5 a $6\% \pm ES$). Debido a los grandes errores estándar (ES) de las estimas (Tablas B4 y B5), estos valores sugeridos de heredabilidades en la naturaleza serán tomados como aproximados, más bien que como una cota.

A pesar de las bajas heredabilidades predichas para las condiciones naturales, los resultados presentes indican que existe una cantidad sustancial de varianza genética aditiva asociada al tamaño de varias partes corporales.

Tabla B1. Correlaciones de Pearson (r) Entre las Parejas Realizados en el Experimento de Heradabilidad con Moscas Derivadas de las Poblaciones de Arroyo Escobar y Otamendi*

Experimento	Carácter	r
Población de Arroyo Escobar (N= 105)		
	ACR	0.08
	ACB	0.03
	LO	0.02
	LT	0.09
	AE	0.10
	LA	0.05
	AA	0.04
Población de Otamendi (N= 71)		
	LT	0.07
	AE	0.06
	LA	0.05
	AA	0.03

*Las abreviaciones para los caracteres en esta y las siguientes tablas se dan en la Fig. 1.
En todos los casos $p > 0.1$.

Tabla B2. Valores Medios (X) y Desviaciones Estándar (DE) de los Caracteres Analizados en Moscas Derivadas la Población de Arroyo Escobar*

Grupo	Carácter	X	DE	N
	ACR			
Progenie media		3.5542	0.0367	105
Progenitores medios		3.5538	0.0367	105
	ACB			
Progenie media		4.3826	0.0132	105
Progenitores medios		4.3823	0.0135	105
	LO			
Progenie media		3.8329	0.0228	105
Progenitores medios		3.8333	0.0230	105
	LT			
Progenie media		4.5498	0.0190	105
Progenitores medios		4.5496	0.0196	105
	AE			
Progenie media		3.4924	0.0311	105
Progenitores medios		3.4927	0.0318	105
	LA			
Progenie media		4.1495	0.0230	105
Progenitores medios		4.1494	0.0232	105
	AA			
Progenie media		4.4213	0.0249	105
Progenitores medios		4.4211	0.0253	105

*Los estadísticos se dan para los grupos de progenitores y progenie usados en las regresiones para estimar las heredabilidades. Todos los valores están dados en logaritmos naturales de unidades oculares (u.o.). Para LA, 1 u.o. = 0.025 mm, para los caracteres restantes, 1 u.o. = 0.0125 mm.

Tabla B3. Valores Medios (X) y Desviaciones Estándar (DE) de los Caracteres Analizados en Moscas Derivadas la Población de Otamendi^a

Grupo	Carácter	X	DE	N
	LT			
Progenie media		4.5496	0.0230	71
Progenitores medios		4.5481	0.0233	71
	AB			
Progenie media		3.4924	0.0377	71
Progenitores medios		3.4926	0.0380	71
	LA			
Progenie media		4.1491	0.0295	71
Progenitores medios		4.1490	0.0299	71
	AA			
Progenie media		4.4211	0.0263	71
Progenitores medios		4.4210	0.0266	71

^aLos estadísticos se dan para los grupos de progenitores y progenie usados en las regresiones para estimar heredabilidades. Todos los valores están dados en logaritmos naturales de unidades oculares (u.o.). Para LA, 1 u.o.= 0.025 mm, para los caracteres restantes, 1 u.o.= 0.0125 mm.

Tabla B4. Heredabilidades (\pm error estándar) en Sentido Estricto Estimadas Mediante las Regresiones de Progenie Media sobre Padres (pm-p), Progenie Media sobre Madres (pm-m) y Progenie Media sobre Progenitores Medios (pm-pm), para Siete Caracteres Morfométricos en Moscas Derivadas de la Población Natural de Arroyo Escobar^a

Carácter	Regresión pm-p $h^2 = 2\beta$	Regresión pm-m $h^2 = 2\beta$	Regresión pm-pm $h^2 = \beta$
ACR	0.21 (0.10)	0.28 (0.09)*	0.26 (0.13)*
ACB	0.27 (0.09)	0.34 (0.09)*	0.30 (0.12)*
LO	0.31 (0.09)	0.43 (0.09)**	0.36 (0.11)**
LT	0.57 (0.08)**	0.48 (0.09)**	0.51 (0.09)****
AE	0.63 (0.07)**	0.51 (0.09)**	0.58 (0.08)****
LA	0.45 (0.09)**	0.53 (0.08)**	0.52 (0.10)****
AA	0.40 (0.09)**	0.36 (0.09)**	0.38 (0.13)****

* $p < 0.05$

** $p < 0.01$

*** $p < 0.005$

Tabla B5. Heredabilidades (\pm error estándar) en Sentido Estricto Estimadas Mediante las Regresiones de Progenie Media sobre Padres (pm-p), Progenie Media sobre Madres (pm-m) y Progenie Media sobre Progenitores Medios (pm-pm), para Siete Caracteres Morfométricos en Moscas Derivadas de la Población Natural de Otamendi^a

Carácter	Regresión pm-p $h^2 = 2\beta$	Regresión pm-m $h^2 = 2\beta$	Regresión pm-pm $\beta = h^2$
LT	0.49 (0.10)	0.39 (0.11)	0.45 (0.14)
AE	0.67 (0.09)	0.56 (0.10)	0.61 (0.08)
LA	0.50 (0.10)	0.54 (0.10)	0.48 (0.12)
AA	0.49 (0.10)	0.54 (0.10)	0.51 (0.09)

^aTodos los valores de h^2 son significativos a un nivel de $p < 0.01$.

III-c. MATRICES DE CORRELACIONES GENÉTICAS Y FENOTÍPICAS Y MATRICES DE
VARIANZAS Y COVARIANZAS GENÉTICAS
DE CARACTERES MORFOMÉTRICOS

Similitud Interpoblacional de Matrices de Correlaciones y de Varianzas y Covarianzas Genéticas. Las correlaciones genéticas (y sus errores estándares) entre los caracteres medidos en moscas de *D. buzzatii* derivadas de las poblaciones de Arroyo Escobar y de Otamendi, se muestran en las Tablas C1 y C2, respectivamente.

Todas las correlaciones genéticas entre los caracteres medidos en las moscas derivadas de la población de Otamendi son positivas y por lo menos dos veces mayores que el error estándar correspondiente (Tabla C2). Para la población de Arroyo Escobar, estas mismas correlaciones son de similar magnitud y error estándar que las correspondientes a la población de Otamendi. Sin embargo, algunos caracteres de la cabeza, que sólo fueron examinados para la localidad de Arroyo Escobar, no parecen estar genéticamente correlacionados con algunos de los caracteres medidos sobre el tórax y las alas. En particular, las estimas de las correlaciones genéticas entre ACR y AE-LA-AA, entre ACB y AA, y entre LO y AA, son todas de muy cercanas a cero (Tabla C1).

Las matrices de varianzas y covarianzas genéticas estimadas en moscas de *D. buzzatii* derivadas de las poblaciones de Arroyo Escobar y de Otamendi, se muestran en las Tablas C3 y C4, respectivamente. Observar que aunque las varianzas y covarianzas genéticas no parecen idénticas entre ambas poblaciones, ellas son de similar magnitud e idéntico signo.

Para los caracteres examinados en ambas poblaciones, la prueba de Mantel indicó similitud significativa entre poblaciones, tanto para la matriz de correlaciones genéticas como para la matriz de varianzas y covarianzas genéticas (Tabla C5). Notar que en la población de Arroyo Escobar se midieron más caracteres, pero estos resultados corresponden sólo al subconjunto de caracteres examinados en ambas poblaciones.

Para el caso de la matriz de correlaciones, el estadístico de similitud de matrices ($Z' = 0.94$) indicó un nivel de correspondencia muy alto entre ambas poblaciones, sugiriendo que las correlaciones genéticas son básicamente iguales en ambas poblaciones, al menos para los caracteres considerados. Más aún, para el caso de la matriz de varianzas y covarianzas genéticas, el estadístico de similitud de matrices (Z') indicó casi el máximo posible de correspondencia ($Z' = 0.99$) entre ambas poblaciones, sugiriendo que las varianzas y covarianzas genéticas comparadas son básicamente iguales en ambas poblaciones.

En resumen, tanto las matrices de correlaciones genéticas como las de varianzas y covarianzas genéticas estimadas son estructuralmente muy similares entre estas dos poblaciones.

Similitud entre la Matriz de Correlaciones Genéticas y la Matriz de Correlaciones Fenotípicas. Con respecto a las comparaciones de las matrices de correlaciones fenotípicas con las matrices de correlaciones genéticas, los análisis se realizaron sólo para la matriz de correlaciones genéticas estimadas en moscas derivadas de la población de Arroyo Escobar, pero no con la matriz correspondiente a la población de Otamendi. La razón para ello es que en el primer caso se midieron siete caracteres, mientras que en la población de Otamendi

sólo cuatro. En la Tabla C6 se presentan las correlaciones fenotípicas estimadas en moscas de *D. buzzatii* derivadas de las poblaciones de Arroyo Escobar y de Quilmes y moscas de *D. koepferae* derivadas de la población de Quilmes. En ambos sexos, todos los caracteres están positivamente correlacionados uno con el otro en los tres grupos de moscas, aunque unas pocas correlaciones estimadas no fueron significativamente distintas de cero (Tabla C6). Las correlaciones fenotípicas fueron del mismo signo pero de mayor magnitud que las correlaciones genéticas respectivas estimadas en moscas de *D. buzzatii* derivadas de la población de Arroyo Escobar. En general, la estructura de la matriz de correlaciones genéticas estimada en moscas de *D. buzzatii* derivadas de Arroyo Escobar es significativamente similar a la de la matriz de correlaciones fenotípicas estimada en moscas de (i) la misma población, (ii) *D. buzzatii* de Quilmes, y (iii) *D. koepferae* de Quilmes (Tabla C7). Esta similitud fue significativa en todos los casos, excepto para las matrices de correlaciones fenotípicas estimadas en machos de *D. buzzatii* de Arroyo Escobar y de Quilmes, en cuyos casos la similitud evaluada por la prueba de Mantel fue sólo marginalmente significativa (Tabla C7).

En resumen, la matriz de correlaciones genéticas estimada en *D. buzzatii* de Arroyo Escobar exhibe una estructura de correlación similar a la de las matrices de correlaciones fenotípicas estimadas en *D. buzzatii* de la misma población y de Quilmes, como así también en *D. koepferae* de Quilmes. En todos los casos, pero principalmente en *D. buzzatii*, la correspondencia fue mayor en las hembras ($Z'_{\text{medio}} = 0.56$) que en los machos ($Z'_{\text{medio}} = 0.42$) (Tabla C7), sugiriendo que las correlaciones fenotípicas son más parecidas a sus contrapartes genéticas en las hembras que en los machos de *D. buzzatii*.

Comparación Intersexual de las Matrices de Correlaciones Fenotípicas. Las matrices de correlaciones fenotípicas son muy similares entre sexos (Tablas C8 y C9). Con la excepción de sólo un caso (*D. buzzatii* de Quilmes), todas las comparaciones realizadas con la prueba de Mantel indican similitud estadísticamente significativa entre los sexos de la misma o diferentes poblaciones/especies analizadas (Tabla C9).

Comparaciones Interpoblacionales e Interespecíficas de las Matrices de Correlaciones Fenotípicas Estimadas. Todas las comparaciones realizadas con la prueba de Mantel, excepto una (machos de *D. buzzatii* versus machos de *D. koepferae*, de Quilmes), revelaron similitud estadísticamente significativa entre las matrices de correlaciones fenotípicas estimadas en las diferentes poblaciones/especies examinadas (Tabla C9).

En el caso de los machos de *D. buzzatii* y *D. koepferae* de Quilmes, donde la prueba de Mantel no indicó similitud significativa, la correlación de rangos de Spearman sí (Tabla C8). Sin embargo, la significación estadística de estas correlaciones de rangos (Tabla C8) no serán confiados, según el supuesto de independencia en las observaciones no se cumple, como se indicó en II-d (en este estudio las correlaciones de rangos tienen valor sólo como estimas puntuales de la similitud entre matrices).

No se observa una tendencia de que la similitud entre matrices de correlaciones fenotípicas sea mayor entre poblaciones de *D. buzzatii* (comparación intraespecífica) que entre ambas especies examinadas (Tablas C8 y C9). Por ejemplo, en las comparaciones interpoblacionales el valor medio de Z' es de 0.58 y el de

correlaciones de rangos 0.67, mientras que en las comparaciones interespecíficas estos valores son 0.61 y 0.65, respectivamente.

Tabla C1. Correlaciones Genéticas (debajo de la diagonal) y sus Errores Estándares (arriba de la diagonal) entre Siete Caracteres Morfométricos Medidos en Moscas de *Drosophila buzzatii* Derivadas de la Población Natural de Arroyo Escobar

	ACR	ACB	LO	LT	AE	LA	AA
ACR		0.28	0.26	0.20	0.18	0.22	0.29
ACB	0.36		0.22	0.17	0.16	0.18	0.26
LO	0.20	0.30		0.15	0.14	0.16	0.23
LT	0.23	0.29	0.29		0.08	0.11	0.16
AE	0.11	0.17	0.19	0.48		0.11	0.15
LA	0.09	0.25	0.26	0.41	0.28		0.15
AA	0.12	0.13	0.10	0.31	0.21	0.39	

Tabla C2. Correlaciones Genéticas (debajo de la diagonal) y sus Errores Estándares (arriba de la diagonal) entre Cuatro Caracteres Morfométricos Medidos en Moscas de *Drosophila buzzatii* Derivadas de la Población Natural de Otamendi

	LT	AE	LA	AA
LT		0.11	0.15	0.15
AE	0.51		0.12	0.10
LA	0.48	0.27		0.12
AA	0.27	0.25	0.45	

Tabla C3. Matriz de Varianzas y Covarianzas Genéticas (G) Asociada a Siete Caracteres Morfométricos Medidos en Moscas de *Drosophila buzzatii* derivadas de la Población de Arroyo Escobar^a

Carácter	ACR	ACB	LO	LT	AE	LA	AA
ACR	0.7000	0.0966	0.1030	0.1190	0.0999	0.0563	0.0812
ACB	0.0966	0.1090	0.0614	0.0592	0.0609	0.0617	0.0347
LO	0.1030	0.0614	0.3820	0.1110	0.1270	0.1200	0.0962
LT	0.1190	0.0592	0.1110	0.3850	0.3230	0.1900	0.1560
AE	0.0999	0.0609	0.1270	0.3230	1.1770	0.2270	0.1840
LA	0.0563	0.0617	0.1200	0.1900	0.2270	0.5600	0.2360
AA	0.0812	0.0347	0.0962	0.1560	0.1840	0.2360	0.6540

^aTodos los valores están multiplicados por 1000, de manera que los valores reales se obtienen a ellos por 10^{-3} .

Tabla C4. Matriz de Varianzas y Covarianzas Genéticas Asociada a Cuatro Caracteres Morfométricos Medidos en Moscas de *Drosophila buzzatii* derivadas de la Población de Otamendi^a

Carácter	LT	AE	LA	AA
LT	0.489	0.473	0.311	0.160
AE	0.473	1.762	0.332	0.282
LA	0.311	0.332	0.858	0.354
AA	0.160	0.282	0.354	0.722

^aTodos los valores están multiplicados por 1000, de manera que los valores reales se obtienen multiplicando a ellos por 10^{-3} .

Tabla C5. Resultados de las Pruebas de Mantel Realizadas para Evaluar la Similitud Entre las Dos Matrices de Correlaciones Genéticas (G') y de Varianzas y Covarianzas Genéticas (G) Estimadas Para las Poblaciones de Arroyo Escobar y de Otamendi*

Distribución de Z' en 500 permutaciones al azar					
Matriz	Z'	$(Z'_p < Z')$	$(Z'_p = Z')$	$(Z'_p > Z')$	p
G'	0.94	476	24	0	0.05
G	0.99	479	21	0	0.04

* Z' es el estadístico de similitud de matrices, estandarizado.

Tabla C6. Matrices de correlaciones fenotípicas estimadas para machos (arriba de la diagonal) y hembras (debajo de la diagonal) de *Drosophila buzzatii* y *D. koepferae* derivadas de las poblaciones naturales de Arroyo Escobar (AE) y Quilmes (Q)^a

	ACR	ACB	LO	LT	AE	LA	AA
<i>D. buzzatii</i> (AE)							
ACR		0.7457	0.5025	0.5326	0.5683	0.3183	0.4256
ACB	0.7321		0.3037	0.4031	0.4152	0.1285	0.4391
LO	0.4956	0.3313		0.6179	0.4903	0.4296	0.2965
LT	0.5313	0.4061	0.5680		0.6091	0.5131	0.4455
AE	0.4085	0.2935	0.3607	0.5938		0.3254	0.3623
LA	0.3751	0.2635	0.3451	0.4982	0.3159		0.4941
AA	0.3245	0.2703	0.1737	0.2900	0.2627	0.5010	
<i>D. buzzatii</i> (Q)							
ACR		0.5287	0.4450	0.5650	0.4806	0.2535	0.3875
ACB	0.4825		0.3456	0.5514	0.3581	0.3764	0.4063
LO	0.3056	0.1956		0.4863	0.3733	0.1390	0.3187
LT	0.4061	0.2976	0.2783		0.6302	0.4610	0.4784
AE	0.3852	0.1719	0.1800	0.4912		0.1733	0.3879
LA	0.4087	0.2631	0.3008	0.5781	0.4061		0.4358
AA	0.2008	0.2429	0.1904	0.3660	0.1606	0.3845	
<i>D. koepferae</i> (Q)							
ACR		0.8150	0.7015	0.7171	0.5225	0.6982	0.6769
ACB	0.7693		0.5742	0.5985	0.3672	0.5653	0.6213
LO	0.6145	0.4577		0.6592	0.4890	0.5737	0.5588
LT	0.6125	0.4619	0.5352		0.6392	0.8355	0.7996
AE	0.5551	0.3510	0.4455	0.6184		0.6237	0.5093
LA	0.4909	0.4234	0.4169	0.6612	0.4310		0.8526
AA	0.4028	0.4009	0.4104	0.5150	0.2513	0.5620	

^aLos correlaciones en negrita son significativamente distintas de cero ($p > 0.05$).

Tabla C7. Resultados de las Pruebas de Mantel Realizadas para Evaluar la Similitud Entre la Matriz de Correlaciones Genéticas Estimada en Moscas de *D. buzzatii* Derivadas de la Población de Arroyo Escobar y las Matrices de Correlaciones Fenotípicas Estimadas en Moscas de *Drosophila buzzatii* y *D. koepferae* Derivadas de Diferentes Poblaciones*

Matriz	Z'	Distribución de Z'			p
		(Z' _p < Z')	(Z' _p = Z')	(Z' _p > Z')	
buz(AE)m	0.37	932	0	68	0.07
buz(AE)h	0.59	987	0	13	0.01
buz(Q)m	0.41	942	1	57	0.06
buz(Q)h	0.58	933	0	7	0.01
koe(Q)m	0.49	979	0	21	0.02
koe(Q)h	0.52	986	0	14	0.02

*Cada una de las matrices de correlaciones fenotípicas es comparada con la matriz de correlaciones genéticas estimada en moscas derivadas de la población de Arroyo Escobar.

Las abreviaciones son:

buz(AE)m = machos de *D. buzzatii* de la población de Arroyo Escobar.

buz(AE)h = hembras de *D. buzzatii* de la población de Arroyo Escobar.

buz(Q)m = machos de *D. buzzatii* de la población de Quilmes.

buz(Q)h = hembras de *D. buzzatii* de la población de Quilmes.

koe(Q)m = machos de *D. koepferae* de la población de Quilmes.

koe(Q)h = hembras de *D. koepferae* de la población de Quilmes.

Tabla C8. Correlaciones de Rangos de Spearman Midiendo la Similitud entre Matrices de Correlaciones Fenotípicas Estimadas en Moscas de *D. buzzatii* y *D. koepferae* Derivadas de las Poblaciones de Arroyo Escobar y Quilmes^a

	buz(AE) <i>h</i>	buz(Q) <i>m</i>	buz(Q) <i>h</i>	koe(Q) <i>m</i>	koe(Q) <i>h</i>
buz(AE) <i>m</i>	0.808 <i>0.0005</i>	0.738 <i>0.001</i>	0.512 <i>0.050</i>	0.458 <i>0.050</i>	0.714 <i>0.001</i>
buz(AE) <i>h</i>		0.638 <i>0.005</i>	0.789 <i>0.005</i>	0.570 <i>0.010</i>	0.864 <i>0.0001</i>
buz(Q) <i>m</i>			0.421 <i>0.050</i>	0.425 <i>0.050</i>	0.652 <i>0.005</i>
buz(Q) <i>h</i>				0.713 <i>0.001</i>	0.813 <i>0.0005</i>
koe(Q) <i>m</i>					0.701 <i>0.005</i>

^aLos valores en *itálica* indican el nivel de significación estadística. El tamaño de muestra para cada correlación es 21.

Las abreviaciones son:

buz(AE)*m* = machos de *D. buzzatii* de la población de Arroyo Escobar.

buz(AE)*h* = hembras de *D. buzzatii* de la población de Arroyo Escobar.

buz(Q)*m* = machos de *D. buzzatii* de la población de Quilmes.

buz(Q)*h* = hembras de *D. buzzatii* de la población de Quilmes.

koe(Q)*m* = machos de *D. koepferae* de la población de Quilmes.

koe(Q)*h* = hembras de *D. koepferae* de la población de Quilmes.

Tabla C9. Estadístico de Mantel Normalizado (Z'), y su Nivel Significación (p)
Según la Distribución de 1000 Permutaciones al Azar, Midiendo la Similitud
entre Matrices de Correlaciones Fenotípicas Estimadas
en Moscas de *Drosophila buzzatii* y *D. koepferae*
Derivadas de las Poblaciones de
Arroyo Escobar y Quilmes*

	buz(AE) <i>h</i>	buz(Q) <i>m</i>	buz(Q) <i>h</i>	koe(Q) <i>m</i>	koe(Q) <i>h</i>
buz(AE) <i>m</i>	0.828 <i>0.002</i>	0.593 <i>0.004</i>	0.480 <i>0.023</i>	0.387 <i>0.030</i>	0.701 <i>0.003</i>
buz(AE) <i>h</i>		0.600 <i>0.006</i>	0.668 <i>0.002</i>	0.557 <i>0.014</i>	0.866 <i>0.001</i>
buz(Q) <i>m</i>			0.338 <i>0.159</i>	0.321 <i>0.150</i>	0.562 <i>0.009</i>
buz(Q) <i>h</i>				0.700 <i>0.004</i>	0.803 <i>0.001</i>
koe(Q) <i>m</i>					0.706 <i>0.001</i>

*Los valores en itálica indican el nivel de significación estadística (p). El tamaño de muestra para cada correlación es 21.

Las abreviaciones son:

- buz(AE)*m* = machos de *D. buzzatii* de la población de Arroyo Escobar.
- buz(AE)*h* = hembras de *D. buzzatii* de la población de Arroyo Escobar.
- buz(Q)*m* = machos de *D. buzzatii* de la población de Quilmes.
- buz(Q)*h* = hembras de *D. buzzatii* de la población de Quilmes.
- koe(Q)*m* = machos de *D. koepferae* de la población de Quilmes.
- koe(Q)*h* = hembras de *D. koepferae* de la población de Quilmes.

III-d. ANALISIS DE LA ESTRUCTURA DE MATRICES DE CORRELACIONES GENÉTICAS Y FENOTÍPICAS

En la Tabla D1 se indica el disco imaginal del cual deriva cada carácter incluido en estos análisis. Las matrices evaluadas en este estudio fueron: (a) la matriz de correlaciones genéticas estimada en moscas de *D. buzzatii* derivadas de la población de Arroyo Escobar (Tabla C1); (b) la matriz de correlaciones fenotípicas, estimada para cada sexo, en moscas de *D. buzzatii* derivadas de la población de Arroyo Escobar (Tabla C8); (c) la matriz de correlaciones fenotípicas, estimada para cada sexo, en moscas de *D. buzzatii* derivadas de la población de Quilmes (Tabla C8); y (d) la matriz de correlaciones fenotípicas, estimada para cada sexo, en moscas de *D. koepferae* derivadas de la población de Quilmes (Tabla C8). Como se indicó en II-g, la matriz de correlaciones genéticas estimada en la población de Otamendi no se consideró para estos análisis, porque todos los caracteres medidos asociados a dicha matriz derivan de un mismo disco imaginal.

En general, los caracteres derivados de un mismo disco imaginal están genética y fenotípicamente más correlacionados entre sí que con los del otro disco. En particular, notar que en todos los casos la media aritmética de los coeficientes de correlación genética o fenotípica es mayor dentro de, que entre, ambos discos imaginales examinados (Tabla D2).

En la Tabla D3 se muestra la matriz de hipótesis construida para evaluar la hipótesis nula de falta de correspondencia de la estructura correlaciones genéticas o fenotípicas con la estructura de correlaciones esperada según el modelo del desarrollo en discos

imaginales. En cinco de las siete matrices estimadas y examinadas, la prueba de Mantel reveló similitud estadísticamente significativa entre las estructuras de las matrices estimadas y la de la matriz de hipótesis construída según el origen (disco imaginal) del desarrollo de los caracteres (Tabla D4). Esta correspondencia fue mayor para la matriz de correlaciones genéticas ($Z' = 0.65$) que para todas las matrices de correlaciones fenotípicas estimadas (Tabla D4). Las únicas dos matrices en las que no se verificó tal relación corresponden a las de las correlaciones fenotípicas estimadas en los machos de *D. buzzatii* de las poblaciones de Arroyo Escobar y de Quilmes, aunque en las hembras de *D. koepferae* la relación fue sólo marginalmente significativa (Tabla D4).

En *D. buzzatii* de ambas poblaciones analizadas, la correspondencia (Z') para las matrices de correlaciones fenotípicas estimadas, es mayor en las hembras que en los machos, pero en *D. koepferae* se verifica el efecto opuesto (Tabla D4). Estos resultados, combinados con que la correspondencia respecto de la estructura predicha por el modelo de discos imaginales resultó mayor para la matriz de correlaciones genéticas que para las matrices de correlaciones fenotípicas (Tabla D4), parecen acordar con la idea sugerida en III-c, de que las correlaciones fenotípicas sean más parecidas a las genéticas en las hembras que en los machos de *D. buzzatii*.

Finalmente, la matriz de varianzas y covarianzas genéticas estimada en moscas de *D. buzzatii* derivadas de la población de Arroyo Escobar (Tabla C3), también fue analizada para evaluar la hipótesis nula de falta de correspondencia entre dicha matriz y la predicha por el modelo del desarrollo en discos imaginales (Tabla D3). Como en el caso de las matrices de correlaciones (Tabla D4), los resultados de la prueba de Mantel indicaron una correspondencia estadísticamente

significativa entre la matriz de hipótesis formulada y la matriz de varianzas y covarianzas genéticas estimada (Tabla D5). De este modo, tanto las matrices de correlaciones genéticas y fenotípicas como la de varianzas y covarianzas genéticas estimadas en el presente estudio, parecen reflejar el modelo de organización del desarrollo en discos imaginales.

Tabla D1. Caracteres Estudiados y Nombre del Disco Imaginal del cual Derivan^a

Carácter	Abreviatura	Disco imaginal
Ancho de la cara	ACR	ojo-antena
Ancho de la cabeza	ACB	ojo-antena
Longitud del ojo	LO	ojo-antena
Longitud del tórax	LT	ala
Ancho del escutelo	AE	ala
Longitud del ala	LA	ala
Ancho del ala	AA	ala

^aVer Cowley y Atchley (1990) para más detalles sobre el disco imaginal del cual deriva cada carácter.

Tabla D2. Medias Aritméticas de las Correlaciones Genéticas y Fenotípicas Dentro y Entre Discos Imaginales^a

Matriz de correlación	Caracteres del disco	Caracteres del disco ojo-antena	Caracteres del disco ala
Genética en buz(AE)	Ojo-antena	0.28	
	Ala	0.19	0.35
Fenotípica en buz(AE) _m	Ojo-antena	0.52	
	Ala	0.17	0.46
Fenotípica en buz(AE) _h	Ojo-antena	0.51	
	Ala	0.36	0.41
Fenotípica en buz(Q) _m	Ojo-antena	0.44	
	Ala	0.39	0.43
Fenotípica en buz(Q) _h	Ojo-antena	0.33	
	Ala	0.28	0.40
Fenotípica en koe(Q) _m	Ojo-antena	0.69	
	Ala	0.59	0.71
Fenotípica en koe(Q) _h	Ojo-antena	0.61	
	Ala	0.46	0.51

^abuz(AE) = *D. buzzatii* de la población de Arroyo Escobar.

buz(AE)_m = machos de *D. buzzatii* de la población de Arroyo Escobar.

buz(AE)_h = hembras de *D. buzzatii* de la población de Arroyo Escobar.

buz(Q)_m = machos de *D. buzzatii* de la población de Quilmes.

buz(Q)_h = hembras de *D. buzzatii* de la población de Quilmes.

koe(Q)_m = machos de *D. koepferae* de la población de Quilmes.

koe(Q)_h = hembras de *D. koepferae* de la población de Quilmes.

Tabla D3. Matriz de Hipótesis Usada para Poner a Prueba la Hipótesis Nula de Independencia entre Correlaciones Genéticas y el Modelo del Desarrollo en Discos Imaginales

	ACR	ACB	LO	LT	AE	LA	AA
ACR	-						
ACB	1	-					
LO	1	1	-				
LT	0	0	0	-			
AE	0	0	0	1	-		
LA	0	0	0	1	1	-	
AA	0	0	0	1	1	1	-

Tabla D4. Estadístico de Mantel (Z') Normalizado, y su Nivel de Significación (p) Según la Distribución de 1000 Permutaciones al Azar, Midiendo la Similitud de las Matrices de Correlaciones Fenotípicas y Genéticas con la Matriz de Hipótesis del Desarrollo en Discos Imaginales Formulada en la Tabla D3*

Matriz de Correlación	Z'	p
Genética en buz(AE)	0.65	0.04
Fenotípica en buz(AE) <i>m</i>	0.21	0.19
Fenotípica en buz(AE) <i>h</i>	0.32	0.05
Fenotípica en buz(Q) <i>m</i>	0.16	0.17
Fenotípica en buz(Q) <i>h</i>	0.41	0.03
Fenotípica en koe(Q) <i>m</i>	0.48	0.04
Fenotípica en koe(Q) <i>h</i>	0.36	0.06

*buz(AE) = *D. buzzatii* de la población de Arroyo Escobar.

buz(AE)*m* = machos de *D. buzzatii* de la población de Arroyo Escobar.

buz(AE)*h* = hembras de *D. buzzatii* de la población de Arroyo Escobar.

buz(Q)*m* = machos de *D. buzzatii* de la población de Quilmes.

buz(Q)*h* = hembras de *D. buzzatii* de la población de Quilmes.

koe(Q)*m* = machos de *D. koepferae* de la población de Quilmes.

koe(Q)*h* = hembras de *D. koepferae* de la población de Quilmes.

Tabla D5. Resultados de la Prueba de Mantel Realizada para Evaluar la Similitud de la Matriz de Varianzas y Covarianzas Genéticas (G) Estimada en Moscas en la Población Derivadas de la Población de Arroyo Escobar y la Matriz de Predicha por el Modelo del Desarrollo en Discos Formulada en la Tabla D3*

Distribución de Z' en 1000 permutaciones				
Z'	$(Z'_p < Z'')$	$(Z'_p = Z')$	$(Z'_p > Z')$	p
0.63	972	28	0	0.029

III-e. VARIACION EN EL TAMAÑO Y LA FORMA CORPORAL, Y RECONSTRUCCION DE LAS FUERZAS SELEKTIVAS RESPONSABLES DE LA DIVERGENCIA MORFOMETRICA OBSERVADA ENTRE LAS POBLACIONES Y ESPECIES EXAMINADAS

Las moscas analizadas en este apartado son las mismas que las medidas para estimar las matrices de correlaciones fenotípicas presentadas en la Tabla C8: (i) moscas de *D. buzzatii* derivadas de la población de Arroyo Escobar, (ii) moscas de *D. buzzatii* derivadas de la población de Quilmes, y (iii) moscas de *D. koepferae* derivadas de la población de Quilmes. El valor medio y la desviación estándar de cada carácter medido en tales moscas, se muestran en la Tabla E1.

Divergencia en los Caracteres Morfométricos Medidos. Las moscas analizadas más pequeñas corresponden a *D. buzzatii* de la población de Arroyo Escobar, y las más grandes a *D. koepferae* de la población de Quilmes (ver medias de caracteres muy relacionados con el tamaño, como LT en Tabla E1). En todas las comparaciones, excepto para ACB entre *D. buzzatii* de Arroyo Escobar y *D. koepferae* de Quilmes, la diferencia entre los valores medios de cada carácter (DZ) es estadísticamente significativa (Tabla E2).

Aunque no se conoce inequívocamente la dirección en la cual ocurrió la evolución entre las poblaciones/especies examinadas, todos los valores de DZ se calcularon restando la media del grupo de moscas de mayor tamaño corporal menos la media del otro grupo comparado. Si la evolución hubiera ocurrido en la dirección opuesta, entonces los valores de DZ así calculados serían de idéntica magnitud pero de signo opuesto, y no se afectarían las conclusiones.

Los valores de DZ de las Figs. 7 y 8 se calcularon para los caracteres estandarizados a media cero y varianza uno, tal que los DZs están en una escala estandarizada permitiendo la comparación directa entre ellos. De la comparación de estos gráficos surge que el modelo de divergencia en los caracteres medidos es similar entre sexos. En todos los casos, los caracteres del ala (LA y AA) son los que muestran mayor divergencia (Figs., 7 y 8). En estos gráficos se observa claramente que la longitud del ojo (LO) evolucionó en la dirección opuesta a la de los otros caracteres analizados. En todos los caracteres, excepto ACB, la mayor divergencia se observa en la comparación entre koe(Q) y buz(AE) (Figs. 7 y 8). Para los caracteres LO y LA la menor divergencia se observa en la comparación intraespecífica (buz[Q] - buz[AE]) (Figs. 7 y 8). Sin embargo, para el resto de los caracteres no se observa una tendencia bien definida de que la divergencia sea menor en la comparación intraespecífica (Figs. 7 y 8). Finalmente, notar también que: (i) *D. koepferae* tiene alas más grandes y ojos más cortos que *D. buzzatii*; (ii) *D. buzzatii* de Quilmes tiene alas más grandes y ojos más cortos que *D. buzzatii* de Arroyo Escobar (Figs. 7 y 8).

Divergencia en la Forma Corporal. Los vectores de forma ajustados por el método de Burnaby se muestran en la Tabla E3. En todos los casos, los primeros dos autovectores de la matriz de varianzas y covarianzas de datos agrupados entre poblaciones/especies, explicaron entre el 70 y el 80% de la variación total en los caracteres transformados a logaritmos de base 10. También en todos los casos, el primer autovector explicó entre el 50 y el 60% de esta variación.

Los caracteres LA y AA son los que más contribuyen a la variación en la forma corporal entre las poblaciones o especies

analizadas, puesto que estos caracteres son los que hacen la mayor contribución positiva al primer vector de forma ajustado por el método de Burnaby (Tabla E3). En la comparación de *D. koepferae* con *D. buzzatii* de la población de Quilmes, los caracteres de la cabeza (ACR, ACB y LO) son los que más contribuyen al segundo autovector ajustado (Tabla E3), indicando que el tamaño de la cabeza también explica una cantidad sustancial de la variación en la forma corporal entre estas especies. En cuatro de los seis pares de grupos analizados el carácter LO contribuye alta y positivamente al segundo eje de Burnaby (Tabla E3), indicando que este carácter también contribuye a la variación entre las poblaciones/especies examinadas con respecto a la forma corporal.

En las Figs. 9 y 10 se muestran las diferencias (DZ) entre los valores medios de los caracteres ajustados con el método de Burnaby, ahora "variable de forma corporal." Para realizar estos gráficos, los caracteres fueron primeramente ajustados por tamaño y luego estandarizados en la forma de que cada uno de ellos tenga una distribución con media cero y varianza uno. Entonces, la magnitud de los diferentes DZs puede compararse directamente. Para todos los caracteres, el modelo de estos gráficos es similar en ambos sexos. Estos gráficos permiten ver claramente que, con respecto a la forma corporal, la evolución del tamaño del ala ocurrió en la dirección opuesta a la del tamaño de la cabeza. En general todos los caracteres medidos de la cabeza, que derivan del disco imaginal ojo-antena, han evolucionado en una misma dirección con respecto a la forma corporal, mientras que los caracteres del ala, lo cuales derivan del disco ala, han evolucionado en la dirección opuesta a la de los primeros (LT y AE no evolucionaron con respecto a la forma). Estos resultados acuerdan bien con la observación de que los caracteres derivados de un mismo disco imaginal están genética y fenotípicamente más inter-

correlacionados que con los de otro disco (ver III-d), haciendo posible que las características de partes corporales derivadas de diferentes discos evolucionen con mayor independencia que las derivadas de un mismo disco.

Para LA y LO, la mayor divergencia se observa en la comparación entre poblaciones de distinta especie y localidad (koe[Q] - buz[AE]), y la menor divergencia se verifica en la comparación intraespecífica, buz(Q) y buz(AE) (Figs. 9 y 10). De los caracteres medidos de la cabeza, LO parece exhibir la mayor divergencia con respecto a la forma corporal (Figs. 9 y 10). En la comparación entre koe(Q) y buz(AE), la mayor divergencia con respecto a la forma se observa para AA y LO. En particular, notar que *D. koepferae* tiene alas proporcionalmente más grandes y ojos proporcionalmente más cortos que *D. buzzatii* (Figs. 9 y 10). Esta última relación se verifica también entre *D. buzzatii* de Quilmes y de Arroyo Escobar: *D. buzzatii* de Quilmes tiene alas proporcionalmente más grandes y ojos proporcionalmente más cortos que *D. buzzatii* de Arroyo Escobar (Figs. 9 y 10).

En ambos sexos, el análisis de la función discriminante sobre los caracteres ajustados para las tres poblaciones/especies con el método de Burnaby, distinguió diferencias altamente significativas en la forma corporal (Figs. 11 y 12). En ambos casos, sólo la primer función discriminante fue significativa, mientras la segunda función no discriminó entre poblaciones/especies (Figs., 11 y 12). En ambos sexos, los principales caracteres que contribuyen a la separación por forma corporal son LO-ACR contra AA-LA (ver los coeficientes de FD1, Figs. 11 y 12). La mayor diferenciación en la forma corporal se observa entre *D. buzzatii* de Arroyo Escobar y *D. koepferae* de Quilmes (Figs. 11 y 12).

En resumen, los análisis de las funciones discriminantes indican que la forma corporal ha divergido sustancialmente entre las

entidades analizadas. La diferenciación entre *D. buzzatii* y *D. koepferae* es mayor en alopatria que en simpatria. De los caracteres medidos, LO y AA-LA son los que más explican tal divergencia.

Análisis Univariado de Selección Direccional. Los resultados del análisis univariado de selección direccional (*i.e.*, diferenciales s_n y s'_n), realizado para explicar la divergencia morfométrica observada, se muestran en las Tablas E2 y E4. Como consecuencia de que las diferencias en las medias de cada carácter (DZ) son relativamente pequeñas (Tabla E2), los diferenciales de selección estandarizados (s'_n) requeridos para explicar la diferenciación observada, son también muy pequeños (Tablas E4). Si se conociera el tiempo de divergencia entre estas poblaciones/especies, los diferenciales de selección direccional neta, s_n y s'_n , podrían transformarse a diferenciales de selección promedio por generación, s y s' . Ello sería factible simplemente dividiendo dichos diferenciales por el número de generaciones transcurridas desde el comienzo de la divergencia. Aunque los tiempos de divergencia no se conocen inequívocamente, es obvio que este cálculo llevaría a intensidades de selección indetectables en cualquier estudio micro-evolutivo. Por ejemplo, si se toma el diferencial s'_n más grande, cuyo valor es de 7.85 para AA entre *buz(AE)h* y *koe(Q)h* (Tabla E4), y se supone que el tiempo de divergencia entre *D. buzzatii* y *D. koepferae* es de tan sólo 500 años, tomando la estima pequeña de 10 generaciones por año (en el laboratorio este valor puede ser sustancialmente mayor), dicha intensidad de selección por generación sería $s' = 7.85 / 500 = 0.00157$. Ahora, este resultado se puede corregir por el hecho de que la variabilidad del tamaño del ala sea aproximadamente 5 veces mayor en la naturaleza que en las condiciones ambientales constantes usadas

para estimar la heredabilidad en el laboratorio (datos no presentados; Leibowits y col., 1995). Consecuentemente la heredabilidad será 5 veces menor que la usada para estimar s' , y esta corrección resulta en $s' = 0.00785$ por generación. En consecuencia, incluso suponiendo el tiempo de divergencia tan pequeño de 500 años, se concluye que la intensidad de selección direccional para el carácter medido más divergente (ancho del ala) es de tan sólo 0.008 desviaciones estándar por generación. Este valor disminuye en forma inversamente proporcional al incremento en el tiempo real de la divergencia.

Análisis Multivariado de Selección Direccional. En la Tabla E4 se muestra la fuerza de selección direccional neta estimada por el gradiente de selección, β_n , asociado a la divergencia morfométrica observada. Al considerar las covarianzas genéticas entre los caracteres, los coeficientes β_n estiman la verdadera fuerza de la selección que ha actuado sobre cada carácter para producir la divergencia morfométrica observada actualmente. Como fueron calculados sobre los mismos datos y en las mismas unidades, la magnitud de los diferenciales β_n puede compararse directamente con la de los diferenciales s_n (Tabla E2). Como una de las consecuencias de las covarianzas genéticas, surge el interesante resultado de que la fuerza de selección neta requerida para explicar la divergencia morfométrica entre las poblaciones/especies examinadas, es en realidad muchísimo mayor cuando se consideran las covarianzas genéticas (β_n) que cuando no (comparar β_n con s_n , Tabla E2). La razón para ello es que mientras todos los caracteres medidos están genética y fenotípicamente correlacionados en forma positiva (Tablas C1 y C8), la dirección de la selección no ha sido la misma sobre todos ellos (ver Fig. 13). En

consecuencia, las correlaciones genéticas, al ser todas de igual signo, pudieron ser un constreñimiento genético durante la divergencia.

Como se indicó en II-h, el gradiente de selección neta estandarizado (β'_n), es de suma utilidad para comparar cualitativamente la verdadera intensidad de selección que habría actuado sobre cada carácter para producir la divergencia morfométrica observada. Sin embargo, estos diferenciales β'_n no pueden compararse directamente con los diferenciales s'_n (ver II-h). Los diferenciales β'_n estimados se dan en la Tabla E4 y las Figs. 13 y 14.

Los diferenciales β'_n estimados en los machos (Fig. 13), indicaron que el tamaño de las alas (LA y AA), el ancho de la cabeza (ACB y ACR), y la longitud del ojo son los principales caracteres sobre los cuales actuó la selección direccional responsable de la diferenciación observada en las Figs. 7 y 9. La dirección de la selección sobre la longitud del ojo fue claramente opuesta a la del resto de los caracteres medidos, excepto ACB entre *D. koepferae* y *D. buzzatii* de Quilmes (Fig. 13). Aunque la divergencia observada para LA y AA es mucho mayor que para los caracteres de la cabeza (Figs. 7), la intensidad de selección neta sobre ACB y LO habría sido tan alta como, o incluso mayor que, la intensidad de selección sobre el tamaño de las alas (Fig. 13). Debido a que LO está genética y fenotípicamente correlacionado en forma positiva con los otros caracteres medidos (Tablas C1 y C8), fue necesaria una gran intensidad de selección direccional (Fig. 13) para cambiar la media de LO en la dirección opuesta a la de los otros caracteres (Fig. 7). Con respecto a la forma corporal, viendo la dirección de la selección, aparentemente esta selección sobre LO habría sido la responsable de la evolución en igual dirección de los caracteres de la cabeza medidos, excepto ACB entre *buz(Q)*-*buz(AE)* (ver Fig. 9).

Con respecto a las hembras el modelo del gradiente β_n (Fig. 14) es esencialmente el mismo que en los machos (Fig. 13). Sin embargo, la intensidad de selección en algunos caracteres parece haber sido sustancialmente menor que en los machos. Particularmente, la mayor discrepancia entre sexos con respecto a la fuerza neta de selección se observa para los caracteres de la cabeza (comparar Figs. 13 y 14). Notablemente, en las divergencias "buz(Q)-buz(AE)" y "koe(Q)-buz(AE)" la intensidad de selección implicada sobre ACB es aproximadamente 4 veces mayor en los machos que en las hembras (Figs. 13 y 14). Es posible que esta diferencia entre sexos pudo deberse a la presencia de varianza genética aditiva ligada al cromosoma X (ver IV-b y IV-e2).

Un resultado intrigante es que la selección sobre ACB implicada en la divergencia entre las especies en simpátria, "koe(Q)-buz(Q)," es de dirección opuesta a la implicada en la divergencia alopátrica (Fig. 13). Puesto que el ancho de la cabeza parece tener algún efecto sobre el éxito copulatorio de estos insectos (ver III-a), tal vez este resultado pudo en realidad reflejar la existencia de selección sexual disruptiva sobre ACB, más bien que selección direccional.

Finalmente, un resultado muy consistente en ambos sexos, es que ni la longitud del tórax, ni el ancho del escutelo, habrían sido caracteres adaptativamente implicados en la divergencia morfométrica entre las poblaciones/especies examinadas. En consecuencia, la divergencia observada en estos dos caracteres (Figs. 7 y 8) habría evolucionado como una mera consecuencia de sus correlaciones genéticas con los tamaño de partes corporales (alas y cabeza) seleccionadas.

Tabla E1. Valores Medios y Desviación Estándar Estimados para cada Carácter Morfométrico Medido en Moscas de *Drosophila buzzatii* y de *D. koepferae* Derivadas de las Poblaciones Naturales de Arroyo Escobar (AE) y de Quilmes (Q)^a

Especie	Pob.	ACR	ACB	LO	LT	AE	LA	AA
Machos	AE							
de		3.443	4.289	3.768	4.462	3.397	4.066	4.364
<i>D. buzzatii</i>		(0.100)	(0.046)	(0.032)	(0.027)	(0.054)	(0.031)	(0.035)
Hembras	AE							
de		3.549	4.359	3.829	4.544	3.479	4.150	4.429
<i>D. buzzatii</i>		(0.041)	(0.030)	(0.027)	(0.025)	(0.041)	(0.029)	(0.029)
Machos	Q							
de		3.483	4.324	3.758	4.484	3.427	4.114	4.431
<i>D. buzzatii</i>		(0.038)	(0.023)	(0.024)	(0.024)	(0.038)	(0.029)	(0.027)
Hembras	Q							
de		3.566	4.378	3.811	4.562	3.496	4.185	4.495
<i>D. buzzatii</i>		(0.034)	(0.018)	(0.025)	(0.021)	(0.030)	(0.025)	(0.035)
Machos	Q							
de		3.510	4.321	3.735	4.517	3.458	4.191	4.500
<i>D. koepferae</i>		(0.054)	(0.034)	(0.039)	(0.044)	(0.051)	(0.045)	(0.042)
Hembras	Q							
de		3.581	4.372	3.790	4.577	3.506	4.239	4.551
<i>D. koepferae</i>		(0.052)	(0.031)	(0.028)	(0.032)	(0.038)	(0.034)	(0.032)

^aLos valores corresponden a los logaritmos naturales de unidades oculares. Los valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar. El tamaño de la muestra para cada estima es 100. Todos los valores están dados en logaritmos naturales de unidades oculares (u.o.). Para LA, 1 u.o. = 0.025 mm, para los caracteres restantes, 1 u.o. = 0.0125 mm.

Tabla K2. Divergencia Morfométrica Absoluta en Cada Carácter (DZ), Diferenciales de Selección Neta (s_n) y Gradientes de Selección Neta (β_n) Asociados a la Divergencia (DZ) Morfométrica Observada entre las Poblaciones Examinadas de *D. buzzatii* y *D. koepferae*^a

Poblaciones	Carácter	DZ	s_n	β_n
<i>buz(Q)_m - buz(AE)_m</i>				
	ACR	0.0393*	0.1511	18.3652
	ACB	0.0344*	0.1147	323.4597
	LO	-0.0104*	-0.0289	-113.5821
	LT	0.0216*	0.0423	-28.3152
	AE	0.0305*	0.0526	5.4992
	LA	0.0476*	0.0915	40.6888
	AA	0.0678*	0.1329	91.4588
<i>buz(Q)_h - buz(AE)_h</i>				
	ACR	0.0170*	0.0654	2.3419
	ACB	0.0181*	0.0603	180.6773
	LO	-0.0175*	-0.0486	-106.9890
	LT	0.0177*	0.0347	-1.7125
	AE	0.0169*	0.0291	-3.7587
	LA	0.0356*	0.0685	27.0159
	AA	0.0659*	0.1292	98.3420
<i>buz(Q)_m - koe(Q)_m</i>				
	ACR	0.0268*	0.1031	47.3797
	ACB	-0.0024	-0.0080	-108.0030
	LO	-0.0225*	-0.0625	-121.3430
	LT	0.0331*	0.0649	33.8577
	AE	0.0309*	0.0533	-4.532
	LA	0.0769*	0.1479	131.9503
	AA	0.0688*	0.1349	68.4794
<i>buz(Q)_h - koe(Q)_h</i>				
	ACR	0.0153*	0.0588	35.0440
	ACB	-0.0058	-0.0193	-106.2010
	LO	-0.0206*	-0.0572	-91.9662
	LT	0.0153*	0.0300	4.7215
	AE	0.0096*	0.0165	-10.0529
	LA	0.0537*	0.1033	98.1288
	AA	0.0560*	0.1098	66.7301

Tabla E2. Continuación.

Poblaciones	Carácter	DZ	s_n	β_n
buz(AE) <i>m</i> - koe(Q) <i>m</i>				
	ACR	0.0661*	0.2542	65.74499
	ACB	0.0320*	0.1067	215.4565
	LO	-0.0329*	-0.0914	-234.9260
	LT	0.0547*	0.1072	5.5425
	AE	0.0614*	0.1059	0.9672
	LA	0.1245*	0.2394	172.6391
	AA	0.1366*	0.2678	159.9382
buz(AE) <i>h</i> - koe(Q) <i>h</i>				
	ACR	0.0323*	0.1242	37.3859
	ACB	0.0123*	0.0410	74.4763
	LO	-0.0380*	-0.1058	-198.9550
	LT	0.0330*	0.0647	3.0010
	AE	0.0265*	0.0457	-13.8116
	LA	0.0893*	0.1717	125.1448
	AA	0.1219*	0.2390	165.0721

*buz(AE)*m* = machos de *D. buzzatii* de la población de Arroyo Escobar.
 buz(AE)*h* = hembras de *D. buzzatii* de la población de Arroyo Escobar.
 buz(Q)*m* = machos de *D. buzzatii* de la población de Quilmes.
 buz(Q)*h* = hembras de *D. buzzatii* de la población de Quilmes.
 koe(Q)*m* = machos de *D. koepferae* de la población de Quilmes.
 koe(Q)*h* = hembras de *D. koepferae* de la población de Quilmes.
 Los niveles de significación estadística se evaluaron con la prueba no paramétrica de Mann-Whitney (Sokal y Rohlf, 1981, p. 432), y en todos los casos se obtuvieron conclusiones similares con la prueba paramétrica "t." Todos los valores están dados en logaritmos naturales de unidades oculares (u.o.). Para LA, 1 u.o. = 0.025 mm, para los caracteres restantes, 1 u.o. = 0.0125 mm.

*p < 0.00001.

Tabla K3. Vectores de Forma Ajustados por el Método de Burnaby para Remover la Variación en el Tamaño Corporal Observada entre las Poblaciones de *D. buzzatii* y *D. koepferae* analizadas^a

Carácter	Ejes de Forma Libres de Variación en Tamaño						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
<i>koe(Q)_m - buz(AE)_m</i>							
ACR	-.14357	-.42152	-.44065	-.11970	.21499	-.12287	.13268
ACB	-.06282	-.09517	.10909	.14587	-.85883	.13242	-.27178
LO	-.18064	-.15232	.53022	.60938	.23183	.28562	.32823
LT	.05568	.20629	.21422	.26353	.29214	-.48065	-.67352
AE	.03457	.18962	.59104	-.68971	.06379	.08360	.08218
LA	.27253	.52631	-.08300	.19381	-.20692	-.45055	.55374
AA	.28568	.48573	-.30534	.09542	.17362	.66692	-.18379
<i>koe(Q)_h - buz(AE)_h</i>							
ACR	-.11607	.17490	-.63615	-.29657	-.08990	.05315	.34173
ACB	-.11558	.16021	-.10331	.08045	.08387	-.06022	-.88164
LO	-.28300	.31004	.18186	.69076	.32129	.25390	.26955
LT	.00971	-.03725	.26265	.17582	-.23864	-.83821	.16216
AE	-.05671	.05756	.67809	-.55146	.13074	.22717	.06246
LA	.28581	-.36982	.09996	.29491	-.64231	.41439	-.03808
AA	.45990	-.55167	-.10902	.07685	.62849	-.05620	.03854
<i>koe(Q)_m - buz(Q)_m</i>							
ACR	-.05250	.28431	.57902	-.53993	.03092	.06484	.25525
ACB	-.09150	.30628	.07523	.08533	.01628	-.08244	-.88665
LO	-.15535	.50561	-.08629	.62424	-.09252	.36956	.30639
LT	-.00022	-.04532	-.09470	.24595	.28658	-.79877	.21670
AE	-.01684	.02666	-.78123	-.43692	-.07084	.14658	.02866
LA	.15243	-.55006	.10602	.18294	.53760	.43647	-.08050
AA	.12954	-.43589	.14309	.16193	-.78359	-.04876	-.02313
<i>koe(Q)_h - buz(Q)_h</i>							
ACR	-.07439	.32081	-.62343	-.29456	-.02696	.08999	.26599
ACB	-.08472	.27882	.02910	.09935	.03418	-.16899	-.86992
LO	-.13025	.31688	.20289	.78098	.10913	.28524	.26289
LT	.00070	-.07239	.26965	.01950	.19673	-.82475	.29140
AE	-.04181	.08052	.65849	-.39525	-.44025	.27081	.07841
LA	.16216	-.46386	.11801	-.13263	.68594	.35730	-.08002
AA	.19671	-.63087	-.21867	.34426	-.53202	-.02508	-.07598

Tabla E3. Continuación.

Carácter	Ejes de Forma Libres de Variación en Tamaño						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
buz(Q) _m - buz(AE) _m							
ACR	-.06363	-.46891	-.20244	-.08524	.21826	.08771	.05069
ACB	.02185	.10232	.04717	.23201	-.67988	-.58856	-.07286
LO	-.04856	.06795	.34528	.73143	-.08375	.47504	.28909
LT	.02540	.25009	.11004	.22447	.25002	.06558	-.88106
AE	.02256	.44138	.65738	-.46382	.11925	-.02144	.18785
LA	.11081	.48190	-.36453	.30299	.51705	-.39264	.31142
AA	.14287	.49555	-.50061	-.21413	-.37269	.51107	-.00119
buz(Q) _h - buz(AE) _h							
ACR	-.08500	.25619	-.67882	-.29315	.00395	.31240	-.10795
ACB	-.00453	.12299	-.14032	.03905	-.08020	-.81119	.41875
LO	-.17340	.35751	.11490	.77202	.32161	.21181	.10294
LT	.00087	.01009	.18569	.11654	-.14234	-.31559	-.85568
AE	-.06842	.14197	.66703	-.48390	.18963	.14843	.16384
LA	.08842	-.27621	.12415	.23729	-.78550	.27508	.20700
AA	.28485	-.75318	-.10356	.10865	.46567	.01788	.02286

*Los valores en negrita indican los contribuciones más altas de cada carácter sobre los primeros dos ejes de forma. El porcentaje de la variación morfométrica total explicada por los primeros dos autovectores de la matriz de varianzas y covarianzas entre grupos se da en el texto. La separación por forma corresponde a los pares de grupos de moscas indicados según las siguiente notación:

buz(AE)_m = machos de *D. buzzatii* de la población de Arroyo Escobar.
 buz(AE)_h = hembras de *D. buzzatii* de la población de Arroyo Escobar.
 buz(Q)_m = machos de *D. buzzatii* de la población de Quilmes.
 buz(Q)_h = hembras de *D. buzzatii* de la población de Quilmes.
 koe(Q)_m = machos de *D. koepferae* de la población de Quilmes.
 koe(Q)_h = hembras de *D. koepferae* de la población de Quilmes.

Tabla K4. Divergencia Morfométrica Estandarizada (DZ'), Diferenciales de Selección Neta Estandarizados (s'_n) y Gradientes de Selección Neta Estandarizados (β'_n) Asociados a la Divergencia Morfométrica Observada entre las Poblaciones de *D. buzzatii* y *D. koepferae* Examinadas^a

Poblaciones	Carácter	DZ'	s'_n	β'_n
<i>buz(Q)_m - buz(AE)_m</i>				
	ACR	0.5708*	2.1954	1.2644
	ACB	0.9957*	3.3189	11.1755
	LO	-0.3761*	-1.0448	-3.1405
	LT	0.8421*	1.6491	-0.7263
	AE	0.6652*	1.1469	0.2521
	LA	1.5920*	3.0615	1.2166
	AA	2.1906*	4.2953	2.8306
<i>buz(Q)_h - buz(AE)_h</i>				
	ACR	0.4545*	1.7482	0.0876
	ACB	0.7605*	2.5350	4.3001
	LO	-0.6629*	-1.8413	-2.8245
	LT	0.7815*	1.5323	-0.0388
	AE	0.4781*	0.8243	-0.1329
	LA	1.3210*	2.5403	0.7281
	AA	2.0691*	4.0570	3.1322
<i>buz(Q)_m - koe(Q)_m</i>				
	ACR	0.5801*	2.2311	2.1889
	ACB	-0.0842	-0.2807	-3.0781
	LO	-0.7154*	-1.9873	-3.8162
	LT	0.9622*	1.8867	1.1647
	AE	0.6905*	1.1905	-0.2028
	LA	2.1011*	4.0406	4.8294
	AA	2.0058*	3.9330	2.3488
<i>buz(Q)_h - koe(Q)_h</i>				
	ACR	0.3587*	1.3797	1.4946
	ACB	-0.2367	-0.7891	-2.6019
	LO	-0.7672*	-2.1312	-2.4693
	LT	0.5763*	1.1299	0.1254
	AE	0.2823*	0.4868	-0.3418
	LA	1.8173*	3.4947	2.8997
	AA	1.6667*	3.2680	2.2421

Tabla K4. Continuación.

Poblaciones	Carácter	DZ'	s'n	β'n
buz(AE) <i>m</i> - koe(Q) <i>m</i>				
	ACR	0.8568*	3.2953	5.0722
	ACB	0.7970*	2.6567	8.6506
	LO	-0.9267*	-2.5743	-8.3399
	LT	1.5344*	3.0085	0.1976
	AE	1.1695*	2.0164	0.0508
	LA	3.2850*	6.3172	6.5430
	AA	3.5343*	6.9300	6.1816
buz(AE) <i>h</i> - koe(Q) <i>h</i>				
	ACR	0.6954*	2.6745	1.7366
	ACB	0.4006*	1.3355	2.2864
	LO	-1.3631*	-3.7865	-5.5608
	LT	1.1538*	2.2624	0.0861
	AE	0.6717*	1.1582	-0.5449
	LA	2.8259*	5.4345	3.9546
	AA	4.0033*	7.8496	5.0264

*buz(AE)*m* = machos de *D. buzzatii* de la población de Arroyo Escobar.

buz(AE)*h* = hembras de *D. buzzatii* de la población de Arroyo Escobar.

buz(Q)*m* = machos de *D. buzzatii* de la población de Quilmes.

buz(Q)*h* = hembras de *D. buzzatii* de la población de Quilmes.

koe(Q)*m* = machos de *D. koepferae* de la población de Quilmes.

koe(Q)*h* = hembras de *D. koepferae* de la población de Quilmes.

*p < 0.00001.

FIGURAS

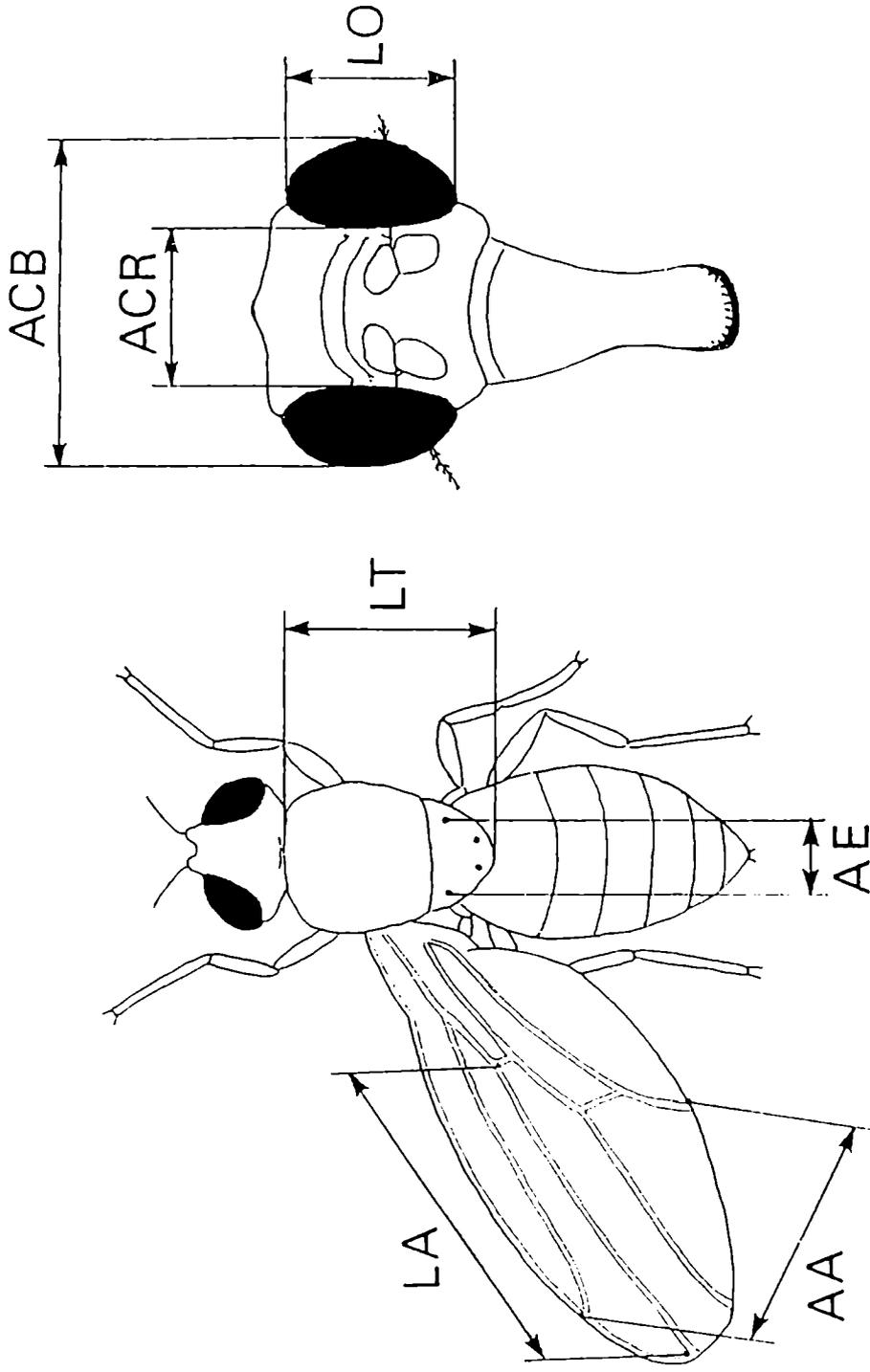


Figura 1. Descripción de los caracteres medidos. AA, ancho del ala; LA, longitud del ala; AE, ancho del escutelo; LT, longitud del tórax; LO, longitud del ojo; ACB, ancho de la cabeza; ACR, ancho de la cara.

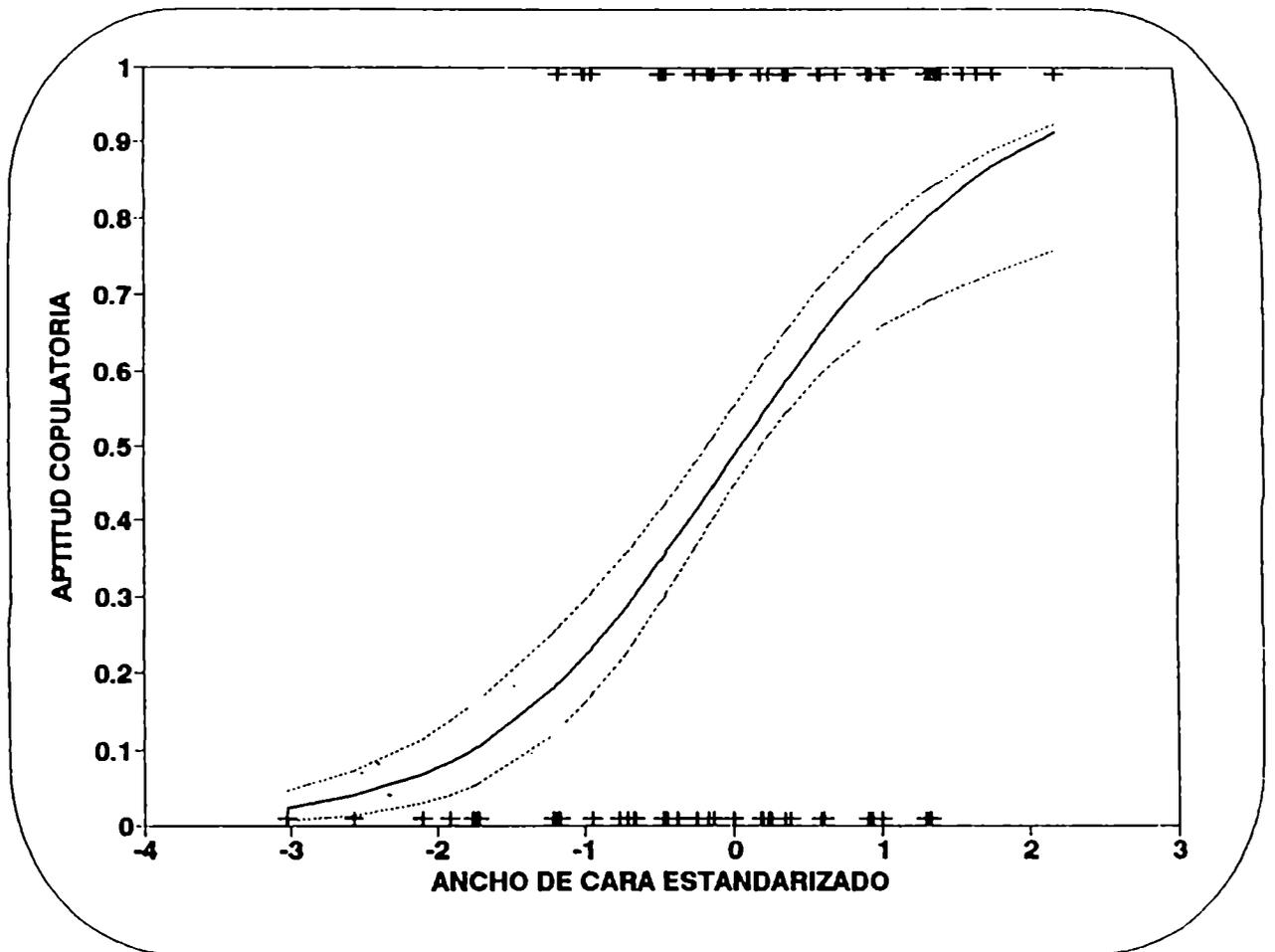


Figura 2. Aptitud copulatoria como una función del ancho de la cara en machos no axénicos de *Drosophila buzzatii*. Las curvas punteadas indican ± 1 error estándar de los valores predichos a partir de 400 réplicas "bootstrap" de la función no paramétrica de la aptitud copulatoria. El signo + indica los puntos de datos (notar que hay valores repetidos).

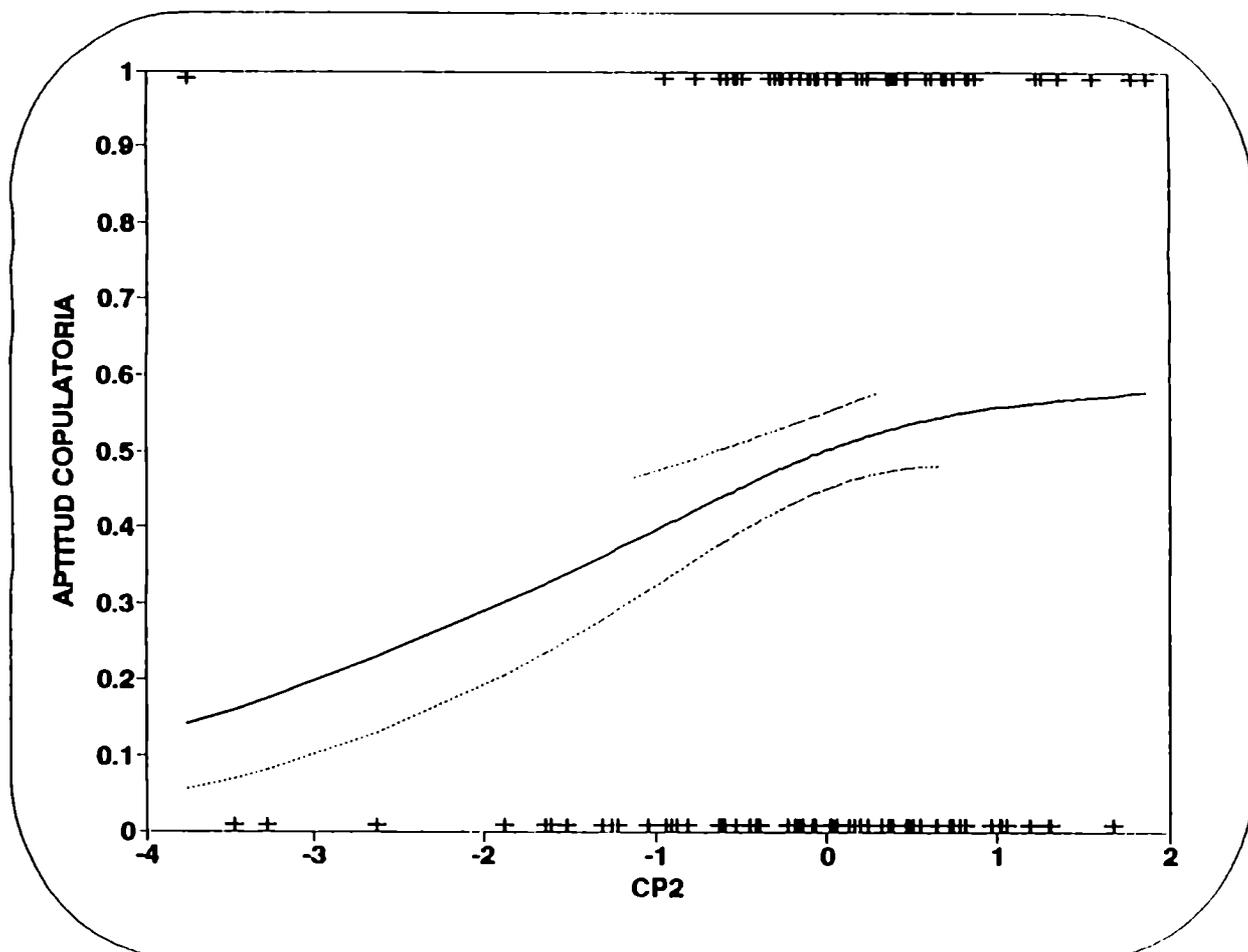


Figura 3. Aptitud copulatoria como una función del segundo componente principal (CP2 rotado) de la matriz de covarianzas fenotípicas asociada a los caracteres estandarizados en machos no axénicos de *Drosophila buzzatii*. CP2 está explicado por el ancho de la cabeza (Tabla A4). Las curvas punteadas indican ± 1 error estándar de los valores predichos a partir de 400 réplicas "bootstrap" de la función no paramétrica de la aptitud. El signo + indica los valores del CP2 rotado.

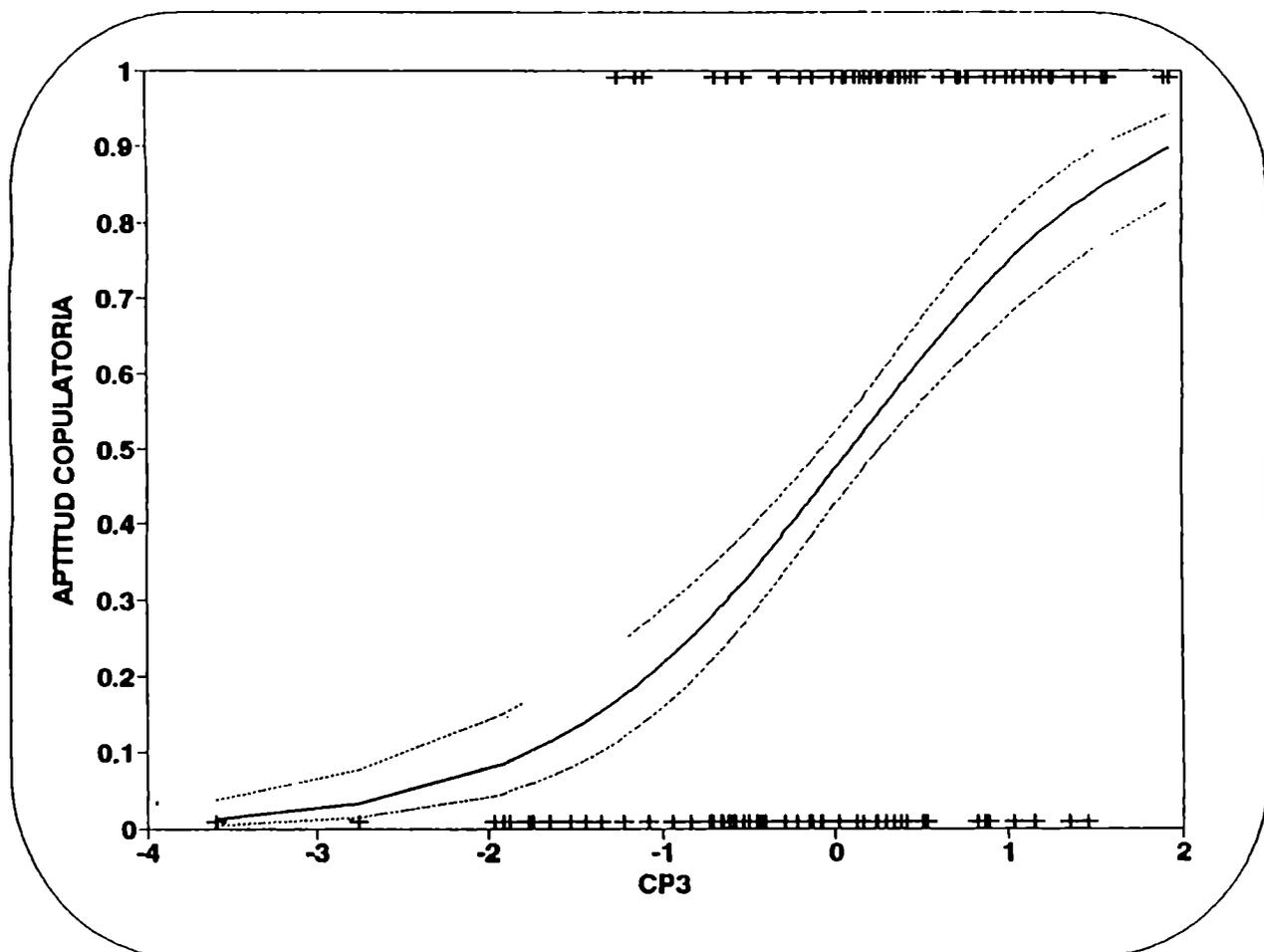


Figura 4. Aptitud copulatoria como una función del tercer componente principal (CP3 rotado) de la matriz de covarianzas fenotípicas asociada a los caracteres estandarizados en machos no axénicos de *Drosophila buzzatii*.

CP3 es explicado por el ancho de la cara (Tabla A4). Las curvas punteadas indican ± 1 error estándar de los valores predichos a partir de 400 réplicas "bootstrap" de la función no paramétrica de la aptitud. El signo + indica los valores del CP3 rotado.

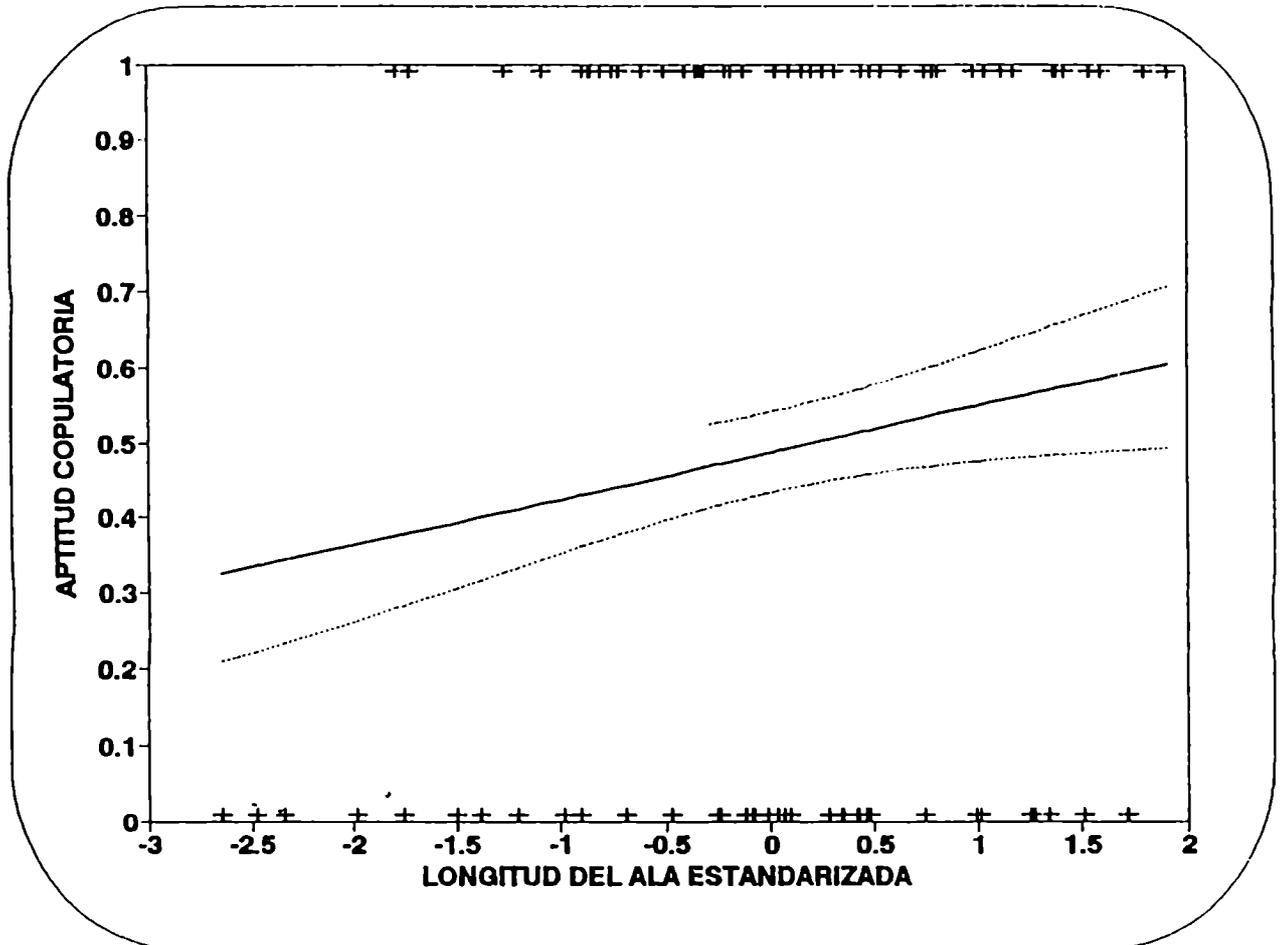


Figura 5. Aptitud copulatoria como una función de la longitud del ala estandarizada en machos no axénicos de *Drosophila buzzatii*.

Las curvas punteadas indican ± 1 error estándar de los valores predichos a partir de 400 réplicas "bootstrap" de la función no paramétrica de la aptitud. El signo + indica los puntos de datos (notar que hay valores repetidos).

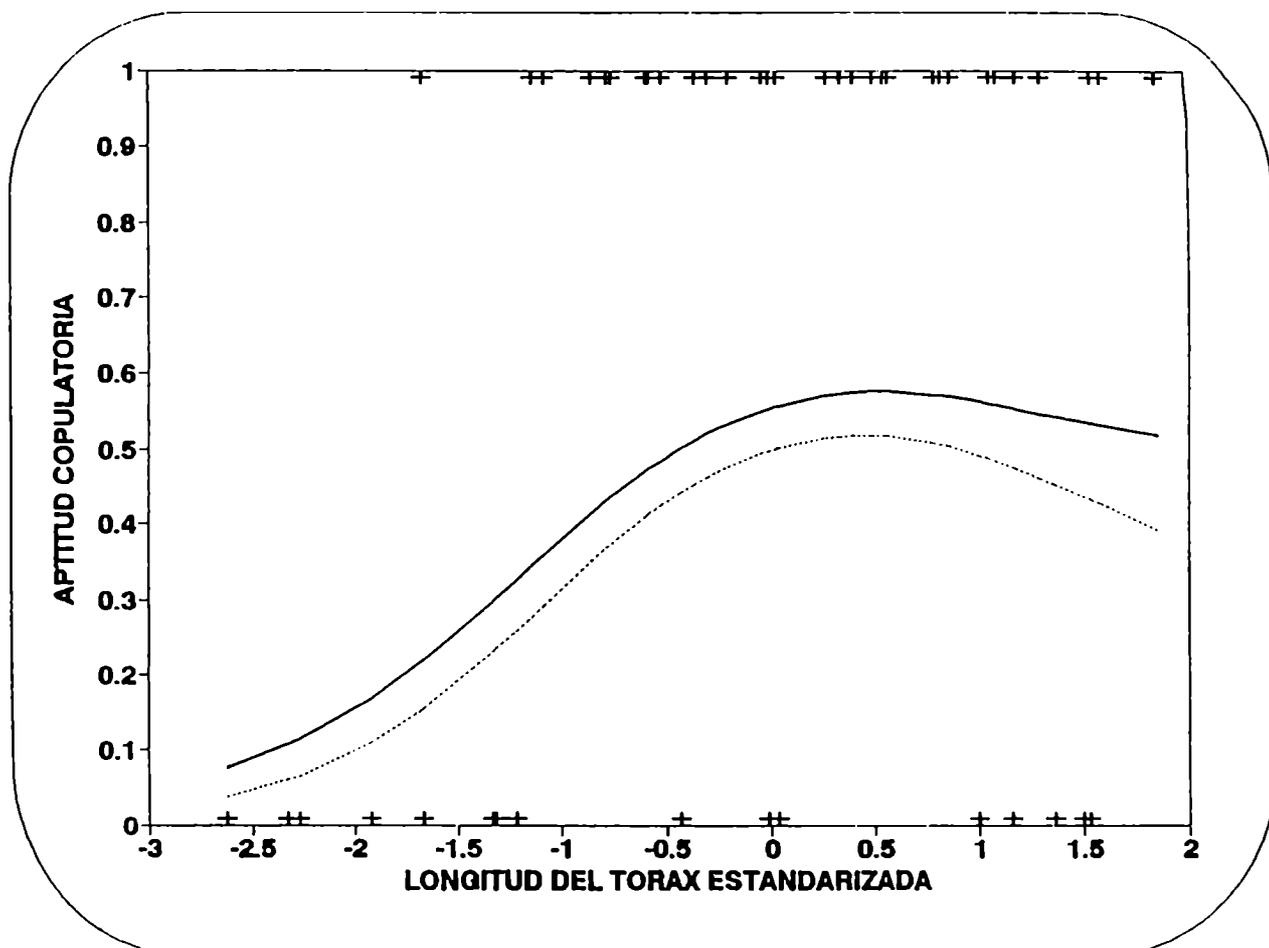


Figura 6. Aptitud copulatoria como una función de la longitud del tórax estandarizada en machos no axénicos de *Drosophila buzzatii*.

Las curvas punteadas indican ± 1 error estándar de los valores predichos a partir de 400 réplicas "bootstrap" de la función no paramétrica de la aptitud. El signo + indica los puntos de datos (notar que hay valores repetidos).

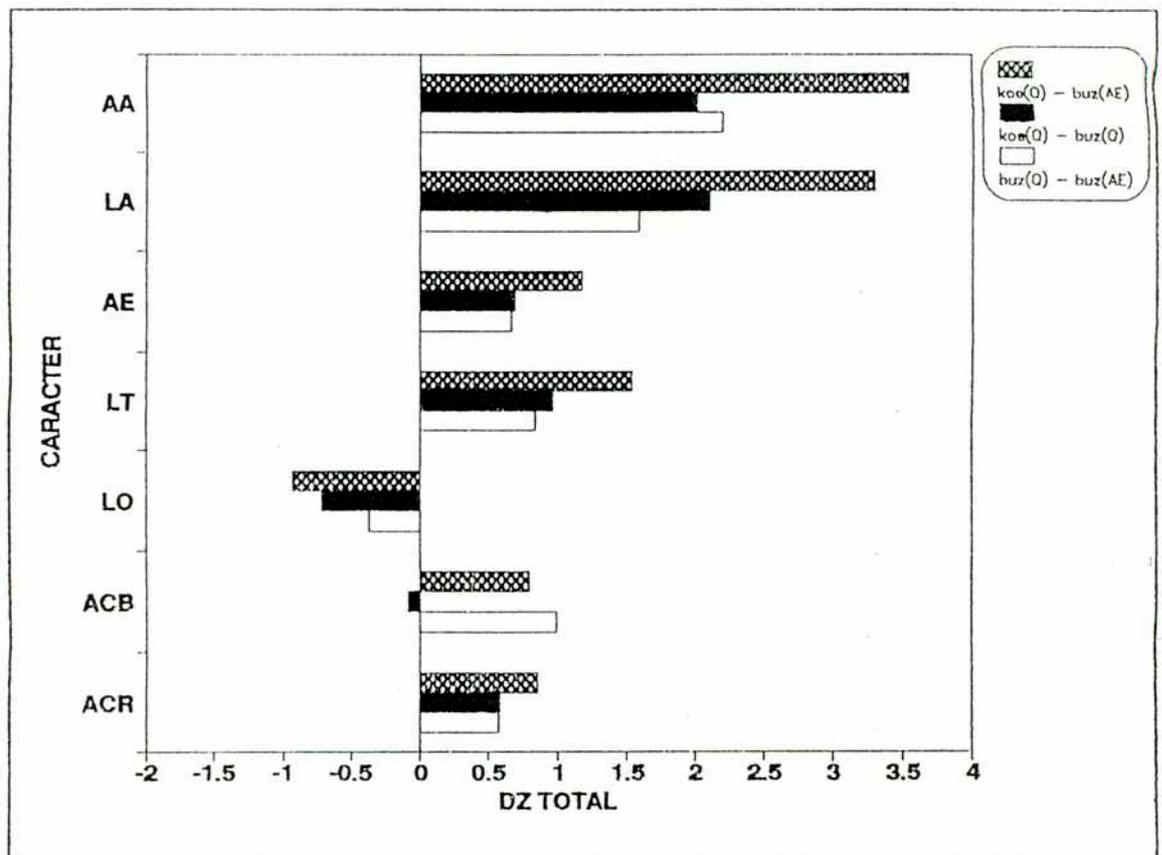


Figura 7. Divergencia morfométrica estandarizada (DZ'), observada en cada carácter, entre machos derivados de las poblaciones de *Drosophila buzzatii* y *D. koepferae* analizadas: *D. buzzatii* de Arroyo Escobar, buz(AE); *D. buzzatii* de Quilmes, buz(Q); *D. koepferae* de Quilmes, koe(Q).

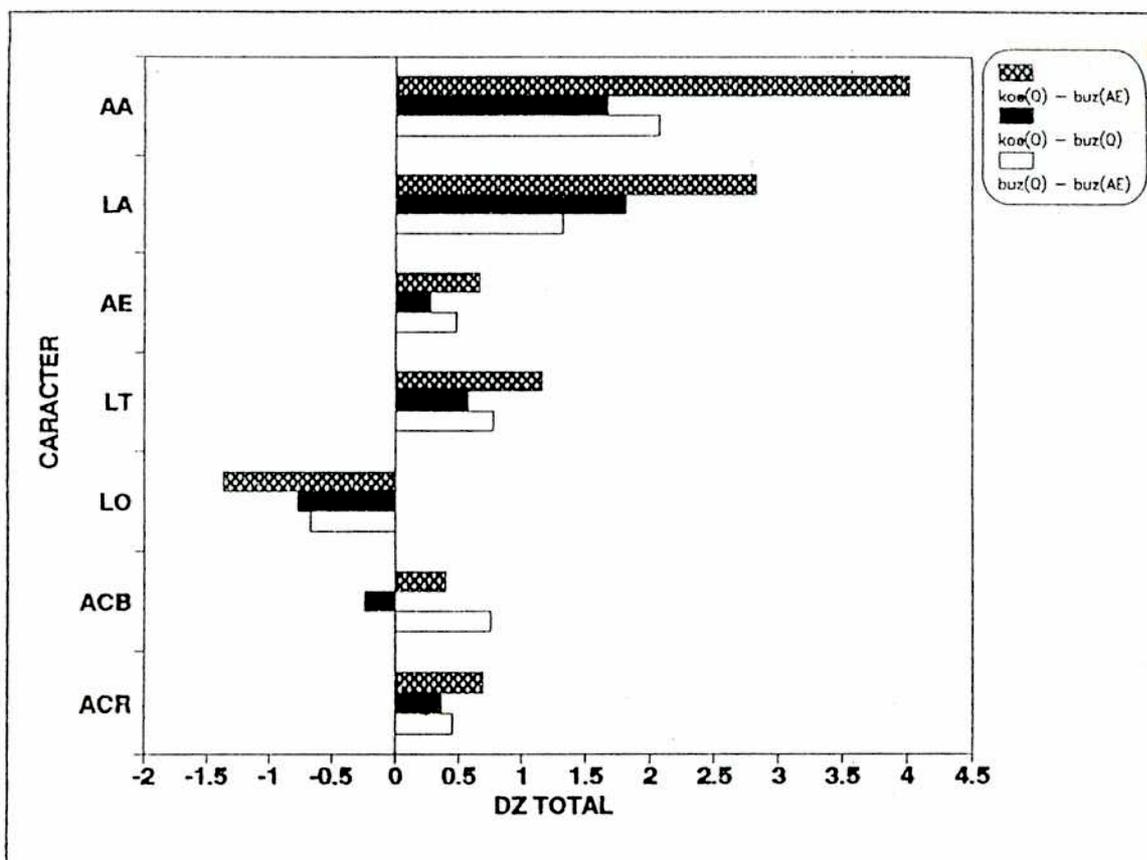


Figura 8. Divergencia morfométrica estandarizada (DZ'), observada en cada carácter, entre hembras derivados de las poblaciones de *Drosophila buzzatii* y *D. koepferae* analizadas: *D. buzzatii* de Arroyo Escobar, buz(AE); *D. buzzatii* de Quilmes, buz(Q); *D. koepferae* de Quilmes, koe(Q).

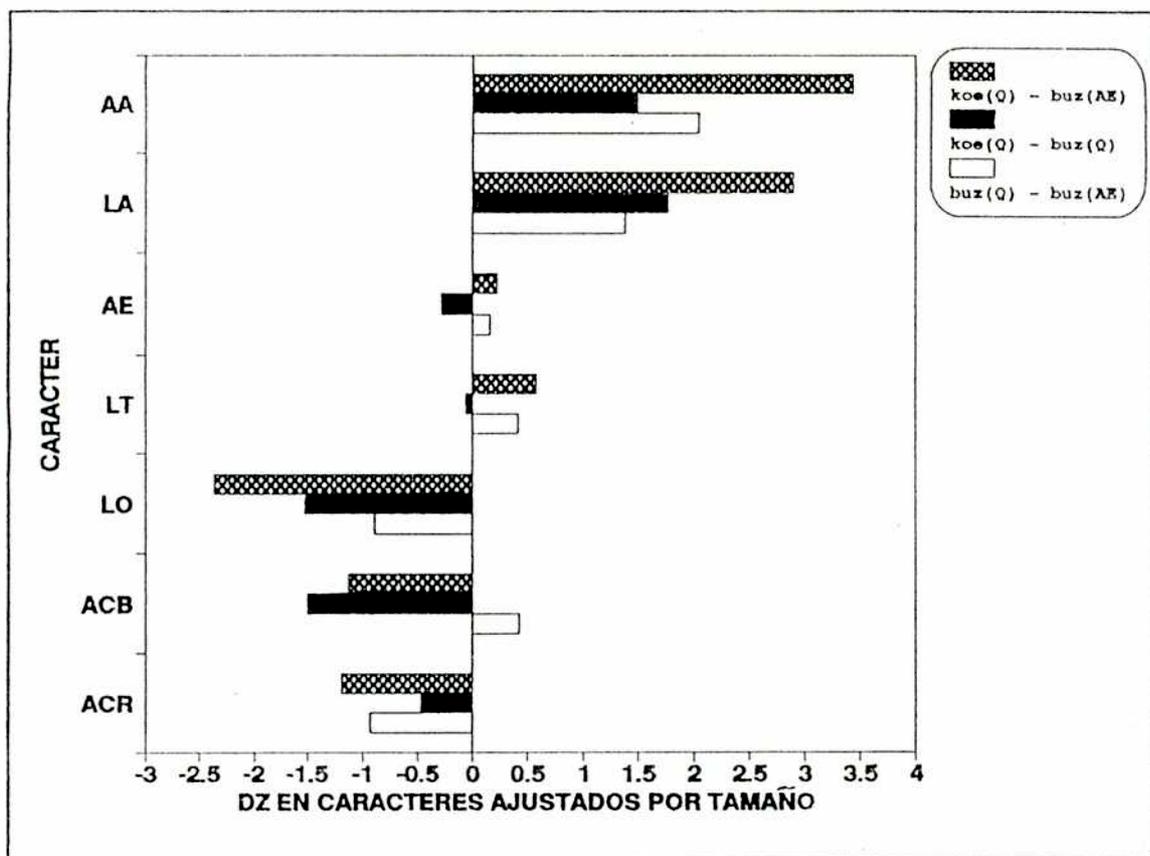


Figura 9. Divergencia morfométrica estandarizada (DZ') entre machos derivados de las poblaciones de *Drosophila buzzatii* y *D. koepferae* analizadas, para cada carácter una vez que la divergencia en el tamaño corporal ha sido completamente removida con el método de Burnaby. Las poblaciones son: *D. buzzatii* de Arroyo Escobar, buz(AE); *D. buzzatii* de Quilmes, buz(Q); *D. koepferae* de Quilmes, koe(Q).

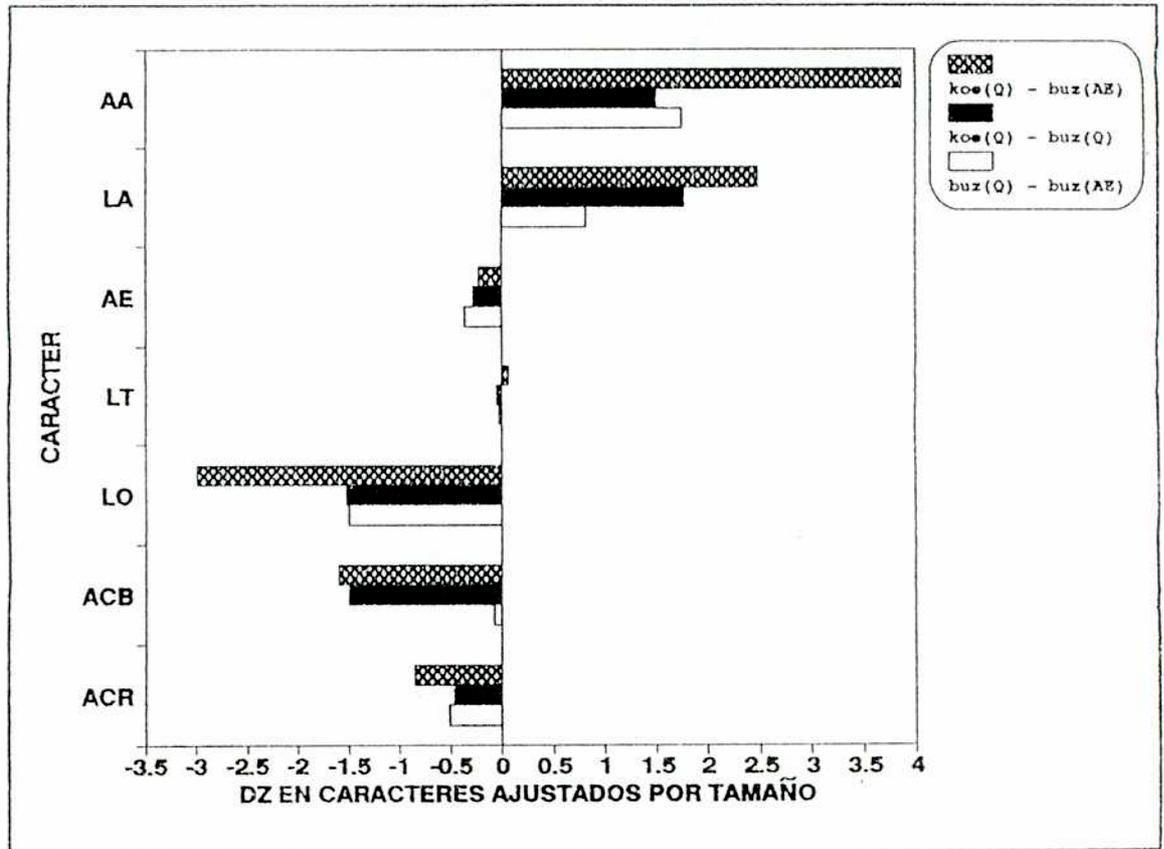


Figura 10. Divergencia morfométrica estandarizada (DZ') entre hembras derivados de las poblaciones de *Drosophila buzzatii* y *D. koepferae* analizadas, para cada carácter una vez que la divergencia en el tamaño corporal ha sido completamente removida con el método de Burnaby. Las poblaciones son: *D. buzzatii* de Arroyo Escobar, buz(AE); *D. buzzatii* de Quilmes, buz(Q); *D. koepferae* de Quilmes, koe(Q).

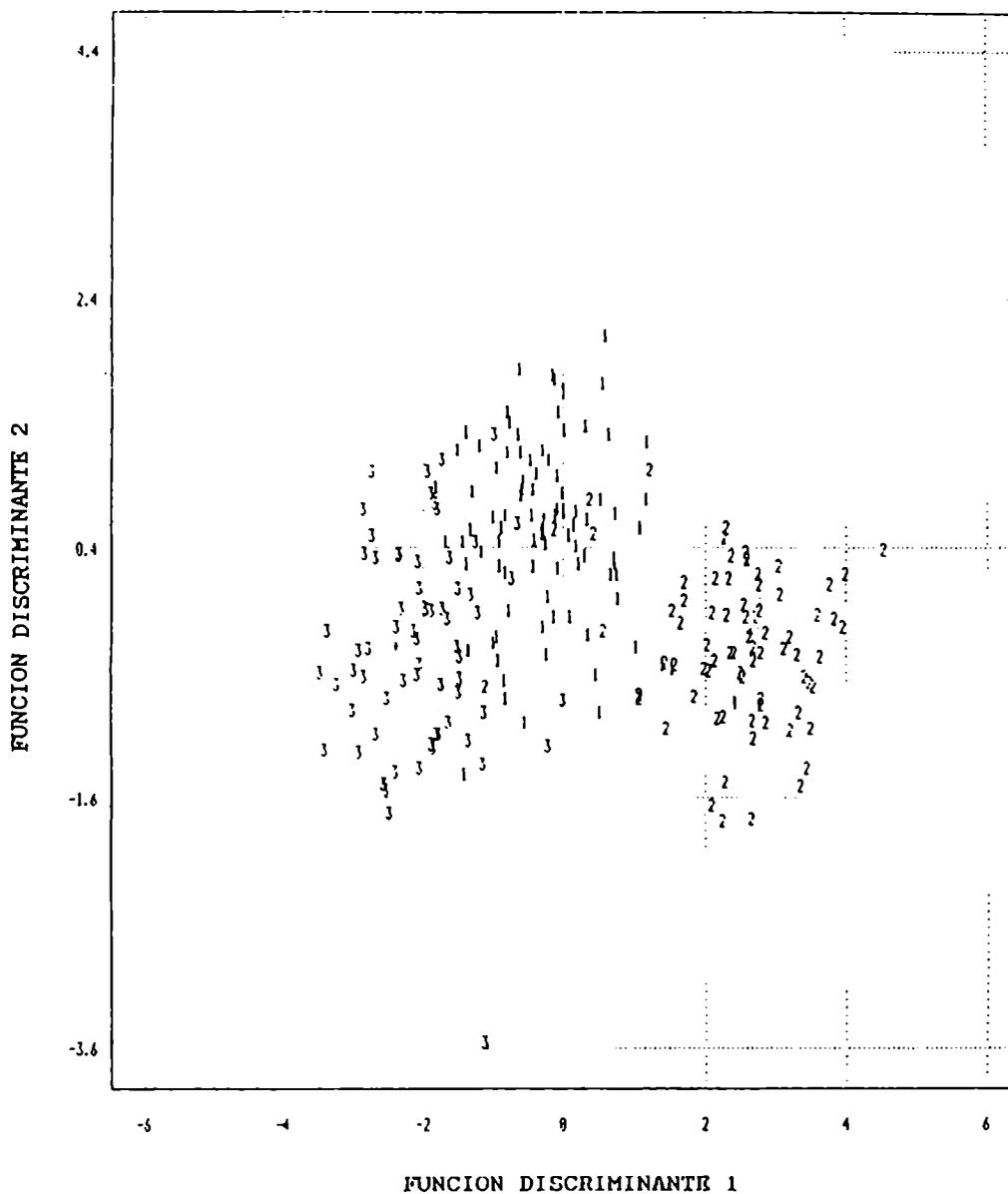


Figura 11. Registros de la función discriminante entre los machos derivados de las poblaciones o especies analizadas: (1) *D. buzzatii* de Quilmes; (2) *D. koepferae* de Quilmes; (3) *D. buzzatii* de Arroyo Escobar.

La primer función discriminante (FD1) de coeficientes estandarizados es:

$$\text{FD1} = -0.51 (\text{ACR}) - 0.16 (\text{ACB}) - 0.70 (\text{LO}) - 0.25 (\text{LT}) - 0.19 (\text{AE}) + 0.34 (\text{LA}) + 0.39 (\text{AA});$$

Para FD1: Lambda de Wilks= 0.82, $X^2 = 56.14$, g.l.= 6, $p < 0.000001$.

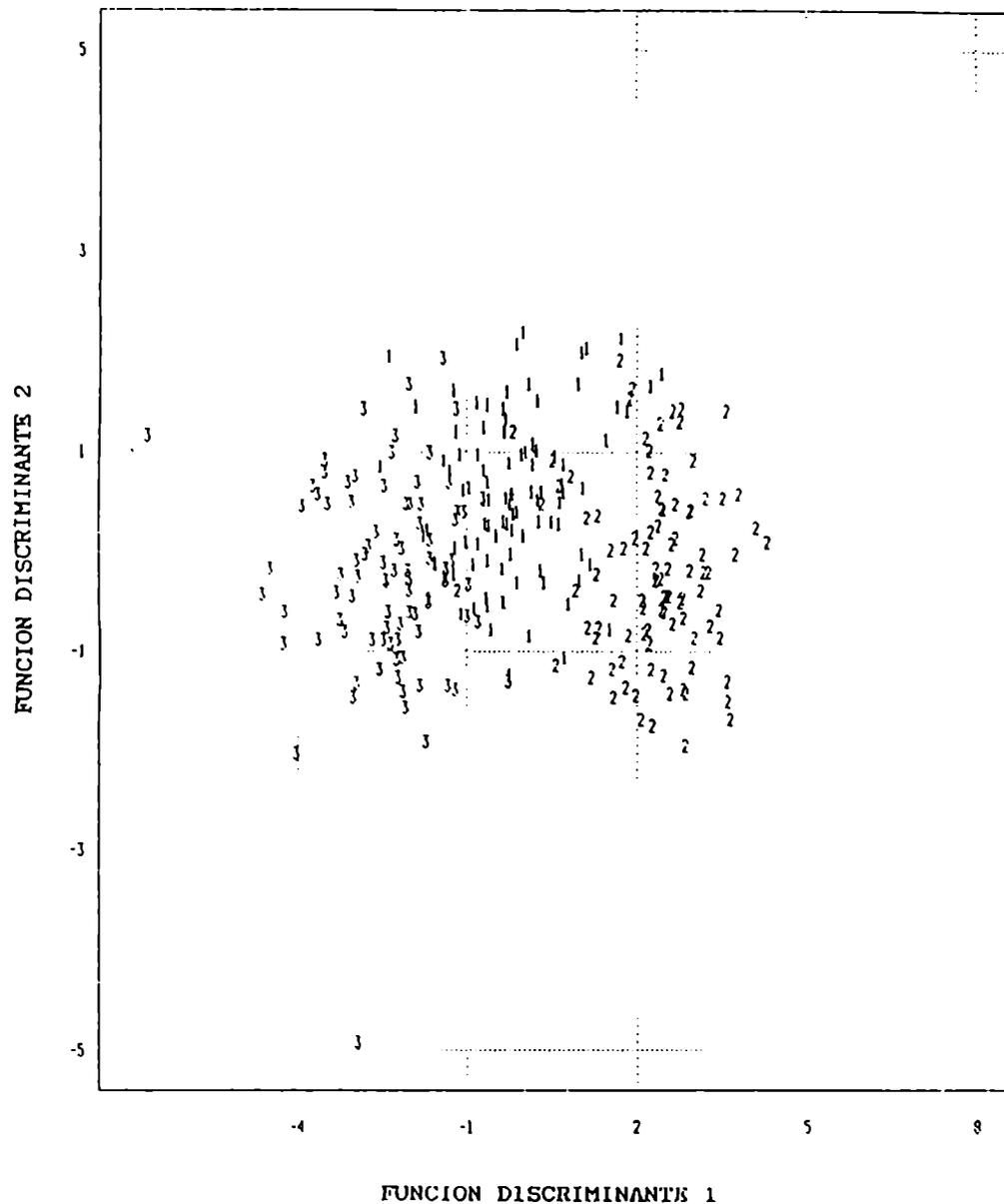


Figura 12. Registros de la función discriminante entre las hembras derivadas de las poblaciones o especies analizadas: (1) *D. buzzatii* de Quilmes; (2) *D. koepferae* de Quilmes; (3) *D. buzzatii* de Arroyo Escobar.

La función discriminante (FD1) de coeficientes estandarizados es:

$$FD1 = 1.15 (ACR) - 0.48 (ACB) - 1.00 (LO) - 0.49 (LT) - 0.82 (AE) - 0.16 (LA) - 0.04 (AA);$$

Para FD1: Lambda de Wilks= 0.85, $X^2 \approx 44.28$, g.l.= 6, $p < 0.000001$.

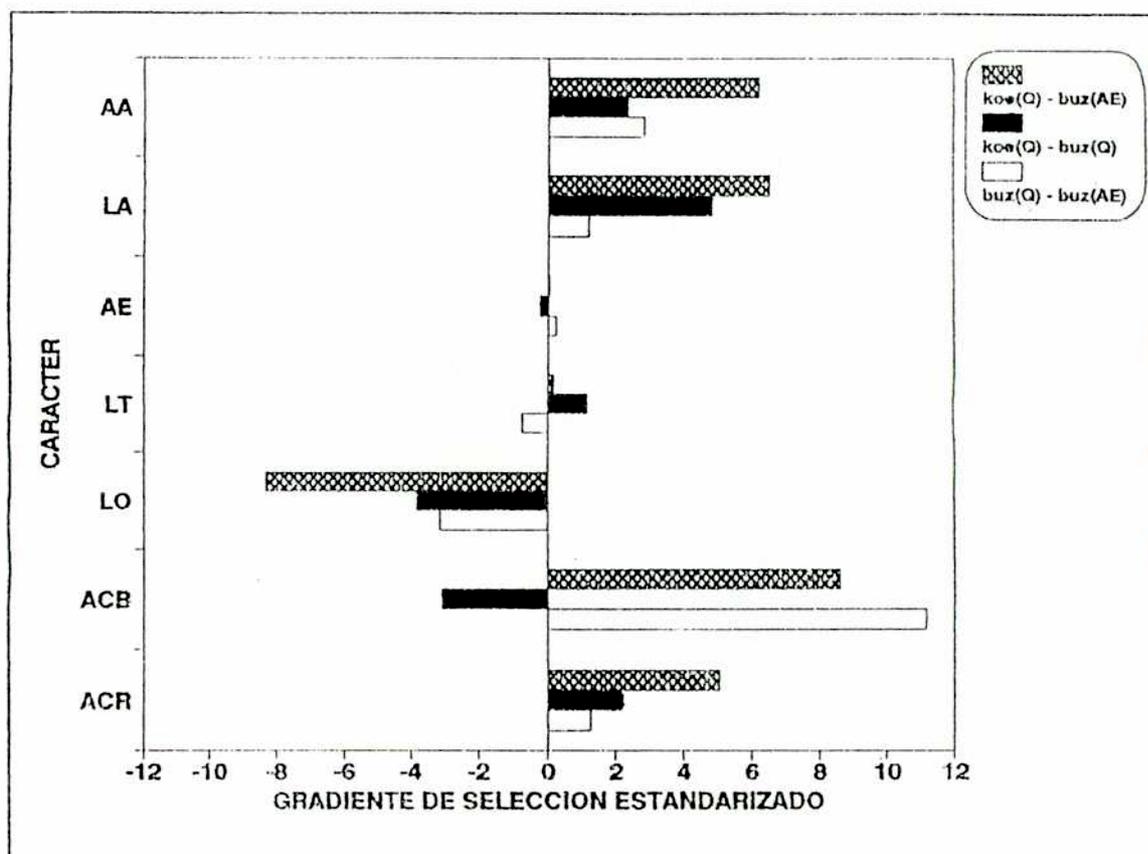


Figura 13. Gradiente de selección direccional estandarizado estimado para explicar la divergencia morfo-métrica observada para cada carácter entre machos derivados de las poblaciones de *Drosophila buzzatii* y *D. koepferae* Analizadas: *D. buzzatii* de Arroyo Escobar, buz(AE); *D. buzzatii* de Quilmes, buz(Q); *D. koepferae* de Quilmes, koe(Q).

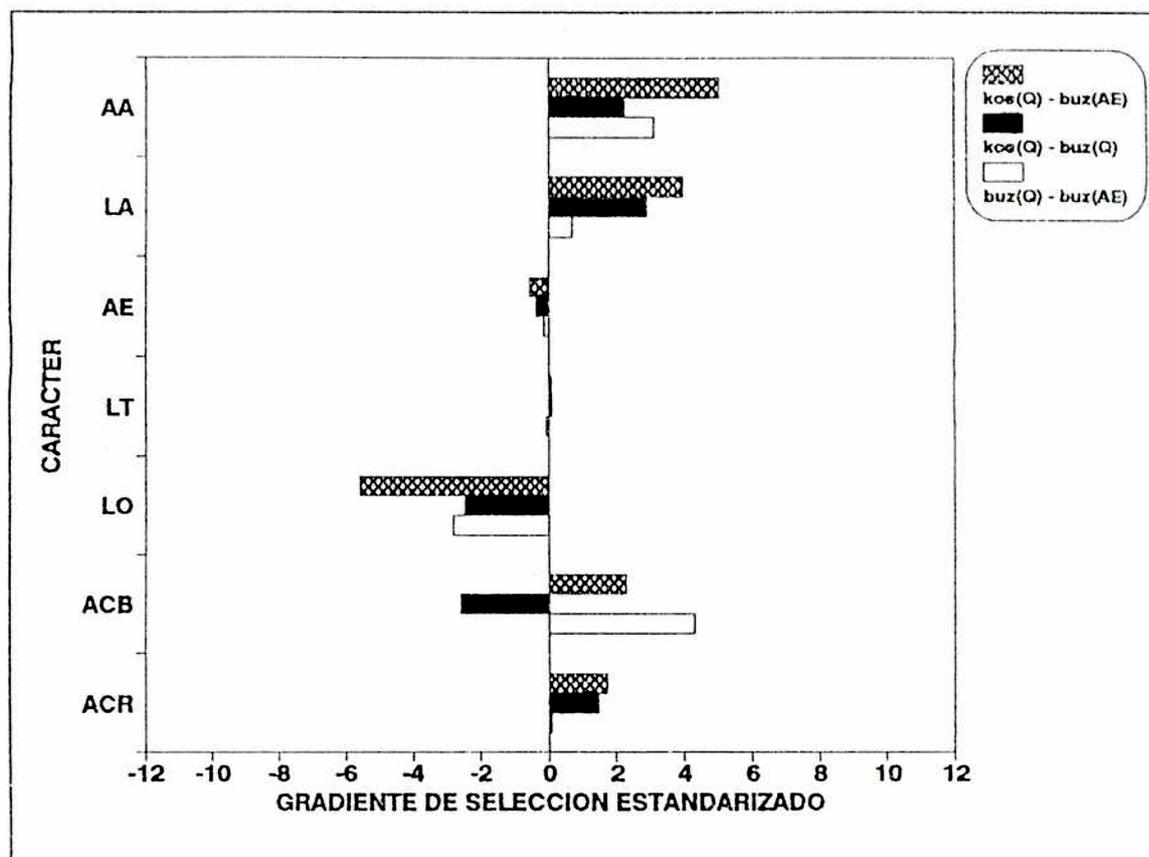


Figura 14. Gradiente de selección direccional estandarizado estimado para explicar la divergencia morfométrica observada para cada carácter, entre hembras derivadas de las poblaciones de *Drosophila buzzatii* y *D. koepferae* analizadas: *D. buzzatii* de Arroyo Escobar, buz(AE); *D. buzzatii* de Quilmes, buz(Q); *D. koepferae* de Quilmes, koe(Q).

DISCUSSION

IV-a. SELECCION SEXUAL RELACIONADA CON EL TAMAÑO CORPORAL (SSRT) EN

Drosophila buzzatii

Tomados en conjunto, los diferentes análisis de selección sexual realizados en este trabajo permiten una evaluación apropiada de la estructura de covarianza de los caracteres en su relación con la aptitud copulatoria. Particularmente, cuando los caracteres analizados están altamente correlacionados, como es el caso presente, se requieren diferentes ciclos de tal evaluación para verificar la robustez de las conclusiones (Crespi y Bookstein, 1989; Crespi, 1990). Los resultados obtenidos son consistentes en indicar que los machos no axénicos de caras anchas tienen una importante ventaja para obtener apareamientos, resultando en selección indirecta significativa sobre caracteres generalmente usados como índices del tamaño corporal en *Drosophila* (e.g., longitud del tórax). Mientras estos resultados también son consistentes con un estudio previo en moscas salvajes de *D. buzzatii* (Norry y col., 1995a), no existió la menor evidencia de selección sexual relacionada con el tamaño -en lo siguiente referida como SSRT- de machos axénicos, sugiriendo que tal selección podría estar influenciada por la dieta de levadura. Además, acordando con trabajos previos en esta especie, la SSRT detectada fue esencialmente direccional.

El tamaño corporal adulto está correlacionado positivamente con el éxito en el apareamiento (Santos y col., 1988, 1992; Leibowitz y col., 1995) y la longevidad adulta (Santos y col., 1992; Hasson y col., 1993) en poblaciones naturales de *D. buzzatii*. Observaciones similares fueron hechas en otras especies de *Drosophila* (e.g., Partridge y Farquhar, 1981; Partridge y col., 1987a). Santos y col. (1992) mostraron que tal asociación entre el tamaño corporal (medido

como la longitud del tórax) y el éxito en el apareamiento se debe parcialmente a efectos de longevidad. Dado que en el trabajo presente sólo se usaron moscas de igual edad, las inferencias acerca de selección no confunden selección sexual con selección ejercida a través del componente de selección de longevidad adulta. Para la población natural de Carboneras, Santos y col. (1992) estimaron la intensidad de selección sexual sobre la longitud del tórax del macho, comparando la longitud media del tórax de machos colectados mientras copulaban, con aquella de machos sexualmente maduros pero que no copulaban durante el periodo de observación. Sus valores fueron, 0.20 en Junio de 1990 y 0.21 en Noviembre del mismo año. Teniendo en mente que se han usado métodos completamente diferentes, estos valores de intensidad de selección sexual son sorprendentemente cercanos al valor de 0.198 estimado para el mismo carácter en el estudio presente (Tabla A2). Debido a que Santos y co-trabajadores (1992) sólo midieron un único carácter morfométrico (longitud del tórax), la magnitud del efecto directo del tamaño corporal sobre el éxito copulatorio no pudo inferirse en aquel estudio. Al menos parcialmente, es plausible que tal intensidad de selección sexual estimada por Santos y col. (1992) para este carácter en la naturaleza pueda explicarse por la selección directa sugerida sobre el ancho de la cara del macho, ya que esto puede producir selección fenotípica aparente sobre la longitud del tórax, según ocurrió en el experimento presente. Además, puesto que en el estudio presente no hubo evidencia alguna de selección directa sobre el tamaño corporal, puede concluirse que las moscas de *D. buzzatii* no eligen sus apareamientos sobre la base del tamaño general, confirmando sugerencias de Santos y col. (1988, 1992). Este descubrimiento acuerda con los resultados de Partridge y col. (1987) en *D. melanogaster*. Sin embargo, la hipótesis nula de elección de

apareamiento sobre el ancho de la cara del macho no es posible rechazarla con los datos presentes, y requiere más observaciones.

Existe la posibilidad de que el blanco directo de la SSRT sea un carácter o atributo no medido pero muy altamente correlacionado con el ancho de la cara, tal que el ancho de la cara no sería el blanco directo de la SSRT observada. Incluso en este caso supuesto, parece probable que la selección directa sugerida sobre el ancho de cara sea debida a SSRT actuando sobre algún(os) carácter(es) o atributo(s) de la cabeza del macho. El argumento para tal sugerencia se basa en que los caracteres derivados de un mismo disco imaginal están fenotípicamente y genéticamente más altamente correlacionados entre sí que con los caracteres de partes corporales derivadas de otros discos, según indican los resultados discutidos en IV-d.

Aunque la ocurrencia de una correlación positiva entre el tamaño corporal y el éxito en el apareamiento del macho ha sido un descubrimiento común en muchas especies de insectos, han habido pocos intentos para examinar si el tamaño corporal es en realidad el blanco directo de selección sexual en tales casos (pero ver Boake, 1989; Moore, 1990). Tal vez, la observación más interesante en el estudio presente emerge al considerar que los caracteres medidos relacionados al tamaño de una parte corporal (la cabeza del macho) que interactúa con comportamientos del cortejo son, a diferencia del tamaño corporal, los que mejor predicen el éxito copulatorio en *D. buzzatii* (Tablas B2-B8).

En este estudio los elementos de la secuencia del cortejo no se midieron experimentalmente. Sin embargo, debido a que se estimó la asociación directa de cada carácter con la aptitud copulatoria, es posible hacer algunas consideraciones con respecto al cortejo. En términos generales, durante la secuencia del cortejo en *D. buzzatii*, el macho primeramente se aproxima a la hembra vibrando una o ambas

alas. Este comportamiento se llama vibración del ala. Al comienzo, la hembra cortejada generalmente corre, y frecuentemente es perseguida por más de un macho. Luego, el macho comienza a lamer la genitalia de la hembra durante un período corto pero variable. Este comportamiento se llama lamida. Finalmente, el macho intenta copular (comportamiento de intento de copular) y si tiene éxito, monta a la hembra. En cada una de estas etapas, la hembra puede rechazar al macho corriendo, volando, y a veces extendiendo sus alas para impedir que el macho monte sobre ella. Como en otras especies de *Drosophila*, cuando las hembras comienzan a ser cortejadas por un macho, ellas generalmente corren, y sus movimientos pueden ser más veloces que el de los machos. A diferencia de algunas especies de *Drosophila* (Partridge y col., 1987a), en esta especie generalmente no se observan interacciones agresivas entre machos disputando una hembra y/o defendiendo territorios.

Starmer y col. (1988) mostraron que las levaduras transmitidas de sexo a sexo en *D. buzzatii* están mayoritariamente asociadas con la cabeza del macho y el abdomen de la hembra, indicando que tal transferencia ocurre durante el comportamiento de lamida del cortejo. En el presente estudio se verificó que los machos no axénicos (alimentados con levaduras) transmitieron levaduras vivas al sexo opuesto durante el cortejo y/o la cópula. Sugestivamente, mientras la cabeza del macho es una parte corporal muy relacionada con este comportamiento, no se detectó SSRT cuando este posible beneficio del cortejo se removió experimentalmente al manipular la dieta de levaduras. Tal vez, este descubrimiento podría sugerir que un mecanismo de elección de apareamiento, primariamente basado sobre alimentación del cortejo pudo ser el responsable de la selección detectada sobre el ancho de la cara del macho. Por ejemplo, si los machos de caras anchas tuvieran una capacidad incrementada para

transmitir levaduras durante el comportamiento de lamida, este atributo podría influenciar la elección de la hembra para aparear con machos más grandes. Alternativamente, el efecto de la dieta de levadura podría ser más complejo de lo que estas observaciones parecen sugerir. Por ejemplo, las levaduras pudieron incrementar el vigor o los niveles de actividad general (McRobert, 1986), mientras el mayor ancho de la cara, lo cual implica mayores piezas bucales (Norry, F., datos no publicados; ver Cowley y Atchley, 1988), pudo haber conferido alguna ventaja para alimentar. Así, si los machos con caras más grandes fueron más exitosos para consumir una dosis alta de levaduras, ellos pudieron ser más activos que sus colegas más pequeños, y de este modo pudieron ser favorecidos por un mecanismo tal como competición entre machos para encontrar y seguir a las hembras durante el experimento (ver Partridge y col., 1987b). Nuestros estudios pilotos, sugieren también que los machos de caras grandes son más aptos para rastrear y seguir el movimiento de las hembras, pero la evidencia es sólo conjetural. Como en el caso presente, la distinción inequívoca entre ambos tipos de selección sexual, intersexual e intrasexual, es una de las principales dificultades por las que atraviesan los estudios empíricos de selección sexual (e.g., Partridge y col., 1987b).

Hay también un problema aparente en los experimentos presentes. A causa de que se usaron diferentes temperaturas de crecimiento para generar variabilidad en el tamaño corporal, existe la posibilidad de que los resultados reflejen una interacción entre temperatura y SSRT. Por ejemplo, las moscas más grandes pudieron ser menos activas, como un efecto de que el tamaño corporal de *Drosophila* está negativamente correlacionado con la temperatura de crecimiento (Pantelouris, 1957; Tantaway, 1964; Robertson, 1987), y la baja temperatura de crecimiento podría afectar negativamente el nivel de actividad en la mosca adulta.

Como resultado, la falta de evidencia de SSRT en las moscas axénicas utilizadas en el presente experimento pudo, en realidad, reflejar tal efecto de temperatura. Sin embargo, incluso suponiendo que estos posibles escenarios sean reales, la dieta de levadura habría revertido el efecto de la temperatura, puesto que la SSRT fue sustancial en machos no axénicos. Incluso bajo estos posibles escenarios, dado que la temperatura de crecimiento es seguramente una causa fundamental de la variabilidad del tamaño corporal en poblaciones naturales de *Drosophila*, la variación de SSRT detectada entre machos axénicos y no axénicos, sería probablemente relevante incluso bajo condiciones naturales.

Un comportamiento de cortejo observado en muchas especies de *Drosophila*, que también podría ser un blanco de SSRT, es la vibración del ala del macho. Recientemente, Aspi y Hoikkala (1995) investigaron la importancia del canto del macho, que resulta de la vibración del ala, para el éxito en el apareamiento en poblaciones naturales de las especies boreales *D. littoralis* y *D. montana*. Estos autores observaron que las hembras de ambas especies prefieren aparearse con machos de pulsos de sonido cortos, y sus resultados de un análisis de gradientes de selección en *D. littoralis*, sugieren que SSRT actuaría para incrementar el ancho del ala y disminuir su longitud. Asimismo, en *D. melanogaster* se observó que los machos de alas grandes producen un canto de pulsos más audibles que el de los machos con alas paqueñas, sugiriendo que tal comportamiento podría tener el efecto de favorecer el cortejo de los machos más grandes (Partridge y col., 1987b). Sin embargo, en el caso presente uno no puede concluir que este comportamiento sea un blanco de SSRT en *D. buzzatii*, ya que no existió la menor evidencia de selección directa actuando sobre el tamaño del ala. La discrepancia entre el presente estudio y los resultados de Aspi y Hoikkala (1995) con *D. littoralis* podría argumentar a favor de

la hipótesis de que la importancia de este comportamiento sobre la SSRT podría variar entre especies de *Drosophila*, dependiendo del sistema de apareamiento y las condiciones ecológicas. Por ejemplo, Aspi y Hoikkala (1995) observaron que el éxito en el apareamiento de los machos no se correlaciona positivamente con el tamaño corporal en poblaciones naturales de las especies boreales *D. littoralis* y *D. montana*. Estos autores sugirieron que esta discrepancia con las observaciones en otras especies de *Drosophila*, como *D. melanogaster* y *D. buzzatii*, podría deberse a que en estas últimas el éxito en el apareamiento de los machos no se relaciona con una elección de apareamiento por parte de las hembras, sino con la competencia de tipo rebaño para seguir y cortejar a las hembras (ver Partridge, 1987b; Wilkinson, 1987). A diferencia de *D. melanogaster* y *D. buzzatii*, las poblaciones de las especies boreales *D. littoralis* y *D. montana* son menos agregadas (con menor densidad de moscas), y la competencia de tipo rebaño entre machos no sería tan importante como podría serlo en otras especies sujetas a otros contextos ecológicos.

Un aspecto metodológico emerge de este estudio. En muchas especies de insectos se observó que el tamaño corporal de los machos está positivamente correlacionado con el éxito en el apareamiento. Los análisis multivariados usados en el presente trabajo pueden ser extremadamente útiles para identificar la base comportamental de tal asociación, si en el estudio se incluyen caracteres métricos de partes corporales que interactúan con comportamientos de cortejo o apareamiento. Sin embargo, los resultados de tales análisis no establecen las relaciones de causalidad por sí mismos (Wade y Kaliz, 1990) porque los resultados deben ser clarificados por, o concordantes con, el análisis observacional.

Las levaduras son un componente importante en la dieta de las especies cactófilas del género *Drosophila*, y por eso la detección de

interacciones entre estos microorganismos y *Drosophila* son consideradas de interés para comprender la ecología de las *Drosophila* cactófilas (e.g., Barker y col., 1984, 1987, 1994; Starmer y col., 1988). Dado que SSRT sobre el ancho de la cara del macho fue detectada previamente en moscas emergidas de sustratos de *Opuntia* colectados en el campo (Norry y col., 1995a), esta selección puede ser potencialmente significativa bajo condiciones naturales, donde ambos sexos pueden tener levaduras asociadas. Sin embargo, una interacción entre tal SSRT y la dieta de levaduras en machos es sugerida claramente por los resultados presentes (Tabla B3). La importancia de este efecto emerge al considerar que bajo condiciones naturales puede ocurrir una gran variación en el componente dietario de levaduras en *D. buzzatii*. Por ejemplo, los sustratos de alimentación y reproducción usado por *D. buzzatii* (tejidos putrefactos de *Opuntia* y otras cactáceas) muestran un alto nivel de variación temporal y espacial en la estructura y abundancia de la flora de levaduras (Barker y col., 1984, 1987). Consecuentemente, este factor ambiental podría ejercer influencia sobre la intensidad de SSRT en poblaciones naturales de *D. buzzatii*. Mientras los machos de caras anchas tendrían una ventaja en obtener un apareamiento, tal efecto sólo parece ser consistente cuando, como ocurrió en el experimento 2, la cantidad de levaduras asociadas a los machos es lo suficientemente grande para transmitir levaduras vivas a las hembras durante el cortejo o el apareamiento. Aunque no está claro si este posible beneficio nupcial se relaciona causalmente con la SSRT sobre el ancho de la cara (ver arriba), el significado adaptativo de tal selección sería amplificado si, como sugieren las observaciones de Starmer y col. (1988), las levaduras transferidas desde los machos a las hembras tienen consecuencias sobre la fecundidad y/o la sobrevivencia de la prole. En este caso, las levaduras brindadas por los machos podrían incrementar la producción

de huevos, y las observaciones de Starmer y col. (1988) sugieren que estas levaduras podrían ser usadas por las hembras para inocular un nuevo sustrato sobre el cual crecerá la progenie.

Algunos estudios en especies de *Drosophila* en las cuales la existencia de alimentación de cortejo ha sido demostrada inequívocamente (Steele, 1986a, 1986b; Kyriacou, 1987), también han sugerido alguna relación, directa o indirecta, entre la alimentación de cortejo y SSRT. Por ejemplo, Steele (1986a) mostró que los machos de *D. subobscura* aparentemente "besan" a las hembras, alimentándolas durante el cortejo mediante un gota de líquido transmitida desde sus proboscis a la proboscis de la hembra. En este caso, los machos bien alimentados y de mayor tamaño corporal producen gotas de alimento de mayor tamaño que la de los machos pequeños y, cuando las hembras están mal alimentadas, ellos se aparean más rápidamente que los machos pequeños, aunque no está claro si tal ventaja de apareamiento se debe al tamaño de la gota, o a un carácter correlacionado con este.

Aunque los resultados presentes no deben interpretarse como una evidencia de que los caracteres morfométricos relacionados con el tamaño de la cara son los únicos blancos posibles de SSRT en *D. buzzatii*, los efectos observados son, según se discutió arriba, probablemente relevates bajo condiciones naturales. Eventualmente, otros caracteres relacionados con el tamaño también podrían ser sexualmente seleccionados en la naturaleza. Por ejemplo, si la tasa de encuentro de parejas en la naturaleza incrementara con la capacidad dispersiva, este último atributo podría ser otro blanco directo de SSRT, ya que la capacidad dispersiva en *Drosophila* está positivamente correlacionada con el tamaño corporal.

Finalmente, si en la naturaleza existe variación heredable para los caracteres medidos, como indican los resultados discutidos en IV-b, cualquier intento de predecir la micro-evolución morfométrica

asociada a la SSRT, requerirá conocer sus covarianzas genéticas, como así también los constreñimientos que ellas comprenden. Recientemente, Leibowitz y col. (1995) han intentado predecir la respuesta evolutiva a la SSRT en *D. buzzatii*. Sin embargo, en ese estudio se analizó un único carácter (longitud del ala), de modo que la fuerza de selección sexual real (β) sobre el carácter estudiado fue desconocida, y hay un efecto no controlado de longevidad diferencial involucrado en sus datos. En tales estudios univariados, como Leibowitz y col. (1995) reconocen, es extremadamente difícil predecir la respuesta a SSRT, puesto que no se consideran los efectos de las correlaciones genéticas y fenotípicas entre caracteres morfométricos. Las bajas correlaciones genéticas de los caracteres morfométricos de la cabeza con los del tórax y las alas, estimadas en otra parte del presente estudio, sugieren que la respuesta correlacionada a la selección sexual sobre el ancho de la cara, sería completamente baja para los caracteres morfométricos del tórax y las alas en *D. buzzatii*.

IV-b. LA HEREDABILIDAD DE CARACTERES MORFOMÉTRICOS

La variabilidad fenotípica de caracteres morfométricos en las moscas derivadas de ambas poblaciones bonaerenses de *D. buzzatii*, tiene un componente genético sustancial. El principal objetivo bajo este título fue el de determinar si la variación morfométrica de diferentes partes corporales es heredable en estos insectos. En general, la cantidad de variabilidad fenotípica heredable parece ser mayor para los caracteres medidos sobre el tórax y las alas que para caracteres medidos sobre la cabeza. Sin embargo, todos los caracteres medidos exhibieron valores significativos de heredabilidad bajo las condiciones experimentales utilizadas.

Debido a que el diseño fue balanceado (*i.e.*, se midieron ambos pares y el mismo número de hijos de cada familia), y las condiciones ambientales en las cuales se desarrolló la progenie de cada familia fueron idénticas, las estimas paramétricas de heredabilidad en sentido estricto (h^2) obtenidas aquí usando los métodos indicados en Falconer (1989), son válidas. Por el contrario, cuando estas condiciones no se cumplen, las estimas paramétricas de h^2 no son confiables, y sería apropiado usar técnicas de re-muestreo, tales como el Jackknife (*e.g.*, Holloway y col., 1993, y referencias dentro). Los valores de h^2 estimados para caracteres morfométricos del tórax y las alas, son muy similares entre las poblaciones de Arroyo Escobar y Otamendi (Tablas B4 y B5), sugiriendo la robustez de las estimas obtenidas y la adecuación de la metodología seguida.

Los únicos caracteres morfométricos cuyas heredabilidades han sido estimadas por estudios previos en *D. buzzatii*, son la longitud del tórax (Robertson, 1987; Ruiz y col., 1991, Thomas y Barker, 1993) y algunos caracteres del ala (Robertson, 1987; Thomas y Barker, 1993;

Leibowitz y col., 1995). La heredabilidad media de la longitud del tórax, promediada sobre las moscas de ambas poblaciones analizadas, es de 0.48. Tal valor de h^2 para este carácter, es intermedio y de magnitud comparable a las estimas realizadas bajo condiciones de laboratorio en estudios recientes sobre moscas de *D. buzzatii* derivadas de poblaciones naturales de España (0.59 por Ruiz y col., 1991) y Australia (0.42, 0.39 y 0.48 por Thomas y Barker, 1993). De este modo, al menos para el ambiente óptimo y constante del laboratorio, la heredabilidad de la longitud del tórax se vé muy similar entre poblaciones de *D. buzzattii* muy diferentes, incluso viviendo sobre distintos continentes.

El parámetro h^2 ha sido muy usado para comparar la variación genética entre caracteres cuantitativos relacionados con la aptitud y caracteres presumiblemente neutros o sujetos a selección débil. En estudios de laboratorio, las variables fenotípicas llamadas caracteres de la aptitud (*e.g.*, fecundidad, supervivencia) típicamente tienen heredabilidades más bajas que los caracteres supuestamente sujetos a selección débil (Falconer, 1989; Mousseau y Roff, 1987; Roff y Mousseau, 1987). Se ha sugerido que esta diferencia en heredabilidades podría ser una consecuencia de que la selección direccional tendería a eliminar la variabilidad genética en la aptitud (Fisher, 1958; Falconer, 1989; Charlesworth, 1987; pero ver Price y Schluter, 1991; Houle, 1992). En añadidura, aunque la respuesta a la selección sobre un carácter particular tendería también a disminuir la varianza genética aditiva de todos los caracteres genéticamente correlacionados con este, tal efecto será siempre menor que el esperado para el carácter sujeto a la selección directa, dado que la respuesta correlacionada afectaría sólo a los genes ligados o pleiotópicos responsables de esa correlación. Esto podría dar la impresión de que los caracteres de la cabeza, con valores de h^2 relativamente pequeños,

estarían más directamente relacionados con aptitud que los otros caracteres medidos. En realidad, los resultados de dos estudios independientes presentados por esta tesis sugieren que determinados caracteres morfométricos de la cabeza serían (III-a), o habrían sido (III-e), blancos primarios de selección direccional operando en *D. buzzatii*. Sin embargo, la observación indicada previamente, de que los caracteres más relacionados con la aptitud exhiban valores de h^2 bajos, no implica que ellos tengan menor variabilidad genética aditiva. Además, en la presencia de varianza genética aditiva para la aptitud, el teorema fundamental de la selección natural (Fisher, 1930) no hace predicción alguna acerca de h^2 , como Fisher y otros han aclarado (Fisher, 1951; Barton y Turelli, 1989; Price y Schluter, 1991; Houle, 1992). Este teorema muestra que la varianza fenotípica de la aptitud es irrelevante con respecto a la respuesta a la selección, y no predice nada con respecto a la varianza residual, V_B = la suma de todos los componentes de la varianza fenotípica menos la varianza genética aditiva. Mientras que se ha demostrado convincentemente que las heredabilidades de los caracteres adaptativos tienden a ser más bajas que las de los caracteres presumiblemente neutros (Gustaffson, 1986; Roff y Mousseau, 1987; Mousseau y Roff, 1987; Falconer, 1989), esto puede explicarse por: (i) baja varianza genética aditiva para la aptitud, (ii) alta V_B , o (iii) una combinación de (i) y (ii). El análisis sobre una colección de datos compilados de la literatura por Houle (1992) indica que la situación (ii) puede ser muy frecuente, tal que los caracteres de la aptitud (e.g., fecundidad, sobrevivencia) tendrían una varianza genética aditiva y valores de V_B proporcionalmente mucho más elevados que los caracteres sujetos a selección débil. Para los propósitos comparativos de (i) establecer cual carácter tiene más varianza genética capaz de evolucionar por selección o (ii) cuanta variabilidad genética aditiva es mantenida en

la presencia de selección, Houle (1992) sugirió usar el coeficiente de variación genética aditiva ($CVa = 100 \sqrt{VA} / X$, donde $VA =$ varianza genética aditiva y $X =$ media del carácter) en lugar de h^2 . Para los datos de la población de Arroyo Escobar, los caracteres de la cabeza ACR, ACB y LO tienen, respectivamente, un CVa de 0.7, 0.2 y 0.5%, mientras que los caracteres del tórax LT, AE, LA y AA tienen, respectivamente, un CVa del 0.4, 1, 0.6 y 0.6% (cálculos a partir de las Tablas B2 y C3; aunque tales cálculos sólo serían válidos sobre estimas de VA para datos sin transformar, en el caso presente la transformación log no afecta el valor de un CVa relativo al de otro, puesto que la transformación no modificó el signo de la medida de ningún carácter. Ver Houle, 1992, para detalles). En consecuencia, la mayor diferencia en valores de CVa se observa entre ACB y AE. El hecho de que ACB y AE exhiban, respectivamente, el menor y el mayor valor de CVa , acuerda con los resultados del gradiente de selección (β') calculado para explicar la divergencia observada entre las poblaciones/especies analizadas en otra parte de este trabajo (ver III-e). En ese caso, β' indicó que ACB fue el carácter medido sobre el cual habría actuado la mayor intensidad de selección responsable de la divergencia observada en los machos, mientras que AE habría sido un carácter aparentemente neutro con respecto a tal selección (Fig. 13). De este modo, los valores de CVa para estos caracteres parecen correlacionarse negativamente con la intensidad de selección involucrada en la diferenciación morfométrica entre poblaciones. Ya que podría sugerirse que dicha selección pudo ser la responsable de tal correlación, habría un aparente desacuerdo entre los resultados presentes con caracteres morfométricos y los de Houle (1992), los cuales sugieren que los caracteres más ligados a la aptitud tendrían mayor CVa . Sin embargo, Houle (1992) se refirió a la comparación de caracteres de la aptitud (*e.g.*, fecundidad, sobrevivencia) con caracteres

morfológicos supuestamente sujetos a selección débil. A pesar de todo, el bajo valor de h^2 y el relativamente alto valor de CVa para ACR, un carácter aparentemente sujeto a fuerte intensidad de selección sexual (ver IV-a), reflejaría un valor de VB proporcionalmente muy elevado.

Cowley y Atchley (1988) han estimado las heredabilidades de varios caracteres morfométricos en moscas de *D. melanogaster* derivadas de poblaciones experimentales. Estos autores detectaron una cantidad sustancial de varianza genética aditiva ligada al cromosoma X en varios caracteres, incluyendo principalmente caracteres de las piezas bucales, las patas y la cabeza. De los caracteres que fueron examinados en el estudio presente, los resultados de Cowley y Atchley (1988) indicaron que la longitud del ojo es el principal carácter con varianza genética aditiva ligada al cromosoma X en *D. melanogaster*. En el caso presente, la estima de h^2 para este carácter fue un poco mayor en las hembras que en los machos (comparar regresiones pm-p con pm-m, Tabla B4), sugiriendo algún efecto, sin compensación de dosis, del cromosoma X sobre este carácter. Notar que mientras que el macho de *Drosophila* es heterogamético (la hembra es XX), en la presencia de compensación completa de dosis, las hembras tendrán la mitad de la varianza genética ligada al X que en los machos, pero en la ausencia de compensación se verificará lo opuesto (Baker y Belote, 1983; Cowley y Atchley, 1988). Por ejemplo, si la diferencia observada entre sexos en el valor de h^2 para el ancho del ecutelo es real (comparar regresiones pm-p con pm-m, Tablas B4 y B5), entonces habría varianza genética ligada al cromosoma X y compensación de dosis para este carácter. Claramente serían necesarios un diseño experimental diferente al seguido y tamaños muestrales considerablemente mayores para poder evaluar adecuadamente la posible contribución del cromosoma X y detectar pequeñas diferencias de heredabilidades entre sexos (ver Cowley y Atchley, 1988). Aunque los resultados presentes sugieren que

tales diferencias, de existir, serían en general muy pequeñas, ellas podrían ser importantes en la evolución del dimorfismo sexual a largo plazo, dado que bajo presiones de selección direccional idénticas en ambos sexos, uno de los sexos podría evolucionar más rápidamente que el otro (Lande, 1980b). En general, para los caracteres que no serían blancos primarios de selección sexual en los machos de *D. buzzatii* (ver IV-a), el sexo con un mayor valor estimado de h^2 , como hembras para LO o LT y machos para AE (Tabla B4), parece ser el sexo que se diferenció levemente más entre las poblaciones/especies examinadas en III-e (comparar Figs. 7 y 8). A pesar de todo, los valores de h^2 estimados para cada sexo en el presente estudio, sugieren que las diferencias entre sexos parecen ser tan pequeñas que justifica el agrupamiento de ambos sexos para algunos análisis realizados en otras partes del presente trabajo.

En añadidura a la varianza genética aditiva ligada al cromosoma X, otra fuente posible de diferencia entre sexos con respecto a las tasas de evolución adaptativa, viene de la observación de que h^2 para el tamaño corporal de *D. buzzatii*, es mayor dentro que entre los sustratos de *Opuntia* donde se desarrollan todas las etapas preadultas de esta especie en la naturaleza (Prout y Barker, 1989). Por ejemplo, ignorando cualquier efecto de correlaciones entre caracteres morfométricos, si la cohorte de hembras que emergen de cada sustrato oviponen separadamente en diferentes sustratos (*i.e.*, una hembra por sustrato), la respuesta a la selección natural sobre el tamaño operando sobre ellas dependerá del valor (mayor) de h^2 dentro de sustratos. En contraste, si los machos se dispersaran luego de emerger de un determinado sustrato, y luego competirían con machos de diferentes sustratos, la respuesta a la selección sexual relacionada con tamaño operando sobre ellos dependerá del valor (menor) de h^2 entre sustratos. Sin embargo, aún suponiendo la existencia de tales

factores, los mayores efectos posibles sobre la respuesta a la selección serían incluso muy leves en *D. buzzatii*, puesto que el valor de h^2 dentro de sustratos (9%) es sólo levemente superior al de entre sustratos (6%), como sugieren Prout y Barker (1988).

Como se indicó en los RESULTADOS (III-b), a causa del gran componente ambiental de la variación fenotípica en caracteres morfométricos (aproximadamente cinco veces mayor en la naturaleza que en el laboratorio), las presentes estimas de heredabilidades serían sustancialmente mayores que los valores reales en poblaciones naturales de *D. buzzatii*. Suponiendo ausencia de interacción genotipo-ambiente, para el conjunto de caracteres examinados, la heredabilidad más alta en la naturaleza sería para el ancho del escutelo con un valor aproximado del 12 al 16%, y la más baja para el ancho de la cara con un valor que oscilaría entre el 5 y el 6% (ver III-b). Estos valores son muy similares y consistentes con las primeras estimas de h^2 en la naturaleza para las longitudes del tórax y las alas, obtenidas recientemente en poblaciones naturales de *D. buzzatii* de España (Ruiz y col., 1991; Leibowitz y col., 1995) y Australia (Prout y Barker, 1989). Lamentablemente, todas las estimas publicadas de heredabilidades en poblaciones naturales de *Drosophila* son más bien indirectas, a causa de la imposibilidad de medir ambos progenitores y sus progenies desarrolladas en la naturaleza. Sin embargo, la similitud señalada de las estimas obtenidas por diferentes investigadores, usando diferentes métodos en muy diferentes poblaciones, sugiere fuertemente los valores del 5 al 16% son cotas muy probables de h^2 para caracteres morfométricos en poblaciones naturales de *D. buzzatii*.

Finalmente, a pesar de estos pequeños valores de h^2 predichos para caracteres morfométricos en poblaciones salvajes de *D. buzzatii*, dadas las estimas significativas obtenidas por este y otros estudios citados arriba, el parámetro h^2 no puede interpretarse como un

constreñimiento que impide la micro-evolución adaptativa del tamaño y la forma corporal en estos insectos. Norry y col. (1995b) demostraron que el polimorfismo del cromosoma 2 hace una contribución aditiva a la varianza fenotípica de caracteres morfométricos del el tórax (ver también Ruiz y col., 1991), el ala y la cabeza en una población natural de *D. buzzatii*, indicando que h^2 para estos caracteres es mayor que cero, incluso en la naturaleza. Además, no todos los caracteres tienen iguales heredabilidades (Tablas B4 y B5), y por lo tanto, bajo similares intensidades de selección natural, algunos serían capaces de evolucionar a tasas más elevadas que otros. Las estimas de h^2 obtenidas, son más similares entre caracteres derivados de un mismo disco imaginal, que entre caracteres derivados de distintos discos. Por ejemplo, los caracteres de la cabeza examinados derivan del disco imaginal ojo-antena y tienen pequeños y similares valores de h^2 , mientras que los caracteres del tórax y las alas examinados (los cuales derivan del disco ala) tienen valores de h^2 mayores. Estos resultados son consistentes con aquellos de Cowley y Atchley (1988), y sugieren que la determinación de la variabilidad genética es similar para los caracteres derivados de un mismo disco imaginal.

IV-c. COMPARACION ENTRE CORRELACIONES GENÉTICAS Y FENOTÍPICAS, Y MATRICES DE VARIANZAS Y COVARIANZAS GENÉTICAS

IV-c1. Similitud de Matrices de Correlaciones Genéticas y de Varianzas y Covarianzas Genéticas. Las correlaciones genéticas estimadas entre los caracteres morfométricos examinados, son muy similares entre moscas de *D. buzzatii* derivadas de las poblaciones bonaerenses analizadas, Arroyo Escobar y Otamendi. En añadidura, la prueba de Mantel reveló similitud estadísticamente significativa entre las estructuras de ambas matrices de correlaciones genéticas estimadas, y el nivel de correspondencia entre matrices fue muy alto. Esta similitud en el modelo de correlaciones genéticas entre poblaciones es consistente con el estudio por Thomas y Barker (1993), quienes verificaron que las correlaciones genéticas entre caracteres morfométricos del tórax y las alas no difieren sustancialmente entre poblaciones australianas de *D. buzzatii*, las cuales han divergido genéticamente con respecto al tamaño y la forma corporal. Sin embargo, la micro-evolución de caracteres correlacionados no depende directamente de las correlaciones genéticas, sino más bien de las varianzas y covarianzas genéticas (ver I-b3).

Mientras el más ligero examen de la literatura evolutiva es capaz de revelar el gran esfuerzo realizado para intentar entender las características de la micro-evolución morfológica, el éxito de un estudio sobre esta temática depende en última instancia de su consistencia con la teoría de la genética cuntitativa (e.g., Lande, 1976, 1979, 1988a; Cheverud, 1982; Atchley, 1984, 1987; Atchley y col., 1984, 1985a, 1985b; Cowley y Atchley, 1990, 1992b). Como se indicó en I-a, la aplicación de la genética cuntitativa al problema de la evolución fenotípica dio los elementos formales necesarios para una

teoría coherente sobre la evolución de caracteres correlacionados (revisado en Lande, 1988; Arnold, 1992). El cuerpo actual de esta teoría está construido sobre ecuaciones formales en las cuales la dinámica del cambio evolutivo se halla encapsulada en la matriz de varianzas y covarianzas genéticas, G (ver I-b3). Sin embargo, el supuesto de que la estructura de la matriz G permanece estable sobre el tiempo considerado o la divergencia fenotípica examinada, es crucial en la aplicación de la teoría a estudios empíricos (Lande, 1979; Lofsvold, 1986, 1988; Turelli, 1988; Barton y Turelli, 1989; Wilkinson y col., 1990; Arnold, 1992; Brodie, 1993). La importancia de la estabilidad (y el criterio menos riguroso de proporcionalidad) de tales matrices para poder reconstruir las fuerzas evolutivas responsables de la divergencia entre unidades taxonómicas vivientes, ha sido investigada en forma teórica (Turelli, 1988). Como una conclusión del análisis teórico puede decirse que, sin el supuesto de estabilidad en la estructura de la matriz G , es muy improbable establecer inequívocamente la importancia que la deriva genética o la selección natural han tenido para crear las diferencias fenotípicas observadas entre poblaciones, especies, e incluso, categorías taxonómicas de rango superior.

Lande (1976) argumentó que la tasa de mutación de un carácter poligénico debe ser considerablemente alta, tal que exista la posibilidad de un balance entre la pérdida de varianza genética aditiva debida a selección y la ganancia debida a mutación. Similarmente, surgieron modelos y argumentos de esta clase para explicar el mantenimiento de la covarianza genética entre caracteres seleccionados (Lande, 1980a, 1984). Como respuesta a ellos, Turelli (1988) argumentó que el problema de cuan estables son las matrices G sólo puede resolverse empíricamente. En primer lugar, Turelli (1988) mostró que ningún análisis teórico puede determinar la cuestión,

inherente a la estabilidad de estas matrices, de si la forma de la superficie de la aptitud o la distribución de los efectos de nuevas mutaciones cambian conforme el fenotipo evoluciona. No cabe la menor duda de que las matrices G cambian sobre alguna escala de tiempo (no todas las especies comparten los mismos caracteres) y como respuesta a ciertas condiciones (Lande, 1980a, 1984; Zeng, 1988; Wilkinson y col., 1990). Los puntos de interés actual son, sin embargo, determinar qué clase de caracteres muestra estabilidad en las varianzas y covarianzas genéticas, cual no, y sobre qué escala de tiempo. Aunque los pocos estudios empíricos que han interpretado estas cuestiones relevantes no dieron resultados inequívocos, ellos parecen indicar que la estabilidad o no de las matrices G puede depender del tipo de caracteres y las categorías taxonómicas involucradas en la comparación (revisado en Barton y Turelli, 1989; Arnold, 1992; pero ver Brodie, 1993). Del total de los estudios publicados conducidos con tales intenciones, los que merecen destacarse porque se basaron en matrices G estimadas sobre un número de familias lo suficientemente grande como para dar resultados más o menos confiables, son los realizados por Atchley y col. (1981), Lofsvold (1986), Kohn y Atchley (1988), Wilkinson y col. (1990) y Brodie (1993). Los primeros cuatro de estos estudios compararon, respectivamente, matrices G de caracteres morfométricos del cráneo entre ratones *Mus musculus* y ratas *Ratus norvegicus*, del cráneo y el cuerpo entre especies y subespecies de roedores del género *Peromyscus*, de la pelvis entre *Mus musculus* y líneas seleccionadas de *Ratus norvegicus*, del tórax, alas, patas y un conteo de cerdas entre poblaciones experimentales de *D. melanogaster* seleccionadas para el tamaño del tórax. En cuanto a los resultados de tales estudios, la visión optimista se basa en que los taxones/poblaciones divergentes examinados exhiben matrices G proporcionales, y a veces virtualmente idénticas. La visión pesimista

resulta de que algunas de las covarianzas genéticas difieren inconformablemente entre algunos de los taxones comparados (revisado en Turelli, 1988; Arnold, 1992). El estudio de Brodie (1993) comparó los elementos individuales de matrices G de caracteres comportamentales (defensa contra predadores) entre poblaciones naturales divergentes del lagarto *Thamnophis ordinoides*, y los resultados indicaron homogeneidad interpoblacional en la matriz G examinada.

En cuanto al estudio presente, los resultados indican que las varianzas y covarianzas genéticas entre los caracteres morfométricos examinados del tórax y las alas, son aparentemente muy similares entre ambas poblaciones bonaerenses comparadas. Estas poblaciones, asimismo, parecen haber divergido levemente con respecto al tamaño general del cuerpo, el cual sería algo mayor en Arroyo Escobar que en Otamendi (ver III-c). Aunque esta aparente divergencia es pequeña (*i.e.*, la distribución de los caracteres individuales no difiere entre las poblaciones), el que el tamaño corporal sea menor en la población de Otamendi es consistente con que la inversión 2st del segundo cromosoma, la cual tiene un efecto medio negativo sobre el tamaño general (Norry y col., 1995b), está en una frecuencia mayor en esta población (0.31) que en la de Arroyo Escobar (0.124) (datos de Hasson y col., 1995). A pesar de esta aparente divergencia, la prueba de Mantel indicó que la similitud en la estructura de la matriz G es estadísticamente consistente entre ambas poblaciones examinadas. Incluso la correspondencia entre ambas matrices G estimadas independientemente es casi perfecta, dado que el valor del estadístico de correspondencia entre matrices resultó cercano a la unidad ($Z' = 0.99$). Teniendo en cuenta el gran error de muestreo normalmente asociado con las estimas de varianzas y covarianzas genéticas (Falconer, 1989), las estimas de punto son remarcablemente similares entre estas poblaciones. Sin

embargo, dado que ambas poblaciones no son muy divergentes entre sí (ver III-c), estos resultados no implican que la matriz G examinada sea esencialmente la misma entre poblaciones de *D. buzzatii* con un mayor grado de diferenciación. A lo sumo, lo que estos resultados sugieren es que la matriz G para los cuatro caracteres examinados es muy similar, si no idéntica, entre poblaciones de *D. buzzatii* que no han divergido drásticamente para estos caracteres. Además, a causa de la gran sensibilidad a la violación del supuesto de normalidad multivariada, en el presente estudio como en otros previos (e.g., Lofsvold, 1986; 1988; Kohn y Atchley, 1988) no se usaron las pruebas paramétricas que permiten evaluar la hipótesis nula de igualdad de matrices (ver II-f). En la ausencia de métodos mejores (Cowley y Atchley, 1992a), la hipótesis nula puesta a prueba por el método no paramétrico usado (permutación de matrices) es que las matrices son independientes entre poblaciones. Por ende, la conclusión arribada es que las matrices son similares, pero ellas podrían o no ser idénticas. Esta distinción ilustra el problema estadístico fundamental en la comparación de matrices de G, P, y de correlaciones genéticas o fenotípicas (Turelli, 1988; Shaw, 1992; Cowley y Atchley, 1992a).

Wilkinson y col. (1990) aplicaron selección artificial bidireccional e intensiva sobre la longitud del tórax durante 23 generaciones en una población experimental de *D. melanogaster*, y examinaron la perturbación asociada en la matriz G de cinco caracteres morfométricos. Específicamente, estimaron la matriz G en la población base, en una población seleccionada para incrementar el tamaño del tórax y en otra seleccionada para disminuir este carácter. Los resultados mostraron una asimetría en la resistencia a la perturbación por la selección artificial, implicando que la selección para incrementar el tamaño del tórax no afectó a la matriz G examinada, pero sí la selección aplicada en el dirección opuesta. Aunque los

resultados de Wilkinson y col. (1990) mostraron que la selección artificial aplicada para disminuir el tamaño corporal perturbó en algún grado a la estructura de la matriz G que ellos estudiaron, en las poblaciones naturales de especies tales como *D. melanogaster*, *D. pseudoobscura* y *D. buzzatii* no existe la menor evidencia de selección natural operando en tal dirección, a diferencia de la selección para un incremento en el tamaño (Partridge y col., 1987a; Taylor y Kekic, 1988; Santos y col., 1992; Hasson y col., 1993; Norry y col., 1995a, 1995b). En consecuencia, al juzgar por los resultados del estudio de Wilkinson y col. (1990) en el cual se aplicó selección en condiciones de laboratorio (donde las heredabilidades, y por ende las respuestas a la selección por generación, son mucho mayores que en la naturaleza), parece razonable asumir que las matrices G de caracteres morfométricos podrían permanecer aproximadamente estables en estos insectos, al menos para estudios micro-evolutivos. En particular, los resultados con *D. buzzatii* discutidos aquí, tomados juntamente con los discutidos a continuación (IV-c2 y IV-c4), dan evidencia empírica consistente para la validez de tal supuesto.

IV-c2. Similitud entre la Matriz de Correlaciones Genéticas y la Matriz de Correlaciones Fenotípicas. La matriz de correlaciones genéticas estimadas en moscas de *D. buzzatii* derivadas de la población de Arroyo Escobar, es similar a su contraparte fenotípica en moscas de (i) *D. buzzatii* de Arroyo Escobar, (ii) *D. buzzatii* de Quilmes, y (iii) *D. koepferae* de Quilmes (Tabla C9). En general, la prueba de Mantel reveló un nivel de similitud sustancial entre estas matrices (Tabla C9).

A la luz de estos resultados, parece probable que el modelo de correlaciones genéticas sea completamente similar al de correlaciones

fenotípicas, aunque la magnitud de las primeras sea generalmente menor que la de las últimas. La similitud observada entre matrices de correlaciones genéticas y fenotípicas indica que los efectos genéticos y ambientales actuando sobre el desarrollo de estos insectos, producen modelos similares de variación y co-variación morfométrica.

Lande (1979) sugirió que las matrices de varianzas y covarianzas genéticas (G) y fenotípicas (P) serían probablemente similares en presencia de heredabilidades relativamente altas. Dado que las matrices G son sumamente más difíciles de estimar, incluso en organismos muy usados en estudios genético-cuantitativos como *Drosophila*, y siempre tienen errores de muestro mucho mayores que las matrices P, el esfuerzo experimental se reduciría considerablemente si se pudieran substituir las matrices G por las P. Además, a diferencia de las matrices P, las matrices G no pueden estimarse en especies fósiles. Claramente, si las matrices G pudieran reemplazarse por matrices P, esto abriría las puertas del análisis genético-cuantitativo de evolución multivariada para su aplicación a gran escala, incluyendo especies fósiles. Por ejemplo, esto incrementaría el rigor con respecto a las inferencias evolutivas realizadas sobre la base de los métodos corrientes, *ad hoc*, para estudiar la evolución fenotípica en organismos conocidos sólo por el registro fósil.

La comparación directa de matrices G y P puede ser, sin embargo, intratable desde un punto de vista estadísticamente riguroso. Los métodos no paramétricos de comparación de matrices (como el de Mantel), fueron desarrollados para comparar matrices de distancia (o similitud) donde los elementos de cada matriz son similares en unidad y magnitud (ver Dietz, 1983). En consecuencia, estos métodos se aplican naturalmente bien para comparar matrices de correlaciones, pero su aplicación para comparar matrices G y P debe ser cautelosa, ya que las unidades y magnitudes de los elementos de estas matrices

pueden variar de carácter en carácter. Una solución para este problema puede ser la seguida en el estudio presente, en el cual la mayoría de las comparaciones se realizaron entre matrices de correlaciones, más bien que entre unas de varianzas y covarianzas (ver Cheverud, 1988, y Roff, 1995, para conceptos similares). Como una metodología aproximada, las matrices de correlaciones fenotípicas podrían compararse con las de correlaciones genéticas. Luego, si las varianzas genéticas aditivas (V_g) y fenotípicas (V_p) son iguales o sólo difieren en una forma proporcional (*i.e.*, $V_g V_g' = K V_p V_p'$; donde k es la heredabilidad, suponiendo que no difiere sustancialmente entre caracteres), un resultado que indique gran similitud entre matrices de correlaciones genéticas y fenotípicas puede indicar, al mismo tiempo, similitud entre matrices G y P . Notar que las matrices de varianzas y covarianzas están relacionadas con las matrices de correlaciones según:

$$C = V^{-1} S V^{-1}$$

donde C es la matriz de correlaciones, S es la matriz de varianzas y covarianzas, y V^{-1} es la inversa de la matriz diagonal de desviaciones estándar (Cheverud, 1988).

Si las condiciones indicadas en el párrafo anterior se satisfacen, Cheverud (1988) sugirió que la matriz P puede reemplazar a la G , multiplicando P por una constante, K , que estima el nivel de heredabilidad de los caracteres. Si se además pueden estimarse las heredabilidades de los caracteres examinados (h^2 puede estimarse con mayor precisión que las correlaciones genéticas), entonces la constante K se puede reemplazar por la matriz diagonal, \mathbf{K} , construida con las heredabilidades de los caracteres puestas a lo largo de la diagonal (Cheverud, 1988).

En general, el estudio presente con *Drosophila*, sugiere que las matrices P (corregidas por h^2 , según se indicó arriba) podrían ser sustitutos aproximados de las G para caracteres morfométricos. En particular, la matriz de correlaciones genéticas estimada en moscas derivadas de una población natural fue similar a la de correlaciones fenotípicas estimada en (i) la misma población, (ii) una población muy diferenciada de la misma especie (ver III-e), y (iii) una población de otra especie viviendo bajo condiciones climáticas muy diferentes.

Curiosamente, para *D. buzzatii*, la correspondencia entre estas matrices fue mayor en las hembras (Z' medio= 0.56) que en los machos (Z' medio= 0.42), sugiriendo que las correlaciones fenotípicas son más parecidas a sus contrapartes genéticas en las hembras que en los machos. Esto podría indicar (i) la presencia de varianza genética aditiva ligada al cromosoma X sin compensación de dosis (ver IV-b), o (ii) la similitud entre los efectos ambientales y genéticos sobre el desarrollo de los caracteres morfométricos es menor en los machos que en las hembras de *D. buzzatii*. Con los datos presentes no es posible establecer la causa de esta variación entre sexos, pero el hecho de que la heredabilidad de algunos caracteres de la cabeza parece ser mayor en las hembras que en los machos sugiere la alternativa (i) como una muy probable (ver IV-b). En consecuencia, si la intención fuera la de utilizar una matriz P como un sustituto de G, para el caso de caracteres morfométricos parece preferible utilizar la matriz P de las hembras, en lugar de la de los machos de *D. buzzatii*.

Sobre la base de la comparación de 41 pares de matrices de correlaciones genéticas y fenotípicas compiladas de trabajos publicados (predominantemente de caracteres morfométricos), Cheverud (1988, p. 958) concluyó que las "correlaciones fenotípicas son probales estimas adecuadas de sus contrapartes genéticas en muchas situaciones". Willis y col. (1991) objetaron la sugerencia de Cheverud

(1988), de que las matrices P en general pueden ser buenos substitutos de las G, por cuatro razones principales. Primero, mientras la mayor parte de los datos analizados por Cheverud (1988) son del laboratorio, a causa de la mayor variabilidad ambiental y posibles interacciones genotipo-ambiente, la correspondencia entre correlaciones fenotípicas y genéticas podría ser menor en la naturaleza que en el laboratorio. Segundo, casi todos los caracteres incluidos en el análisis por Cheverud (1988) son morfológicos, de modo que los resultados podrían ser irrelevantes para otra clase de caracteres. Tercero, ellos objetaron la sugerencia de usar una constante, K, de heredabilidad media para corregir la matriz P cuando las heredabilidades no se pueden estimar, puesto que las heredabilidades podrían ser diferentes para distintos caracteres. Cuarto, finalmente ellos objetaron el estadístico usado por Cheverud (1988) para medir diferencias entre correlaciones genéticas (r_g) y fenotípicas (r_p), definido como $(\sum r_g^2 - r_p^2)/n$, porque si los signos de r_p y r_g son distintos, este estadístico no detecta toda la diferencia.

Recientemente, Roff (1995) discutió las cuatro objeciones de Willis y col. (1991). Examinó las correlaciones genéticas y fenotípicas entre varios caracteres morfológicos de *Grillus firmus*, y mediante un análisis de simulación, concluyó que las correlaciones fenotípicas son tan buenas estimas de las verdaderas correlaciones genéticas, o incluso mejores, que las correlaciones genéticas estimadas directamente. Notar que de las cuatro objeciones por Willis y col. (1988), sólo la primera, principalmente si existiera interacción genotipo-ambiente, podría invalidar la sugerencia de que las matrices P corregidas para las heredabilidades estimadas como se indicó arriba, serían buenas estimas de las G en el caso de caracteres morfométricos de *Drosophila*.

En general, un protocolo propuesto por Roff (1995), pero algo modificado para que sea consistente con los resultados presentes, es el siguiente. Si la intención fuese la de usar matrices P, en lugar de G, para realizar un estudio genético-cuantitativo en varias poblaciones/especies relacionadas, ante todo debe hacerse un análisis genético detallado en una única población/especie. Para ello, tal como en el estudio presente, deben estimarse las heredabilidades y las correlaciones genéticas y fenotípicas de los caracteres, al menos en una de las poblaciones/especies. Usar un diseño experimental balanceado con grandes tamaños de muestra (*i.e.*, más de 100 familias). A causa de posibles efectos de desviaciones de dominancia, los métodos de regresión progenie-padres (como en el trabajo presente) o de correlación entre medios hermanos, son preferibles a un diseño de hermanos carnales (ver Falconer, 1989). En lo posible, esto podría repetirse en varias condiciones ambientales, para considerar posibles efectos de interacciones genotipo-ambiente. Luego, si la correspondencia entre las estimas de las correlaciones genéticas y fenotípicas resultare alta (un criterio a veces subjetivo), proceder a comparar las matrices de correlaciones fenotípicas entre las poblaciones/especies. Si las correlaciones fenotípicas fueran diferentes entre sexos, se deberá trabajar con cada sexo por separado. Si las matrices de correlaciones fenotípicas fueran similares entre las poblaciones/especies, ello indicaría similitud de las correlaciones genéticas entre las poblaciones/especies comparadas. Finalmente, calcular las matrices P de cada población/especie a partir de las correlaciones fenotípicas estimadas, y corregir dichas matrices P por las estimas de las heredabilidades. El uso de estas matrices P corregidas, permitirá un estudio de mayor escala de lo que sería posible si la matriz G debiera estimarse para cada una de las poblaciones/especies. Alternativamente, si las correlaciones

fenotípicas fueran muy similares entre las poblaciones/especies examinadas, el estudio a gran escala podría hacerse usando la matriz G estimada en esa única población o especie. Finalmente, el estudio evolutivo basado sobre tales matrices será más valioso si se lo interpreta como un análisis exploratorio. A partir de los resultados de tal análisis exploratorio podrán diseñarse experimentos apropiados para verificar las conclusiones arribadas por el primer estudio.

En el presente, se necesitan muchas más comparaciones entre matrices de correlaciones genéticas y fenotípicas para establecer si las últimas son siempre buenas estimas de las primeras.

IV-c3. Comparación Intersexual de las Matrices de Correlaciones Fenotípicas. En general, las matrices de correlaciones fenotípicas estimadas son similares entre sexos (Tablas C8 y C9). Esta condición es necesaria para que los datos de ambos sexos puedan agruparse en un análisis de evolución multivariada.

Sin embargo, en el caso de *D. buzzatii* de Quilmes, la prueba de Mantel no rechazó la hipótesis nula de independencia entre las matrices de ambos sexos. Esta falta de similitud entre sexos de la misma especie y población es difícil de explicar y requiere más estudio. Una posibilidad es que este dimorfismo sexual sea de origen genético. Por un lado, este podría haber resultado de (i) varianza genética ligada al cromosoma X, o (ii) selección divergente entre los sexos (como podría ocurrir en el caso de selección sexual), favoreciendo determinadas correlaciones en un sexo pero no en el otro. Por otra parte, existe la posibilidad que en *D. buzzatii*, el desarrollo de los caracteres morfométricos de cada sexo sea afectado diferencialmente según las condiciones de cultivo utilizadas, en las cuales la mitad de las moscas se cultivaron en un medio de *Opuntia* y la otra mitad en uno de *Trychocereus* (ver II-e). Para evaluar esta

última hipótesis se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) con "medio de cultivo" y "sexo" como dos factores fijos. Los resultados indicaron que esta posibilidad es poco probable, ya que el término de la interacción de este ANOVA de dos factores no fue significativamente distinto de cero para ningún carácter medido ($F_{(1, 198)} < 2.8; p > 0.1$).

IV-c4. Comparaciones Interpoblacionales e Interespecíficas de las Matrices de Correlaciones Fenotípicas. Los resultados indicaron que las matrices de correlaciones fenotípicas son significativamente similares entre las moscas de (i) *D. buzzatii* de Arroyo Escobar, (ii) *D. buzzatii* de Quilmes, y (iii) *D. koepferae* de Quilmes (Tabla C9). El grado de similitud entre estas matrices fue el mismo en las comparaciones intra-específicas que en las inter-específicas.

La comparación entre los machos de *D. buzzatii* y *D. koepferae* de la población de Quilmes constituye la única excepción a la similitud en las correlaciones fenotípicas observada entre las poblaciones/especies comparadas. En este único caso la prueba de Mantel no indicó similitud significativa entre las respectivas matrices de correlaciones fenotípicas (Tabla C9). Además, como se discutió arriba, la estructura de correlaciones fenotípicas parece ser sexualmente dimórfica en *D. buzzatii* de la población de Quilmes (Tabla C9). Las causas de estas diferencias son difíciles de esclarecer con los datos presentes, pero tomadas en conjunto indican que la estructura de correlaciones más divergente es la de los machos de *D. buzzatii* de Quilmes. Ya que ambas especies sinmórficas, *D. buzzatii* y *D. koepferae*, son simpátricas en esta localidad, no puede descartarse la alternativa de que esta diferencia en la estructura de correlaciones (observada sólo en los machos) sea el resultado de selección sexual o "desplazamiento de caracteres" (Butlin, 1986) para

el aislamiento de pre-apareamiento entre ambas especies, sobre todo considerando que algunos de los caracteres examinados parecen ser determinantes del éxito copulatorio en *D. buzzatii* (ver IV-a). Sin embargo, en la ausencia de más observaciones, cualquier hipótesis sobre esta variación es altamente especulativa.

Dado que todas las matrices de correlaciones fenotípicas estimadas son similares a la matriz de correlaciones genéticas de *D. buzzatii* de Arroyo Escobar (discutido arriba), la similitud observada entre las matrices de correlaciones fenotípicas sugiere asimismo similitud en la estructura de correlaciones genéticas entre las poblaciones/especies examinadas. Esta similitud es de particular interés porque las poblaciones/especies examinadas han divergido sustancialmente en el tamaño y la forma corporal (ver IV-e). Además, dado que las heredabilidades de caracteres morfométricos también parecen ser similares entre poblaciones naturales de *D. buzzatii* (ver IV-b), se concluye tentativamente que la matriz G de los caracteres examinados no ha variado sustancialmente entre las poblaciones/especies comparadas. De este modo, los datos presentes dan alguna evidencia empírica de que las correlaciones genéticas pueden ser evolutivamente estables, y conforme a lo discutido arriba (IV-a), sugieren que la estructura de la matriz G no ha cambiado durante la excursión evolutiva del fenotipo externo en estos insectos. Como sugieren Schluter y Nychka (1994), es completamente probable que muchas correlaciones entre caracteres sean óptimas, tal que serían mantenidas por selección estabilizadora aún en la presencia de selección direccional.

**IV-d. LA ESTRUCTURA DE LAS MATRICES DE CORRELACIONES GENÉTICAS Y
FENOTÍPICAS EN RELACION AL SISTEMA
DEL DESARROLLO EN DISCOS IMAGINALES**

Cowley y Atchley (1990) fueron los primeros en examinar las relaciones entre el modelo del desarrollo en discos imaginales y las correlaciones genéticas entre caracteres morfométricos derivados de varios discos imaginales en *D. melanogaster*. Los resultados presentes extienden y son ampliamente consistentes con los suyos. En particular, para los caracteres examinados aquí, que derivan de los discos imaginales ala (caracteres del tórax y alas) y ojo-antena (caracteres de la cabeza), las correlaciones genéticas y fenotípicas son mayores entre los caracteres derivados del mismo disco, que entre los caracteres de distintos discos. La evidencia para esto viene de dos análisis independientes. Primero, tanto las correlaciones genéticas como las fenotípicas son, en promedio, mayores dentro de cada disco que entre ambos discos imaginales (Tabla D2). Segundo, los resultados de los análisis de permutación de matrices indicaron que la estructura de las correlaciones estimadas se corresponde consistentemente con la de la matriz de hipótesis formulada según el modelo del desarrollo en discos imaginales, con correlaciones de 1 entre caracteres derivados del mismo disco y cero entre caracteres derivados de diferentes discos (Tabla D4). La correspondencia con la matriz de hipótesis fue mayor para la matriz de correlaciones genéticas (y de varianzas y covarianzas genéticas), estimada en *D. buzzatii*, que para las matrices de correlaciones fenotípicas estimadas en *D. buzzatii* y *D. koepferae* (Tablas D4 y D5).

Se ha citado varias veces (*e.g.*, Lande, 1979; Cowley y Atchley, 1990) que Darwin (1859) discutió la importancia evolutiva de la

correlación entre caracteres, pero concluyó que la causa de correlación entre partes corporales era lo más oscuro (p. 144). Mientras que la mayor parte de los estudios actuales sobre el desarrollo han concentrado su interés en los mecanismos moleculares subyacentes, la interacción entre el desarrollo y la micro-evolución morfológica es un área relativamente poco explorada que promete descubrimientos interesantes. Aunque el conocimiento de los fenómenos del desarrollo responsables de la correlación genética entre caracteres poligénicos avanzó sustancialmente en las últimas tres décadas, hay muchos interrogantes para resolver. Se sabe que las variaciones en algunos parámetros del desarrollo, tales como densidad de células madres o duración del ciclo celular en diferentes precursores embrionarios, afectan a las correlaciones genéticas entre caracteres (Riska, 1986). Los datos descritos en el estudio de Cowley y Atchley (1990) junto con los del presente para caracteres morfométricos de *Drosophila*, y aquellos de Kingsolver y Wiernazs (1991) para caracteres de la pigmentación del ala de mariposas, ofrecen una oportunidad para explorar algunas de las causas de correlación genética entre caracteres de insectos holometábolos.

Los resultados presentes acuerdan con los de Cowley y Atchley (1990) al indicar que aunque las correlaciones genéticas tiendan a ser mayores dentro que entre discos imaginales, las diferentes partes del cuerpo de *Drosophila* suelen estar correlacionadas en forma positiva, tanto genética como fenotípicamente. Las causas de correlaciones genéticas a través de discos imaginales podrían ser pleiotropía y ligamiento, pero también son posibles causas no genéticas. Por ejemplo, si dos caracteres son genéticamente independientes pero tienen la misma tasa de desarrollo, o son afectados por los mismos agentes mitóticos, ellos pueden estar "genéticamente" correlacionados (Atchley, 1987). Ambos discos imaginales examinados en el trabajo

presente, ala y ojo-antena, tienen similares números de células, inician y culminan la mitosis más o menos sincrónicamente durante el desarrollo larvario (Madhahvan y Sclmeiderman, 1977), y tienen similares cantidades de duplicaciones celulares (Martin, 1982). El hecho de que el tamaño del tórax y el tamaño de la cápsula de la cabeza estén positivamente correlacionados (Tabla D2) puede responder a estas similitudes entre los discos ala y ojo-antena, como notaron Cowley y Atchley (1990). La proporción (en inglés "scaling") entre el tamaño del tórax y el de la cabeza puede ser funcionalmente importante para el vuelo de un insecto. Por definición, bajo selección estabilizadora cualquier desvío desde el óptimo disminuirá la aptitud, y dada la importancia funcional para el vuelo, es probable que la proporción entre el tamaño del tórax y el de la cabeza esté sujeta a selección estabilizadora fuerte. Además, la selección natural favorecerá cualquier mecanismo del desarrollo que canalice a una característica por constreñirla a un valor óptimo (Rendel, 1967; Stearns y Kawecki, 1994). Probablemente, muchas de las proporciones entre partes corporales de un díptero sean óptimas, o estén sujetas a fuerte selección estabilizadora (Spicer, 1993). En tales casos, algunas similitudes entre discos imaginales como las citadas arriba, podrían haber canalizado las proporciones óptimas y, en consecuencia, habrían sido favorecidas por selección natural. En añadidura, el que las correlaciones genéticas y fenotípicas entre caracteres de distintos discos imaginales sean similares entre las poblaciones/especies examinada, que han divergido en el tamaño y la forma (discutido en IV-e), sugiere la presencia de selección estabilizadora manteniendo una "correlación óptima" entre distintos discos.

La divergencia evolutiva entre los dípteros ha involucrado grandes modificaciones en varias partes corporales. Así pues, existe

una gran variedad de piezas bucales, incluyendo estructuras agudas de succión en los mosquitos, o piezas bucales que funcionan como esponjas en la mosca doméstica, *Drosophila* y formas relacionadas, etc. (Imms, 1964). Las alas también han evolucionado considerablemente entre los dípteros (Imms, 1964). Incluso dentro del mismo género *Drosophila*, en el cual la variabilidad interespecífica es baja con respecto a la morfología, hay casos evidentes de diferenciación morfométrica en ciertas partes corporales, notablemente la placa facial de *D. heteroneura* (Templeton, 1977; Val, 1977). Dadas tales modificaciones en partes corporales individuales, surge la pregunta de cuál es el grado de independencia genética entre las diferentes partes del cuerpo de un díptero. Por un lado, si la correlación genética entre diferentes partes fuera igual a cero, todas las partes o unidades funcionales podrán evolucionar independientemente unas de las otras, posibilitando una gran diferenciación. Por el contrario, si las correlaciones genéticas entre ellas fueran altas, la selección natural sobre una única unidad funcional (*e.g.*, el ala) afectará a las otras partes del cuerpo, y frecuentemente tales cambios correlacionados podrían ser perjudiciales impidiendo una gran diferenciación.

Como notaron Cowley y Atchley (1990), el sistema del desarrollo en discos imaginales, en el cual diferentes partes corporales del insecto adulto derivan de diferentes discos imaginales, podría explicar un cierto grado de independencia evolutiva entre algunas unidades funcionales de los insectos holometábolos. Es evidente que no todos los genes que se expresan en las células de un disco imaginal se expresan también en las células de otros discos (Young y Germeraad, 1980). Esto sugiere dos hipótesis relacionadas: (i) al menos una parte de la variabilidad genética de los caracteres derivados de un disco sería independiente de la variabilidad genética de los caracteres derivados de otros discos, y (ii) las correlaciones genéticas serían

correspondencia con la matriz de hipótesis fue mayor en los machos que en las hembras de *D. koepferae*. Con respecto a este dimorfismo sexual en *D. melanogaster*, Cowley y Atchley (1990, p. 260) concluyeron que "factores autosómicos pueden tener una influencia general sobre el crecimiento de todos los discos imaginales," y "loci del cromosoma X imponen niveles variables o fijos de varianza y covarianza genética sobre el crecimiento de cada disco imaginal." Asumiendo que esto es esencialmente correcto, el grado de evolución independiente entre partes corporales de estas drosófilas sería sexo-dependiente. Esto puede explicar porqué los niveles de dimorfismo sexual de caracteres morfométricos de *D. melanogaster*, son similares dentro de discos imaginales pero varían ampliamente entre discos (Cowley y Atchley, 1988).

Entre algunas poblaciones examinadas de *D. buzzatii* y *D. koepferae* que divergieron morfológicamente, todos los caracteres de la cabeza examinados habrían evolucionado en una misma dirección con respecto a la forma corporal, pero los caracteres de las alas lo habrían hecho en la dirección opuesta (discutido en IV-e). Así, la evolución con respecto a la forma corporal entre las poblaciones/especies examinadas ocurrió de manera tal que los caracteres derivados del disco ojo-antena han cambiado en la dirección opuesta a los del disco ala (ver Figs. 9 y 10). Esto ilustra que aunque las correlaciones genéticas entre los caracteres de los discos ala y ojo-antena sean positivas, ellas son más altas dentro que entre discos. Por un lado, el hecho de que los caracteres estén más inter-correlacionados dentro de cada disco imaginal, explica porqué todos los caracteres de la cabeza habrían evolucionado en una misma dirección de forma corporal, a pesar de que sólo la longitud del ojo habría sido seleccionada (ver IV-e). Por otro lado, el hecho de que las correlaciones sean menores entre los discos pudo facilitar que la

evolución adaptativa de la forma corporal halla ocurrido de manera que los caracteres del ala hallan cambiado sustancialmente en la dirección opuesta a los de la cabeza (ver IV-e). Esto ilustra la importancia que puede tener la estructura de correlaciones genéticas para determinar las posibles trayectorias micro-evolutivas de los caracteres sobre diferentes regiones del cuerpo. La mayor independencia genética entre diferentes discos imaginales puede facilitar al ajuste fino micro-evolutivo de una población al ambiente fluctuante, al permitir que una unidad funcional pueda cambiar con algún grado de libertad sin afectar adversamente otras.

En resumen, el sistema del desarrollo en discos imaginales podría interactuar de dos maneras con la micro-evolución morfométrica. Primero, podría facilitar la evolución de la forma corporal dando algún grado de libertad para el cambio del tamaño de una parte corporal relativo al tamaño general del cuerpo. Segundo, el que los caracteres de un mismo disco tiendan a estar más altamente inter-correlacionados positivamente, constriñe la evolución de la forma de cada unidad funcional, pues limitaría en algún grado la capacidad de incrementar la medida de un carácter relativa al tamaño general de la parte corporal a la que pertenece. Esto podría ser igualmente válido para otros caracteres además de los morfométricos. Kingsolver y Wiernazs (1991) concluyeron que en las mariposas *Pieris* la mayor parte de la variabilidad fenotípica en la distribución de la pigmentación del ala refleja variación entre conjuntos de caracteres de distintos discos imaginales, en lugar de caracteres del mismo disco. Ellos también concluyeron que la estructura de correlaciones genéticas y fenotípicas entre los caracteres de la pigmentación del ala está influenciada por el sistema del desarrollo en discos imaginales y por las relaciones funcionales entre los caracteres (Kingsolver y Wiernazs, 1991).

Finalmente, lo discutido arriba se aplica naturalmente bien para cambios micro-evolutivos que potencialmente pueden ocurrir como una respuesta adaptativa a condiciones ambientales variables. Sin embargo, no está claro si la estructura de correlaciones genéticas es importante para determinar las trayectorias evolutivas de los caracteres a largo plazo. Para períodos evolutivos muy largos, la evolución podría depender principalmente de la selección estabilizadora sobre las correlaciones entre los caracteres (Zeng, 1988; Schluter y Nychka, 1994). Mediante un análisis de tasa evolutiva (Lande, 1976; Charlesworth, 1984; Turelli y col., 1988; Lynch, 1990) entre nueve especies del grupo *virilis* del género *Drosophila*, Spicer (1993) concluyó que la gran similitud morfológica entre esas especies ha sido modelada por selección estabilizadora (pero ver IV-e2).

Los discos imaginales pueden interpretarse como unidades semiautónomas, y se describieron varias mutaciones homeóticas que transforman una parte en otra. Algunos autores especulan con que tales mutaciones restringidas a segmentos individuales condujeron a novedades evolutivas. Si estas especulaciones son correctas, algunas de tales mutaciones habrían sido favorecidas por selección direccional y luego preservadas por selección estabilizadora. Por ejemplo, se especuló con que la evolución desde un ancestro millipedio a los insectos primitivos (seis patas y cuatro alas), y desde estos últimos a los dípteros (dos alas), fue el resultado de tales "macro"-mutaciones restringidas a segmentos individuales de estos animales metaméricos (e.g., Lewis, 1978; Raff y Kaufman, 1983).

Hay un acuerdo general en que la integración de las investigaciones sobre desarrollo y evolución es fundamental para el conocimiento la dinámica de la evolución fenotípica. La integración formal entre la biología evolutiva y la biología del desarrollo parece estar surgiendo dentro de la disciplina de la genética cuantitativa

(Arnold, 1992; Cowley y Atchley, 1992b). En honor a S. Wright, uno puede citar que "sin una teoría matemática, conectando los fenómenos en poblaciones con aquellos en individuos, no podría haber ningún pensamiento muy claro sobre evolución" (Wright, 1960).

**IV-e. DIVERGENCIA EN EL TAMAÑO Y LA FORMA CORPORAL,
Y RECONSTRUCCION DE LAS FUERZAS SELECTIVAS
RESPONSABLES DE LA DIVERGENCIA
MORFOMETRICA**

IV-e1. Divergencia Morfométrica. Claramente, las poblaciones/especies examinadas en este estudio, *D. buzzatii* de Arroyo Escobar y Quilmes y *D. koepferae* de Quilmes, han divergido con respecto al tamaño (Tabla E2; Figs. 7 y 8) y la forma corporal (Figs 9 a 12). La divergencia morfométrica entre ellas es muy similar en ambos sexos (Figs. 7 a 10).

Para todos los caracteres examinados, excepto el ancho de la cabeza, la mayor divergencia se observa entre *D. buzzatii* de Arroyo Escobar y *D. koepferae* de Quilmes (Fig. 7 y 8). El tamaño del ala ha divergido más que el tamaño de la cabeza y el del tórax, y la longitud del ojo evolucionó en la dirección opuesta a la de los otros caracteres examinados (Figs. 7 y 8). El modelo general es que la divergencia interespecífica (*i.e.*, entre *D. buzzatii* y *D. koepferae*) es menor dentro que entre poblaciones, y para la longitud del ala y del ojo, la divergencia interespecífica es consistentemente mayor que la intraespecífica (Figs. 7 y 8). El análisis de la función discriminante sobre la forma corporal, indicó que la mayor diferenciación se verifica entre *D. buzzatii* de Arroyo Escobar y *D. koepferae* de Quilmes (Figs. 11 y 12). Los caracteres que más contribuyen a la discriminación por forma son el tamaño de las alas versus el largo del ojo y el ancho de la cara (Figs. 11 y 12).

Existen dos causas principales de divergencia morfométrica entre poblaciones (Endler, 1977, 1986). Una de ellas es la existencia de selección natural dependiente de condiciones ambientales que varían

espacial o geográficamente. Alternativamente, la divergencia puede ser el resultado de deriva genética. El hecho de que la forma corporal de *D. koepferae* de Quilmes, es más parecida a la de *D. buzzatii* de la misma localidad que a la de *D. buzzatii* de otra localidad climática y ecológicamente muy diferente (Figs, 11 y 12), sugiere fuertemente que la divergencia morfométrica observada es el resultado de adaptaciones locales. La posibilidad de que este escenario halla sido causado por un intercambio de material genético en simpatria es remota, porque los experimentos de cruzamiento interespecífico suelen indicar un nivel de aislamiento reproductivo relativamente alto (Marin y col., 1993). En realidad, hay pocas dudas de que la divergencia morfométrica entre poblaciones de *Drosophila* suele ser adaptativa. En el caso particular de *D. buzzatii*, mientras que se ha demostrado inequívocamente que el polimorfismo del cromosoma 2 es adaptativo (Ruiz y col., 1986; Hasson y col., 1991), y varía clinalmente a través de gradientes de altitud y latitud (Knibb y Barker, 1988; Hasson y col., 1995), la selección de longevidad adulta relacionada con el tamaño corporal parece influenciar sustancialmente a este polimorfismo en la naturaleza (Norry y col., 1995b). La relación entre el tamaño corporal y este polimorfismo adaptativo es también consistente con el hecho de que *D. buzzatii* sea más grande en la población de Quilmes que en la de Arroyo Escobar. Específicamente, mientras que la inversión 2st es la única ordenación del cromosoma 2 que tiene un efecto medio negativo sobre el tamaño corporal (Ruiz y col., 1991, Norry y col., 1995b), ella está casi ausente en la población de Quilmes, de moscas grandes, pero tiene una frecuencia mayor que el 10% en Arroyo Escobar (Hasson y col., 1995). Tales relaciones entre el tamaño corporal y este polimorfismo cromosómico adaptativo y flexible dan evidencia convincente de que la divergencia morfométrica entre poblaciones naturales de *D. buzzatii* puede ser, al menos parcialmente, adaptativa. También existe alguna

evidencia de variación clinal entre el tamaño corporal de *D. buzzatii* y la temperatura (Thomas y Barker, 1993). En *D. melanogaster* se ha documentado la mejor evidencia de tales clinas, al observarse independientemente tres clinas latitudinales y paralelas para la longitud del ala, cada una en regiones geográficas muy separadas (David y Col., 1977; Coyne y Beecham, 1987; Imasheva y col., 1994). La existencia de estas tres clinas paralelas da poco lugar para dudar del significado adaptativo de la variación latitudinal de la longitud del ala (Imasheva y col., 1994). También se han observado clinas similares en otras especies de *Drosophila*: *D. robusta* (Stalker y Carson, 1947); *D. subobscura* (Prevosti, 1955; Misra y Reeve, 1964; Pfriem, 1983); *D. virilis* (David y Kitagawa, 1982) *D. simulans* (Hyytia y col., 1985). Es extremadamente improbable que tales clinas se deban a procesos estocásticos, porque en todas ellas se observó una correlación positiva entre el tamaño del ala y la latitud. Recientemente, Long y Singh (1995) compararon el nivel morfométrico y alozímico de subdivisión poblacional usando el índice F_{st} de Wright (1951), para poblaciones adyacentes a lo largo de una clina latitudinal de caracteres morfométricos (muchos de los cuales han sido medidos en el presente estudio) en *D. melanogaster*. En este caso, sus resultados revelaron la presencia de selección natural manteniendo un alto nivel de subdivisión de población sobre la ancho del ala (Long y Singh, 1995). El agente selectivo frecuentemente invocado para explicar tales clinas es la temperatura. Mientras que las moscas genéticamente más grandes corresponden a las regiones más frías, en experimentos de selección artificial se verifica que a bajas temperaturas de cultivo las moscas evolucionan incrementando el tamaño del ala (e.g., Anderson, 1966, 1973; Powell, 1974). Sin embargo el mecanismo subyacente de la selección implicada en la formación de estas clinas es desconocido. Por un lado, no está claro si esta selección opera

sobre (i) el tamaño general del cuerpo, (ii) una combinación de caracteres, o (iii) un carácter particular como el tamaño del ala (para alguna discusión ver Coyne y Beecham, 1987; Long y Singh, 1995).

Existe la posibilidad de que la selección involucrada en estas clinas actúe sobre el tamaño del ala en relación a (i) la eficiencia para el vuelo (Stalker, 1980) o (ii) la regulación de la temperatura corporal (Kingsolver y Koehl, 1985). Es interesante notar que la divergencia entre las poblaciones/especies examinadas en este estudio, es mayor para el tamaño del ala que para el tamaño de las otras partes corporales medidas (Figs. 7 y 8). Esto podría sugerir que parte de la selección involucrada en la diferenciación, habría actuado sobre la longitud del ala. Esto es exactamente lo que sugieren los resultados del análisis de gradientes de selección asociados a la divergencia morfométrica observada (ver IV-e2). Pero es difícil establecer si la temperatura fue un agente selectivo responsable de que las moscas de Quilmes sean más grandes que las de Arroyo Escobar. El tamaño del ala podría depender al mismo tiempo de regulación de la temperatura corporal (Kingsolver y Koehl, 1985) y de la capacidad para volar. Una observación que sugiere que la capacidad para volar fue un factor clave en la diferenciación observada entre estas poblaciones/especies, es que la longitud del ojo evolucionó en la dirección opuesta a la del ala (Figs. 7 y 8), como se discute a continuación.

La longitud del ojo es sustancialmente menor en las moscas de Quilmes, las cuales tienen alas más grandes que las de Arroyo Escobar. Es probable que una cabeza pequeña con respecto a la dimensión vertical del cuerpo (*i.e.*, pequeña longitud del ojo) podría dar una ventaja aerodinámica, permitiendo disminuir la superficie de resistencia al aire durante el vuelo. De este modo, es posible que la mayor longitud del ala y la menor longitud del ojo, pudieron combinarse en una adaptación para el vuelo, aunque el tamaño del ala

también pudo evolucionar como una respuesta a la selección sobre la regulación de la temperatura corporal (Kingsolver y Koehl, 1985).

Se sabe que la capacidad dispersiva de *Drosophila* está asociada al tamaño corporal: las moscas de mayor tamaño tienen una mayor capacidad dispersiva (Roff, 1977). Además, los morfos de alas más grandes están asociados con la etapa dispersiva en muchos insectos (Harrison, 1980). Incluso, las moscas más grandes de *Drosophila* generalmente tienen un índice de "carga del ala" (*i.e.*, razón entre la longitud del tórax³ y el área del ala) mayor que las pequeñas (Starmer y Wolf, 1989), y a veces este índice ha sido relacionado con la capacidad para volar (*e.g.*, Stalker, 1980). Este índice no difiere sustancialmente entre las poblaciones/especies examinadas aquí, a pesar de las diferencias en el tamaño corporal detectadas entre ellas. Por ejemplo, sobre los datos de la Tabla E1 y usando "LA * AA" como la estima del área del ala, los valores son: 5.0, 4.9 y 4.9 en los machos y 5.1, 5.0 y 5.0 en las hembras de *D. buzzatii* de Arroyo Escobar y Quilmes, y de *D. koepferae*, de Quilmes, respectivamente. Sin embargo, el análisis de componentes principales ajustados con el método de Burnaby indica claramente que la mayor variabilidad de la forma corporal entre estas poblaciones/especies está determinada por el tamaño de las alas (Tabla E3). Entre algunas poblaciones australianas de *D. buzzatii*, también se observó cierta divergencia en el tamaño del ala relativo al tamaño del cuerpo (Thomas y Barker, 1993). Los resultados obtenidos con respecto a la forma corporal indican que: (i) *D. koepferae* de Quilmes tiene alas más grandes y cabeza más pequeña que *D. buzzatii* de la misma población y de Arroyo Escobar (la longitud del ojo es el carácter más divergente de la cabeza), y (ii) *D. buzzatii* de Quilmes tiene alas más grandes y ojos más cortos que *D. buzzatii* de Arroyo Escobar. Teniendo en cuenta la altitud de la localidad de Quilmes (2000 m.s.n.m.), es muy probable que el fenotipo

de las moscas de esta localidad haya evolucionado para incrementar la capacidad de vuelo, permitiéndoles colonizar tales altitudes. En contraste, la altitud de la localidad bonaerense de Arroyo Escobar es cercana al nivel del mar (5 m.s.n.m.), y la mayor parte del área de origen presumible para *D. buzzatii* (ver Fontdevila y col., 1982; Ruiz y col., 1982) comprende regiones de altitudes no mayores a los 500 m.s.n.m.. Además, la frecuencia de la inversión 2st, la ordenación del segundo cromosoma que disminuye el tamaño corporal de sus portadores en la naturaleza (Norry y col., 1995b), disminuye sustancialmente con la altitud, incluso cuando los posibles efectos correlacionados de la latitud y la longitud se controlan estadísticamente (Hasson y col., 1995). También, dado que la inversión 2st en *D. buzzatii*, que es la ordenación ancestral del cromosoma 2 de esta especie (Ruiz y col., 1982), está ausente en la población de Quilmes (Hasson y col., 1995), es razonable pensar que esta población presente características derivadas (por ello, notar que es muy probable que los signos de los diferenciales de selección estimados sean exactos, en particular entre las poblaciones de *D. buzzatii*, pues en todos los cálculos se consideró a la población de Quilmes como de características derivadas de las de Arroyo Escobar).

Además de la altitud, hay otros factores ambientales que pudieron influenciar la evolución de un exofenotipo más adaptado para el vuelo, en Quilmes. Esta localidad pertenece a una región muy árida, y la temperatura mínima en determinados momentos del año puede ser mucho menor que en la localidad de Arroyo Escobar. Como resultado de tales condiciones climáticas, los sustratos de reproducción y alimento (tejidos en putrefacción de las cactáceas *T. terschekii* y *O. sulphurea*) utilizados por las drosófilas cactófilas podrían ser muy efímeros y escasos en determinados momentos del año. Considerando estos escenarios, es posible que las moscas de Quilmes hayan

desarrollado mayores adaptaciones para el vuelo durante la búsqueda de sustratos. Pero también es muy probable que la temperatura mínima, que es menor en Quilmes que en Arroyo Escobar, podría favorecer el incremento del tamaño del ala como respuesta a la regulación de la temperatura corporal, puesto que la mayor superficie del ala podría incrementar la capacidad de captar energía térmica solar (ver Kingsolver y Koehl, 1985). Además, *D. koepferae* es mucho más abundante que *D. buzzatii* en la localidad de Quilmes (Hasson y col., 1992), y esto es exactamente lo que se espera si la divergencia morfométrica entre ambas especies está relacionada con la selección para incrementar el tamaño del ala. Por tener alas proporcionalmente más grandes (Figs. 9 y 10), *D. koepferae* estaría más adaptada que *D. buzzatii* en la localidad de Quilmes. Al menos parcialmente, esta diferencia interespecífica posiblemente relacionada con la regulación de la temperatura corporal, y combinada con la menor longitud del ojo para conferir adaptaciones para el vuelo, podrían explicar porqué *D. koepferae* es la especie predominante en esta localidad.

Por último, la divergencia en la forma corporal observada entre las poblaciones/especies examinadas es consistente con el modelo de la estructura de correlaciones genéticas y fenotípicas. La evolución con respecto a la forma corporal ocurrió de manera tal que los caracteres de la cabeza, derivados del disco ojo-antena, han cambiado en la dirección opuesta a los del ala, derivados del disco ala (Figs. 9 y 10). Esto pudo haber sido factible por el hecho de que las correlaciones genéticas y fenotípicas son mayores dentro que entre ambos discos imaginales (ver IV-d).

IV-e2. Reconstrucción de las Fuerzas Selectivas Responsables de la Divergencia Morfométrica. Las estimas de las fuerzas selectivas asociadas a la divergencia examinada, difieren sustancialmente entre

los modelos univariado y multivariado de selección direccional. Específicamente, los diferenciales univariados de selección neta (s_n) son mucho menores que los multivariados (β_n) (Tabla E2). Dado que cada carácter comparte una porción de la varianza genética con uno o más de los otros caracteres examinados (Tabla C1), ninguno de ellos podrá evolucionar independientemente de los otros. Por ello, la causa de la discrepancia entre los diferenciales s_n y β_n es evidente. En particular, por no considerar los efectos de las covarianzas genéticas y fenotípicas entre las diferentes partes corporales (o caracteres), un diferencial s_n es una estima incorrecta de la cantidad de selección responsable de la divergencia observada. Por el contrario, la estima de esta cantidad obtenida mediante el gradiente de selección neta (β_n), se basa en las varianzas y covarianzas genéticas y fenotípicas estimadas. De este modo, β_n es una estima más confiable que s_n . En realidad, se ha demostrado empíricamente que el modelo multivariado puede ser muy eficiente para predecir la respuesta a la selección e identificar cuales caracteres están afectados por selección natural directa (e.g., Humphreys, 1995).

Las estimas de los gradientes de selección neta estandarizados (β'_n) indican que el tamaño de las alas, el ancho de la cabeza y la longitud del ojo, son los principales caracteres sobre los cuales actuó la selección natural responsable de la diferenciación morfométrica entre las poblaciones/especies examinadas (Figs. 13 y 14). Claramente, la dirección de la selección no ha sido la misma para todos estos caracteres. Durante la divergencia entre todos los pares de poblaciones/especies examinadas, la longitud del ojo habría sido seleccionada en la dirección opuesta a la de las alas. Esto es completamente consistente con la hipótesis de la adaptación para el vuelo avanzada en IV-e1. Específicamente, estos resultados tomados juntamente con los discutidos en IV-e1, sugieren que el fenotipo

externo en la localidad de Quilmes ha evolucionado a través de selección sobre caracteres importantes para la regulación de la temperatura corporal y/o el vuelo, incrementando el tamaño del ala y disminuyendo la dimensión vertical de la cabeza (longitud del ojo). Tal selección habría sido la principal responsable de la divergencia morfométrica observada entre las poblaciones/especies examinadas aquí.

No existe la menor duda de que la selección direccional sobre un carácter afectará a la micro-evolución de cualquier otro carácter genéticamente correlacionado con éste. Por ello, si las correlaciones genéticas entre caracteres (o partes corporales) seleccionados(as) en direcciones opuestas son positivas, como en el caso presente (Tabla C1), entonces el modelo univariado (s_n) subestimaré seriamente la cantidad de selección necesaria para crear la divergencia. Bajo tales condiciones, las correlaciones genéticas pueden constreñir sustancialmente a la divergencia morfológica, incluso aunque ellas sean de pequeña magnitud, como indican los resultados presentes. Esta es una consecuencia evolutiva muy importante, ya que para tales escenarios las correlaciones genéticas podrían retardar considerablemente a la tasa en la cual la población alcanza su pico adaptativo (ver Charlesworth, 1990; Kirkpatrick y Lofswold, 1992; Merila y col., 1994). Asimismo, podría requerirse de altas intensidades de selección para producir algún cambio fenotípico.

La relativamente pequeña divergencia morfométrica entre las poblaciones/especies examinadas aquí, es consistente con la similitud morfolológica frecuentemente observada entre especies de *Drosophila* (e.g., Mather y Dobzhansky, 1939; Reed y Reed, 1948; Burla y col., 1949; Rizki, 1951; Townsend, 1954; Spassky, 1957; Spicer, 1993). Sin embargo, los resultados sugieren que para superar el constreñimiento impuesto por las correlaciones genéticas positivas, incluso esta modesta divergencia probablemente ha requerido de altas intensidades

de selección direccional. Al menos parcialmente, esto podría explicar la discrepancia entre la baja tasa de evolución morfológica y las altas intensidades de selección direccional sobre caracteres morfométricos en poblaciones naturales de *Drosophila*. Recientemente, Merila y Gustafsson (1993), y Merila y col. (1994), han realizado un estudio similar al presente, pero en dos especies del género *Ficedula*. Merila y col. (1994) estimaron el gradiente de selección asociado a la relativamente pequeña divergencia morfológica entre esas especies. Ellos obtuvieron estimas de correlaciones genéticas bajas y positivas entre varios caracteres morfológicos, y concluyeron que esas correlaciones constriñieron sustancialmente la divergencia morfológica entre las especies examinadas (Merila y col., 1994).

Recientemente, Spicer (1993) utilizó una prueba de tasas evolutivas (Lande, 1976; Charlesworth, 1984; Turelli y col, 1988; Lynch, 1990) para examinar la divergencia morfométrica entre nueve especies del grupo *virilis* del género *Drosophila*. Hay diferentes algoritmos de pruebas de tasas, pero todos estos métodos estadísticos evalúan la hipótesis nula de que la divergencia observada entre poblaciones/especies es equivalente a la esperada si la mutación y la deriva genética fueran las únicas causas de evolución. Esta hipótesis nula puede ser rechazada si: (a) la divergencia es mayor que la esperada por azar, en cuyo caso habría resultado de selección direccional; (b) la divergencia es menor que la esperada por azar, en cuyo caso la homogeneidad fenotípica habría resultado de selección estabilizadora. Un problema crucial de las pruebas de tasas, es que son univariadas y los efectos de las correlaciones genéticas no pueden evaluarse. Consecuentemente, los resultados obtenidos deben tomarse con extrema cautela cuando uno o más de los caracteres examinados covarian genéticamente con otros. En su estudio, Spicer (1993) concluyó que la baja tasa de divergencia morfológica entre las

especies estudiadas sería el resultado de selección estabilizadora. El argumentó que aunque la existencia de correlaciones genéticas (no estimadas) entre los caracteres examinados podría invalidar sus conclusiones, las correlaciones no serían muy altas entre todos los caracteres, por lo que consideró poco probable que los resultados de su prueba de tasas sean sesgados por este factor (Spicer, 1993 p. 1250). Sin embargo, los resultados presentes y los de Merila y col. (1994) son elocuentes en mostrar que incluso pequeñas correlaciones genéticas pueden tener grandes efectos. Más aún, la evidencia indica que para diferentes componentes de la aptitud, la selección sobre caracteres relacionados con el tamaño corporal es generalmente direccional en poblaciones naturales de *Drosophila* (Santos y col., 1992; Aspi y Hoikkala, 1995; Norry y col., 1995b). Además, Spicer (1993) utilizó cepas de laboratorio cuyos fenotipos pudieron ser afectados por evolución convergente en respuesta al ambiente común del laboratorio.

Desafortunadamente, los datos presentes no permiten hacer una prueba de tasas porque los tiempos de divergencia entre las poblaciones/especies examinadas no se conocen. Sin embargo, dados los pequeños diferenciales s_n estimados, es muy probable que tal prueba estadística no revelaría la presencia de sustancial selección direccional involucrada en la divergencia. Por el contrario, los gradientes de selección direccional estimados sugieren que existió una gran presión de selección direccional para producir el modesto cambio observado (Tabla E2).

La selección natural probablemente no opera en la misma dirección sobre todas las partes y dimensiones del cuerpo, según indican los resultados presentes con *Drosophila* (Figs. 13 y 14). Por ello, las correlaciones genéticas positivas probablemente disminuyen sustancialmente la tasa de evolución adaptativa en estos insectos.

incluso en la presencia de fuerte selección direccional. No obstante esto, es probable que algunas proporciones entre partes corporales sean preservadas por selección estabilizadora (discutido en IV-d), la cual podría operar simultáneamente con la selección direccional. En tal caso, los resultados de la prueba de tasas obtenidos por Spicer (1993) en el grupo *virilis* de *Drosophila* (comentados arriba), podrían reflejar una combinación de selección estabilizadora con selección direccional operando en direcciones opuestas sobre caracteres positivamente correlacionados. Dados los grandes efectos de las correlaciones genéticas detectados por el estudio el presente y el de Merila y col. (1994), ningún análisis univariado, incluyendo las pruebas de tasas o el de flujo génico sugerido por Long y Singh (1995) y otros, dará resultados confiables por sí mismos. En particular, una aproximación univariada a este problema jamás podrá evaluar y caracterizar los efectos que las covarianzas genéticas tienen sobre la evolución. Si la intención fuera obtener conclusiones robustas, entonces los resultados de tales análisis univariados han de compararse con los de un detallado análisis retrospectivo de selección, estimando el gradiente de selección asociado a la divergencia estudiada.

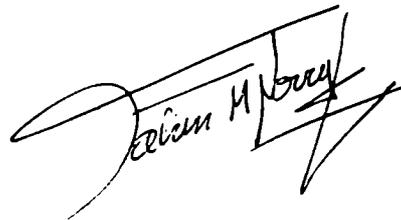
El modelo del gradiente de selección observado fue similar en ambos sexos. Sin embargo, la intensidad estimada de selección divergente operando sobre el ancho de la cabeza, es sustancialmente mayor en los machos que en las hembras (comparar Figs. 13 y 14). Esta diferencia entre sexos es notable en las divergencias "buz(Q)-buz(AE)" y "koe(Q)-buz(AE)," donde la intensidad de selección estimada sobre este carácter es aproximadamente 4 veces mayor en los machos que en las hembras (Figs. 13 y 14). En un estudio futuro, sería interesante evaluar si esta selección divergente sobre el ancho de la cabeza involucra selección sexual, ya que se observó que este carácter puede ser uno de los determinantes del éxito copulatorio en *D. buzzatii* (IV-

a). Un resultado intrigante fue que durante la divergencia en simpatria, *i.e.* koe(Q)-buz(Q), la selección sobre este carácter ocurrió en la dirección opuesta a la implicada en la divergencia alopátrica, *i.e.* koe(Q)-buz(AE) y buz(Q)-buz(AE) (Fig. 13). Coyne y Orr (1989) observaron que entre especies relacionadas de *Drosophila*, existe un mayor aislamiento pre-cigótico en simpatria que en alopatria, y concluyeron que se debería a reforzamiento de la discriminación de apareamiento por selección natural. Otros autores informaron observaciones similares entre especies de *Drosophila* del grupo repleta (Wasserman y koepfer, 1977; Marin y col, 1993). En un estudio futuro, sería interesante evaluar si la selección sugerida sobre el ancho de la cabeza habría implicado discriminación de apareamiento entre *D. koepferae* y *D. buzzatii* en la población de Quilmes.

Finalmente, ni la longitud del tórax ni el ancho del escutelo, habrían sido caracteres seleccionados para producir la divergencia morfométrica entre las poblaciones/especies examinadas (Figs. 13 y 14). Este descubrimiento también fue alcanzado por Long y Singh (1995) entre poblaciones de *D. melanogaster*. La divergencia observada en estos dos caracteres (Figs. 7 y 8) habría evolucionado como una mera consecuencia de sus correlaciones genéticas con los caracteres seleccionados del ala y la cabeza. Puede concluirse que la selección responsable de la divergencia en el tamaño y la forma corporal, habría actuado sobre caracteres o partes corporales individuales, pero no sobre el tamaño general del cuerpo.

En conclusión, el conocimiento de las covarianzas genéticas entre caracteres es irremplazable para el análisis del proceso evolutivo (Lande, 1979). Las diferencias interespecíficas en el fenotipo medio frecuentemente fueron interpretadas como el resultado de presiones selectivas divergentes (*e.g.*, Fisher, 1958; Mayr 1963,

1970). Sin embargo, si las poblaciones/especies difirieran en la estructura de covarianzas genéticas entre caracteres, ellas podrían divergir incluso bajo idénticas presiones selectivas (Lofsvold, 1986). En general, los resultados discutidos en IV-c sugirieron que la estructura de covarianzas genéticas no difiere sustancialmente entre las poblaciones/especies examinadas en este estudio.

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Lofsvold'.A handwritten signature in black ink, appearing to be 'William H. Jones'.

REFERENCIAS

- Anderson, W. W.. 1966. Genetic divergence in M. Ventukhiv's experimental populations of *Drosophila pseudoobscura*. 3. Divergence in body size. Genet. Res. 7: 255-266.
- Anderson, W. W.. 1973. Genetic divergence in body size among experimental populations of *Drosophila pseudoobscura* kept at different temperatures. Evolution 27: 278-284.
- Anholt, B.. 1991. Measuring selection on a population of damselflies with a manipulated phenotype. Evolution 45: 1191-1106.
- Arnold, S. J.. 1981. Behavioral variation in natural populations. 1. Phenotypic, genetic and environmental correlations among chemoreceptive responses to prey in the garter snake, *Thamnophis elegans*. Evolution 35: 489-509.
- Arnold S. J.. 1988. Quantitative genetics and selection in natural populations: microevolution of vertebral numbers in the garter snake *Thamnophis elegans*, p. 619-636 en B. S. Weir, E. J. Eisen, M. M. Goodman, G. Namkoong, eds.. Proceedings of the Second International Conference on Quantitative Genetics. Sinauer, Sunderland, Mass.
- Arnold, S. J.. 1992. Constraints on the phenotypic evolution. Am. Nat. 140s: 85-107.
- Arnold, S. J. y Duvall, D.. 1994. Animal mating systems: a synthesis based on selection theory. Am. Nat. 143: 317-348.
- Arnold S. J. y Wade, M. J.. 1984a. On the measurement of natural and sexual selection. Theory. Evolution 38: 709-719.
- Arnold S. J. y Wade, M. J.. 1984b. On the measurement of natural and sexual selection. Applications. Evolution 38: 720-734.
- Aspi, J. y Hoikkala, A.. 1995. Male mating success and survival in the field with respect to size and courtship song character in *Drosophila littoralis* and *D. montana* (diptera: Drosophilidae). J. Insect Behav. 8: 67-87.

- Atchley, W. R.. 1984. Ontogeny, timing of development, and genetic variance-covariance structure. *Am. Nat.* 123: 519-540.
- Atchley, W. R.. 1987. Development quantitative genetics and the evolution of ontogenies. *Evolution* 41: 316-330.
- Atchley, W. R., Plummer, A. A. y Riska, B.. 1985a. Genetics of mandiblr form in the mouse. *Genetics* 111: 555-577.
- Atchley, W. R., Plummer, A. A. y Riska, B.. 1985b. Genetics analysis of size-scaling pattern in the mouse mandible. *Genetics* 111: 579-595.
- Atchley, W. R., Riska, B., Kohn, L. A. P., Plummer, A. A. y Rutledge, J. J.. 1984. A quantitative genetics analysis of brain and body size association, their origin and ontogeny: Data from mice. *Evolution* 38: 1165-1179.
- Atchley, W. R., Rutledge, J. J. y Cowley, D. E.. 1981. Genetics components of size and shape II. Multivariate covariance patterns in the rat and mouse skull. *Evolution* 35: 1037-1055.
- Baker, B. S. y Belote, J. M.. 1983. Sex determination and dosage compensation in *Drosophila melanogaster*. *Annu. Rev. Genet.* 17: 345-393.
- Barker, J. S. F., 1982. Population genetics o of *Opuntia* breeding *Drosophila* in Australia Pp. 209-224 en Barker J. S. F. y Starmer W. T. (eds.). *Ecological Genetics and Evolution*. Academic Press, Australia.
- Barker, J. S. F., East, P. D., Phaff, H. J., y 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., Starmer, W. T., y Fogleman, J. C.. 1994. Genotype-specific habitat selection for oviposition sites in the cactophilic species *Drosophila buzzatii*. *Heredity* 72: 384-395.

- Barker, J. S. F., Starmer, W. T., y Vacek, D. C.. 1987. Analysis of spatial and temporal variation in the community structure of yeasts associated with decaying *Opuntia* cactus. *Microb. Ecol.* 14: 267-276.
- Barton, N. H. y Turelli, M.. 1989. Evolutionary quantitative genetics: how little do we know? *Annu. Rev. Genet.* 23: 337-370.
- Begon, M.. 1982. Yeast and *Drosophila*. En Ashburner, M., Carson, H. L., y Thompson Jr, J. N. (eds). *The Genetics and Biology of Drosophila*, Academic Press: Vol. 3b, pp. 345-384. Nueva York,
- Björklund, M.. 1991a. Patterns of morphological variation among carducline finches (Fringillidae; Carduclinae). *Biol. J. Lin. Soc.* 43: 239-248.
- Björklund, M.. 1991b. Evolution, phylogeny, sexual dimorphism and mating system in the grackles (*Quiscalus* spp: Icteridae). *Evolution* 45: 608-621.
- Björklund, M.. 1994. Processes generating macroevolutionary patterns of morphological variation in birds: a simulation study.
- Boake, C. R. B.. 1989. Correlations between courtship success, aggressive success, an body size in a picture-winged fly. *Drosophila silvestris*. *Ethology* 82: 318-329.
- Bookstein, F., Chernoff, B., Elder, R., Humpries, J., Smith G. y Strauss, R.. 1985. *Morphometrics in Evolutionary Biology*. Academy of Natural Sciences of Philadelphia, Special Publ. 15.
- Brodie, E. D.. 1989. Genetic correlation between morphology and antipredator behavior in natural populations of the garter snake *Thamnophis ordinoides*. *Nature (london)* 342: 542-543.
- Brodie, E. D.. 1993. Homogeneity of the genetic variance-covariance matrix for antipredator traits in two natural populations of the garter snake *Thamnophis ordinoides*. *Evolution* 47: 844-854.

- Brooks, D. R. y McLennan, D. A.. 1991. Phylogeny, ecology, and behavior. Univ. Chicago Press, Chicago.
- Burla, H., Brito da Cumba, A., Cordeiro, R., Dobzhanski, T. Malogolowkin, C. y Pavin, C.. 1949. The willistoni group of sibling species of *Drosophila*. Evolution 3: 300-314.
- Burnaby, T. P.. 1966. Growth-invariant discriminant functions and generalized distances. Biometrics 22: 96-110.
- Cabrera, A.. 1976. Regiones Fitogeográficas de la Argentina. Enc. Arg. Agric. Ganad. Fasc. 1. ACME, S.A.C.I., Buenos Aires.
- Calder, W. A.. 1984. Size, Function, an life history. Ma: Harvard Univ. Press.
- Charlesworth, B.. 1984. The evolutionary genetics of life histories, pp. 117-133 en B. Shorrocks (ed.), Evolutionary Ecology. Oxford Univ. Press., Oxford, Reino Unido.
- Charlesworth, B.. 1987. The heritability of fitness, p. 21-40. In Sexual Selection Testing the Alternatives, Edited by J. Bradbury and M. B. Andersson. John Wiley & Sons, Londres.
- Charlesworth, B.. 1990. Optimization models, Quantitative genetics, and mutation. Evolution 44: 520-538.
- Cheverud, J. M.. 1984. Quantitative genetics and developmental constraints on evolution by selection. J. Theor. Biol. 110: 155-171.
- Cheverud, J. M.. 1988. A comparison of genetic and phenotypic correlations. Evolution 42: 958-968.
- Cheverud, J. M.. 1982. Phenotypic, genetic, and environmental morphological integration in the cranium. Evolution 36: 499-516.
- Cheverud, J. M., Wagner, J. P. y Dow, M.. 1989. Methods for the comparative analysis of variation patterns. Syst. Zool. 38: 201-213.

- Conner, J.. 1988. Field measurements of natural and sexual selection in the fungus beetle, *Bolitotherus cornutus*. Evolution 42: 736-749.
- Cowley D. E. y Atchley, W. R.. 1988. Quantitative genetics of *Drosophila melanogaster*. II. Heritabilities and genetics correlations between sexes for head and thorax traits. Genetics 119: 421-433.
- Cowley, D. E. y Atchley, W. R.. 1992a. Comparison of quantitative genetic parameters. Evolution 46: 1965-1967.
- Cowley, D. E. y Atchley, W. R.. 1992b. Quantitative genetic models for development, epigenetic selection, and phenotypic evolution. Evolution 46: 495-518.
- Coyne, J. A. y Beecham, E.. 1987. Heritability of two morphological characters within and among natural populations of *Drosophila melanogaster*. Genetics 117: 727-737.
- Coyne, J. A. y Orr, H. A.. 1989. Patterns of speciations in *Drosophila*. Evolution: 362-381.
- Crespi, B. J.. 1990. Measuring the effect of natural selection on phenotypic interaction systems. Am. Nat. 135: 32-47.
- Crespi, B. J. y Bookstein, F. L.. 1989. A path-analytic model for the measurement of selection on morphology. Evolution 43: 18-28.
- Crow, J. F. y Kimura, M.. 1970. An Introduction to Population Genetics. Theor, Burgess Pub. Company, Minneapolis.
- Darwin, C.. 1959. On the Origin of Species. 1964, Facsimile of 1st ed. Harvard Univ. Press. Cambridge, Mass.
- Darwin, C.. 1871. The Descent of Man, and Selection in Relation to Sex. John Murray. Londres.
- David, J.. 1962. A new medium for rearing *Drosophila* in axenic conditions. Dros. Inf. Serv. 36: 128.

- David, J., Bocquet, C. y Scheemaeker-Louis, M.. 1977. Genetics latitudinal adaptation in *Drosophila melanogaster*: new discriminative biometrical traits between European and equatorial African populations. Genet. Res. 30: 247-55.
- David, J. y Kitagawa, O.. 1982. Possible similarities in ethanol tolerance and latitudinal variations between *Drosophila virilis* and *D. melanogaster*. Jpn. J. Genet.: 57: 89-95.
- David, J., Tsacas, L.. 1980. Cosmopolitan, subcosmopolitan and widespread: different strategies within the drosophilid family (Diptera). C. R. Soc. Biogeogr. 57: 11-26.
- Dickerson, G. E.. 1955. Genetic slippage in response to selection for multiple objectives. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology 20: 213-224.
- Dietz, E. J.. 1983. Permutation tests for association between two distance matrices. Syst. Zool. 32: 21-26.
- Efron, B.. 1982. The Jackknife, the Bootstrap, and Other Resampling Plans. Appl. Math. , Philadelphia.
- Eldredge, N. y Gould, S. J.. 1972. Punctuated equilibria: an alternative to phyletic gradualism. Pp. 82-115 en Schopf, T. J. M. (ed.), Models in Paleontology. Freeman, San Francisco.
- Endler, J. A.. 1977. Geographic Variation, Speciation and Clines. Princeton Univ. Press. Princeton, Nueva Jersey.
- Endler, J. A.. 1986. Natural Selection in the Wild. Princeton University Press. Nueva Jersey.
- Falconer, D. S.. 1981. Introduction to quantitative genetics. 2nd ed. Longman, Nueva York.
- Falconer, D. S.. 1989. Introduction to quantitative genetics. 3d ed. Longman, Nueva York.
- Fisher, R. A.. 1930. The genetic theory of natural selection. Charendon, Oxford.

- Fisher, R. A.. 1951. Limits to intensive production in animals. Br. Agric. Bull. 4: 217-218.
- Fisher, R. A.. 1958. The Genetical Theory of Natural Selection. 2nd. edn.. Dower, Nueva York.
- Flury, D. K., 1987. A hierarchy of relationships between covariance matrices. Pags. 31-43 en A. K. Gupta, ed. Advances in Multivariate Statistical Analysis. Reidel, Dordrecht.
- Fontdevila, A., Pla, C., Hasson, E., Wasserman, M., Sanches, A., Naveira, H. y Ruiz, A.. 1988. *Drosophila koepferae*: a new member of the *Drosophila serido* (Diptera: Drosophilidae) subspecies taxon. Ann. Entomol. Soc. Am. 81: 380-385.
- Fontdevila, A., Ruiz, A., Alonso G., y Ocaña, J.. 1982. The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. 11. How much has chromosomal polymorphism changed in colonization. Evolution 36: 843-851.
- Friedman, J. A. y Stuetzle, W.. 1981. Projection pursuit regression. J. Am. Stat. Ass. 76: 817-823.
- Futuyma, D.. 1987. Evolutionary Biology. Sunderland, MA, Sinauer.
- Gehring W. J. y Nothiger, R.. 1973. The imaginal disc of *Drosophila*. Pp. 211-290 en Counce, S. J. y Waddington, C. H. (eds.), Developmental Systems: Insects. Vol. 2. Academic Press, Nueva York.
- Gilbert, D. G.. 1980. Dispersal of yeasts and bacteria by *Drosophila* in a temperate forest. Oecologia (Berlin) 46: 135-137.
- Gimelfard, A. 1992. Pleiotropy and multilocus polymorphism. Genetics: 130: 223-227.
- Graven, P. y Wabba, G.. 1979. Smoothing noisy data with spline functions: estimating the correct degree of smoothing by the method of generalized cross-validation. Numerische Math. 31: 377-403.

- Gustaffson, L.. 1986. Lifetime reproductive success and heritability: empirical support for Fisher's fundamental theorem. *Am. Nat.* 128: 761-764.
- Harrison, R. G.. 1980. Dispersal polymorphisms in insects. *An. Rev. Ecol. Syst.* 11: 95-118.
- Harvey, P. H. y Pagel, M. D.. 1991. *The comparative method in evolutionary biology.* Oxford Univ. Press, Oxford.
- Hasson, E., Fanara, J. J., Rodriguez, C., Vilardi, J., Reig, O. A. y Fontdevila, A.. 1992. The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. XXIV. Second chromosome inversions have different average effects on thorax length. *Heredity* 68: 557-563.
- Hasson, E., Fanara, J. J., Rodriguez, C., Vilardi, J., Reig O. A. y 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., Rodriguez, C., Fanara, J. J., Naveira, H., Reig, O. A. y Fontdevila, A.. 1995. The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. XXVI. Macrogeographic patterns of inversion polymorphism in New World populations. *J. Evol. Biol.* 8: 369-384.
- Hasson, E., Vilardi, J. C., Naveira, H., Fanara, J. J., Rodriguez, C., Reig O. A., y Fontdevila, A.. 1991. The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. XVI. Fitness component analysis in an original natural population from Argentina. *J. Evol. Biol.* 4: 209-225.
- Hazel, L. N.. 1943. The genetic basis for constructing selection indexes. *Genetics* 28: 476-490.
- Hews, D. K. 1990. Examining hypotheses generated by field measures of sexual selection on males lizards, *Uta palmeri*. *Evolution* 44: 1956-1966.

- Hocking, R. R., 1976. The Analysis of selection of variables in linear regression. *Biometrics* 32: 1-49.
- Holloway, G. J., De Jong, P. W. y Ottenheim, M.. 1993. The genetics and cost of chemical defense in the two-spot Ladybird (*Adalia bipunctata* L.). *Evolution* 47: 1229-1239.
- Houle, D.. 1992. Comparing evolvability and variability of quantitative traits. *Genetics* 130: 195-204.
- Humphreys, M. O.. 1995. Multitrait response to selection in *Lolium perenne* L. (perennial ryegrass) populations. *Heredity* 74: 510-517.
- Hurbert, L. J.. 1987. Assignment methods in combinatorial data analysis. Marcel Dekker, Nueva York.
- Hyytia, P., Capy, P., David, J., Singh, R. S.. 1985. Enzymatic and quantitative variation in European and African populations of *Drosophila simulans*. *Heredity* 54: 209-217.
- Imasheva, A. G., Bubli, O. A. y Lazebny, O. E.. 1994. Variation in wing length in Eurasian natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Heredity* 72: 508-514.
- Imms, A. D.. 1964. A General Textbook of Entomology. Dutton, Nueva York.
- Jolicoeur, P.. 1963. The degree of generality of robustness in *Martes americana*. *Growth* 27: 1-27.
- Kohn, J. A. P. y Atchley, W. R.. 1988. How similar are genetic correlation structures? Data from mice and rats. *Evolution* 42: 467-481.
- Kingsolver, J. G. y Koehl, M. A. R.. 1985. Aerodynamics, thermoregulation, and the evolution of insect wings differential scaling and evolutionary change. *Evolution* 39: 488-504.

- Kingsolver, J. G. y Wiernasz, D. C.. 1991. Development, function, and the quantitative genetics of wing melanin pattern in *Pieris* butterflies. *Evolution* 45: 1480-1492.
- Kirkpatrick, M. y Lofswold, D.. 1992. Measuring selection and constraint in evolution of growth. *Evolution* 46: 954-971.
- Klein, T. W., Defries, J. C. y Finkbeiner, C. T.. 1973. Heredability and genetics correlation: standar error of estimates and sample size. *Behav. Genet.* 3: 355-364.
- Knibb, W. R. y Barker, J. S. F.. 1988. Polymorphic inversion and Esterase loci complex on chromosome 2 of *Drosophila buzzatii*. II. Spatial variation. *Aust. J. Biol. Sci.* 40: 257-269.
- Kyriacou, C. P.. 1987. Sexual feeding in fruitflies. *Trends Ecol. Evol.* 2: 85-86.
- Lande, R.. 1976. The maintenance of genetic variability by mutation in a polygenic character with linked loci. *Gen. Res.* 26: 221-235.
- Lande, R.. 1979. Quantitative genetic analysis of multivariate evolution, applied to brain:body size allometry. *Evolution* 33: 402-416.
- Lande, R.. 1980a. The genetic covariance between characters maintained by pleiotropic mutations. *Genetics* 94: 203-215.
- Lande, R.. 1980b. Sexual dimorphism, sexual selection, and adaptation in polygenic character. *Evolution* 34: 292-305.
- Lande, R.. 1984. The genetic correlation between characters maintained by selection, linkage and inbreeding. *Genet. Res.* 44: 309-320.
- Lande, R. y Arnold, S. J.. 1983. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution* 37: 1210-1226.
- Mousseau, T. A. y Roff, D. A.. 1987. Natural selkection and the heritability of fitness components. *Heredity* 59: 181-197.

- Leibowitz, A., Santos, M. y Fontdevila, A.. 1995. Heredability an selection on body size in a natural population of *Drosophila buzzatii*. Genetics. En Prensa.
- Ligon, J. D., Thornhill, R., Zuk, M. y Johnson, K.. 1990. Male-male competition, ornamentation, and the role of testosterone in sexual selection in red jungle fowl. Anim. Behav. 40: 367-373.
- Lofsvold, D.. 1986. Quantitative genetics of morphological differentiation in *Peromyscus*. I. Test of the homogeneity of genetic covariance structure among species and subspecies. Evolution 40:559-573.
- Lofsvold, D.. 1988. Quantitative genetics of morphological differentiation in *Peromyscus*. II. Analysis of selection and drift. Evolution 42: 54-67.
- Long, A. D. y Singh, R. S.. 1995. Molecules versus morphology: the detection of selection acting on morphological characters along a cline in *Drosophila melanogaster*. Heredity 74: 569-581.
- Lynch, M.. 1989. Phylogenetic hypotheses under the asumption of neutral quantitative-genetic variation, Evolution 43: 1-17.
- MacIntyre, B. J. y Collier, G. E.. 1986. Protein evolution in the genus *Drosophila*. Pp.39-146 en Ashburner, M., Carson, H. L. y Thompson, J. N. (eds.), The genetics and biology of *Drosophila*. Vol. 3E. Academic, Londres.
- Madhavan, M. V. y Sclmeiderman, H. A.. 1977. Histological analysis of growth of imaginal discs and histoblast nests during the larval development of *Drosophila melanogaster*. Wilhelm Roux's Arch. Dev. Biol. 183: 269-305.
- Magee, W. T.. 1965. Estimating response to selection. J. Anim. Sci. 24: 242-247.
- Mainard Smith, J., Burian, R., Kauffman, S., Alberch, P., Campbell, J., Goodwin, B., Lande, R., Ramp, D. y Wolpert, L.. 1995.

- Developmental constraints and evolution. *Quarterly Rev. Biol.* 60: 265-287.
- Mantel, N. A.. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer res.* 209-220.
- Marin, Ruiz, A., Pla, C. Fontdevila, A.. 1993. Reproductive relationships among ten species of the *Drosophila repleta* group from South America and West Indies. *Evolution* 47: 1616-1624.
- Martin, P. F.. 1982. Direct determination of the growth rate of *Drosophila* imaginal discs. *J. Exp. Zool.* 222: 92-102.
- Mather, E. y Dobzhansky, T.. 1939. Morphological differences between the "races" of *Drosophila pseudoobscura*. *Am. Nat.* 73: 5-25.
- Mayr, E.. 1963. *Animal Species and Evolution*. Harvard Univ. Press, Cambridge, MA.
- Mayr, E.. 1970. *Populations, Species, and Evolution*. Harvard Univ. Press, Cambridge, MA.
- McRobert, S. P.. 1986. The effects of yeast on sexual behavior in *Drosophila melanogaster*. *Behav. Neural Biol.* 45: 150-154.
- Merila, J., Bjorklund, M. y Gustafsson, L.. 1994. Evolution of morphological differences with moderate genetic correlations among traits as exemplified by two flycatcher species (*Ficedula*, *Muscicapidae*). *Biol. J. Lin. Soc.* 52: 29-30.
- Merila, J. y Gustafsson, L.. 1993. Inheritance of size and shape in a natural population of collard flycatchers, *Ficedula albicollis*. *J. Evol. Biol.* 6: 375-395.
- Misra, R. K. y Reeve, E. C. R.. 1964. Clines in body dimensions in populations of *Drosophila subobscura*. *Genet. Res.* 5: 240-256.
- Mitchell-Olds, T. y Shaw, R. G.. 1987. Regression analysis of natural selection: Statistical inference and biological interpretation. *Evolution* 41: 1149-1161.

- Morre, A. J.. 1990. The evolution of sexual dimorphism by sexual selection: The separate effects of intrasexual selection and intersexual selection. *Evolution* 44: 315-331.
- Morrison, D. F.. 1976. *Multivariate statistical methods*. McGraw-Hill, Nueva York.
- Mousseau T. A. y Roff, D. A.. 1987. Natural selection and the heritability of fitness components. *Heredity* 59: 181-197.
- Nie, N. H., Hull, C. H., Jenkins, J. G. Steinbrenner, K, y Bent, D. H.. 1975. *SPSS: Statistical Package for the Social Sciences*. MacGraw-Hill, Nueva York.
- Norry, F. M., Vilardi, J. C., Fanara, J. J., y Hasson, E.. 1995. Courtship success and multivariate analysis of sexual selection on metric traits in *Drosophila buzzatii* (Diptera: Drosophilidae). *J. Insect Behav.* 8: 219-229.
- Norry, F. M., Vilardi, J. C., Fanara, J. J, Hasson E., Rodriguez, C.. 1995. An adaptive chromosomal polymorphism affecting size-related traits, and longevity selection in a natural population of *Drosophila buzzatii*. *Genetica* 96: 285-291.
- Pantelouris, E. M.. 1957. Size response of developing *Drosophila* to temperature changes. *J. Genet.* 55: 507-510.
- Partridge, L. y Farquhar, M.. 1981. Sexual activity reduces lifespan of male fruitflies. *Nature (Londres)* 294: 580-582.
- Partridge, L. y Halliday, T.. 1984. Mating patterns and mate choice. Pp. 222-250 en Krebs, J.R. y Davies, N. B. (eds.). *Behavioral Ecology: an Evolutionary Approach*. 2nd. edn.. Blackwell, Oxford, Inglaterra.
- Partridge, L., Hoffman, A., y Jones, J. S.. 1987a. Male size and mating success in *Drosophila melanogaster* and *Drosophila pseudoobscura* under field conditions. *Anim. Behav.* 35: 468-476.

- Partridge, L., Ewing, A., y Chandler, A.. 1987b. Male size and mating success in *Drosophila melanogaster*: the roles of male and female behaviour. *Anim. Behav.* 35: 555-562.
- Paterson, J. T. y Wheeler, M. R.. 1942. Description of new species of subgenera *Hirtodrosophila* and *Drosophila*. *Univ. Texas Publ.* 4213: 67-109.
- Pfriem, P.. 1983. Latitudinal variation in wing size in *Drosophila subobscura* and its dependence on polygenes of chromosome O. *Genetics* 61: 221-232.
- Phillips, P. C. y Arnold, S. J.. 1989. Visualizing multivariate selection. *Evolution* 43: 1209-1222.
- Postlethwait, J. H. y Schneiderman, H. A.. 1973. Developmental genetics of *Drosophila* imaginal discs. *Annu. Rev. Genet.* 7: 381-431.
- Powell, J. R.. 1974. Temperature related genetic divergence in *Drosophila* body size. *J. Hered.* 65: 257-258.
- Prevosti, A.. 1955. Geographical variability in quantitative traits in populations of *Drosophila subobscura*. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 20: 294-299.
- Price, T. D.. 1970. Selection and covariance. *Nature* 227: 520-521.
- Price T. D. y Boag, P. T.. 1987. Selection in natural populations of birds. Pp. 257-287 en Cooke, F. y Buckley, P. A.. *Avian Genetics: A Population and Ecological Approach*. Academic Press, Nueva York.
- Price, T. D. y Grant, D. P. R.. 1985. The evolution of ontogeny in Darwin's finches: a quantitative genetics approach. *Am. Nat.* 125: 169-188.
- Price, T. D., Grant, D. P. R. y Boag, P. T.. 1984. Genetic changes in the morphological differentiation of Darwin's ground finches. Pp. 49-66 en Woehrmann K. y Loestchcke, V. (eds.). *Population Biology and Evolution*. Springer. Nueva York.

- Price, T. D. y Schluter, D.. 1991. On the low heritability of life history traits. *Evolution* 45: 853-861.
- Prout, T.. 1969. The estimation of fitness from population data. *Genetics* 63: 949-967.
- Prout, T. y Barker, J. S. F.. 1989. Ecological aspects of the heritability of body size in *Drosophila buzzatii*. *Genetics* 123: 803-813.
- Provine, W.. 1986. Sewall Wright and Evolutionary Biology. Univ. Chicago Press, Chicago.
- Reed, S. C. y Reed, E. W.. 1948. Morphological differences and problems of speciation in *Drosophila*. *Evolution* 2: 40-48.
- Reiss, M. J.. 1989. The allometry of Growth and Reproduction. Cambridge Univ. Press. Nueva York.
- Rendel, J. M.. 1967. Canalization and gene control. Logos Press, London.
- Riska, J. M.. 1985. Group size factors and geographic variation of morphometric corrations. *Evolution* 39: 792-803.
- Riska, B., 1986. Some models for development, growth, and morphometric correlation. *Evolution* 40: 1301-1311.
- Riska, B., Prout, T. D. y Turelli, M.. 1989. Laboratory estimates of heredabilities and genetics correlations in nature. *Genetics* 123: 865-871.
- Rizki, M. T. M.. 1951. Morphological differences between two sibling species, *Drosophila pseudoobscura* and *Drosophila persimilis*. *Proc. Nat. Ac. Sci.* 37: 156-159.
- Robertson, A.. 1966. A mathematical model of the culling process in dairy cattle. *Anim. Prod.* 8: 93-108.
- Robertson, F. W.. 1987. Variation of body size within and between wild populations of *Drosophila buzzatii*. *Genetica* 72: 111-125.

- Roff, D. A.. 1977. Dispersal in dipterans: Its costs and consequences. *J. Anim. Ecol.* 46: 443-456.
- Roff, D. A.. 1995. The estimation of genetic correlations from phenotypic correlations: a test of Cheverud's conjecture. *Heredity* 74: 481-490.
- Roff, D. A. y Mousseau, T. A.. 1987. Quantitative genetics and fitness: lessons from *Drosophila*. *Heredity* 58: 103-118.
- Rohlf, F. J.. 1988. NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System (Version 1.40). Exeter Publishing Ltd. Nueva York.
- Rohlf, F. J. y Bookstein, F. L.. 1987. A comment on shearing as a method for "size correction." *Syst. Zool.* 36: 356-367.
- Rohlf, F. J. y Bookstein, F. L., (eds.). 1990. Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshop, 1988. University of Michigan Museum of Zoology Special Publication 2. Ann Arbor.
- Ruiz, A., Fontdevila, A., Santos, M., Sedane M. y Torroja, E.. 1986. The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. VIII. Evidence for endocyclic selection acting on the inversion polymorphism in a natural population. *Evolution* 40: 740-755.
- Ruiz, A., Fontdevila, A. y Wasserman. 1982. The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. III. Cytogenetic relationships between two sibling species of the buzzatii cluster. *Genetics* 101: 503-518.
- Ruiz, A., Santos, M. Barbadilla, A., Quezada-Díaz, J. E., Hasson, E. y Fontdevila, A.. 1991. Genetics variance for body size in a natural population of *Drosophila buzzatii*. *Genetics* 128: 739-750.
- Ruiz, A. y Wasserman, M.. 1993. Evolutionary cytogenetics of *Drosophila buzzatii* species complex. *Heredity* 70: 582-596.
- Santos, M., Ruiz, A., Barbadilla, A., Quezada-Díaz, J. E., Hasson E. y Fontdevila, A.. 1988. The evolutionary history of *Drosophila*

- buzzatii*. XLV. Larger flies mate more often in nature. *Heredity* 61: 255-262.
- Santos, M., Ruiz, A., Quezada-Diaz, J. E., Barbadilla A. y 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.
- Schluter, D.. 1984. Morphological and phylogenetic relations among the Darwin's finches. *Evolution* 38: 921-930.
- Schluter, D.. 1988. Estimating the form of natural selection on a quantitative trait. *Evolution* 42: 849-861.
- Schluter, D. y Nychka, D.. 1994. Exploring fitness surfaces. *Am. Nat.* 143: 597-616.
- Shaw, R. G.. 1991. The comparison of quantitative genetic parameters between populations. *Evolution* 45: 143-151.
- Shaw, R. G.. 1992. The comparison of quantitative genetic parameters: Reply to Cowley and Atchley. *Evolution* 46: 1967-1969.
- Simpson, G. G.. 1953. The major features of evolution. Columbia Univ. Press, Nueva York.
- Smith, H. F.. 1936. A discriminant function for plant selection. *Annals of Eugenics* 7: 240-250.
- Smouse, P. E., Long, J. C. y Sokal, R. R.. 1986. Multiple regression and correlation extensions of the Mantel test of matrix correspondence. *Syst. Zool.*: 35: 627-632.
- Sokal, R. R. y Rohlf, F. J.. 1981. *Biometry*. 2nd edition. W. H. Freeman, San Francisco.
- Spassky, B.. 1957. Morphological differences between sibling species of *Drosophila*. *Univ. Texas Publ.* 5721: 48-61.
- Spicer, G. S.. 1993. Morphological evolution of the *Drosophila virilis* species group as assessed by rate tests for natural selection on quantitative traits. *Evolution* 47: 1240-1254.

- Stalker, H. D.. 1980. Chromosome studies in wild populations of *Drosophila melanogaster*. II. Relationship of inversion frequencies to latitude, season, wing-loading and flight activity. *Genetics* 95: 211-223.
- Stalker, H. D. y Carson, H. L.. 1947. Morphological variation in natural populations of *Drosophila robusta* Sturtevan. *evolution* 1: 237-248.
- Starmer, W. T. y Gilbert, D. G.. 1982. A quik and reliable method for sterilizing eggs. *Drosoph. Inf. Serv.*, 58, 170.
- Starmer, W. T. y Fogleman, J. C.. 1986. Coadaptation of *Drosophila* and yeasts in their natural habitat. *J. Chem. Ecol.* 12: 1037-1055.
- Starmer, W. T., Peris, F., y Fontdevila, A.. 1988. The transmission of yeast by *Drosophila buzzatii* during courtship and mating. *Anim. Behav.* 36: 1691-1695.
- Starmer, W. T. y Wolf, L. L.. 1989. Causes of variation in wing loading among *Drosophila* species. *Biol. J. Linn. Soc.* 32: 247-261.
- STATGRAPHICS (1985). Analytical software. Borland International, Inc. & Fleming Software.
- STATISTICS (1988). Analytical software. Royal Albert House, Windsor. Berkshire SL4 1BE, Inglaterra.
- Stearns, S. C. y Kawecki, T. J.. 1994. Fitness sensitivity abd the canalization of life-history traits. *Evolution* 48: 1438-1450.
- Steele, R. H.. 1986a. Courtship feeding in *Drosophila subobscura*. 1. The nutritional significance of courtship feeding. *Anim. Behav.* 34: 1087-1098.
- Steele, R. H.. 1986b. Courtship feeding in *Drosophila subobscura*. 11. Courtship feeding by males influences female mate choice. *Anim. Behav.* 34: 1099-1108.

- Tantaway, A. O.. 1964. Studies on natural populations of *Drosophila*. Pp. 315-474 en Hecht, M. K. y Teere, W. C. (eds). *Essays in Evolution and Genetics in Honor to Theodosius Dobzhansky*. North-Holland, Amsterdam.
- Taylor, C. E. y Kekic, V.. 1988. Sexual selection in a natural population of *Drosophila melanogaster*. *Evolution* 42: 197-199.
- Templeton, A.. 1977. Analysis of head shape differences between two interfertile species of Hawaiian *Drosophila*. *Evolution* 42: 197-189.
- Thomas, R. H. y Barker, J. S. F.. 1993. Quantitative genetic analysis of the body size and shape of *Drosophila buzzatii*. *Theor. Appl. Genet.* 85: 598-608.
- Thompson, R.. 1977. Estimation of quantitative genetic parameters. Pp. 639-657 en Pollak, E., Kempthorne, O. y Bailey, T. B. (eds.). *Proc. Internat. Conf. on Quantitative Genet.* Iowa State Univ.. Press, Ames.
- Throckmorton, L. H.. 1975. The phylogeny, ecology and geography of *Drosophila*. Pp. 421-467 en King R. C. (ed.). *Handbook of Genetic*. Vol. 3. Plenum Publ. Corp., Nueva 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. y Starner, W. T. (eds.). Academic Press. Australia.
- Townsend, J. J.. 1954. Cryptic subspeciation in *Drosophila* belonging to the subgenus *Sophophora*. *Am. Nat.* 88: 339-351.
- Turelli, M.. 1988. Phenotypic evolution constant covariances, and the maintenance of additive variance. *Evolution* 42: 1342-1347.
- Turelli, M., Gillespie, J. H. y Lande, R.. 1988. Rate tests for selection on quantitative characters during macroevolution and microevolution. *Evolution* 42: 1085-1089.

- Val, F. C.. 1977. Genetic analysis of the morphological differences between two interfertile species of Hawaiian *Drosophila*. *Evolution* 31: 611-629.
- van Noordwijk, A. J.. 1984. Quantitative genetics in natural populations of birds illustrated with examples from the great tit, *Parus major*. Pp. 67-79 en Woehrmann, K. y Loeschcke, V. (eds.). *Population Biology and Evolution*. Springer-Verlag, Berlin & Heidelberg.
- van Tienderen, P. H. y de Jong, G.. 1994. A general model of the relation between phenotypic selection and genetic response. *J. Evol. Biol.* 7: 1-12.
- Vilela, C. R.. 1983. A revision of the *Drosophila repleta* species group (Diptera: Drosophilidae). *Revista Bras. Entomol.* 27: 1-114.
- Wabba, G.. 1990. Spline models for observational data. *Soc. Industrial & Appl. Mathematics*, Filadelfia.
- Wade, M. y Kalisz, S.. 1990. The causes of natural selection. *Evolution* 44: 1947-1955.
- Wagner, G. P.. 1986. The systems approach: An interface between development and population genetic aspects of evolution. Pp. 149-165 en Raup D. M. y Jablonski, D. (eds.). *Pattern and Processes in the History of life*. Springer-Verlag, Berlin.
- Wake, D. B., Roth, G. y Wake, M. m.. 1983. On the problem of stasis in organismal evolution. *J. Theor. Biol.* 101: 211-224.
- Warner, R. R. y Schultz, E. T.. 1992. Sexual selection and male characteristics in the bluehead wrasse, *Thalassoma bifasciatum*: mating site acquisition, mating site defense, and female choice. *Evolution* 46: 1421-1442.
- Wasserman, M.. 1962. Cytological studies of the repleta group of the genus *Drosophila*. V. The *mulleri* subgroup. *Univ. Texas Publ.* 6205: 85-117.

- Wright, S.. 1977. Evolution and the Genetics of populations. Vol. 3. Experimental Results and Evolutionary Deductions. Univ. Chicago Press, Chicago.
- Young, M. A. y Germeraad, S.. 1980. *Drosophila* development. Pp. 237-360 en Leighton T. y Loomis W. F. Jr. (eds.) The molecular genetics of development. Academic Press, Nueva York.
- Young, S. S. Y. y Weiler, H.. 1960. Selection for two correlated traits by independent culling levels. *J. Genet.* 57: 329-338.
- Zeng, Z-E.. 1988. Long-terms correlated response, interpopulational covariation, and interespecific allometry. *Evolution* 42: 363-374.
- Zuk, M., Thornhill, R., Ligon, J. D., Johnson, K., Austad, S., Ligon, S. H., Thornhill, N. W. y Costin, C.. 1990. The role of male ornaments and courtship behavior in female mate choice of red jungle fowl. *Am. Nat.* 136: 459-473.

- Wasserman, M.. 1982. Evolution of the repleta group. Pp. 61-139 en Ashburner, M. et al (eds.) The Genetics and Biology of *Drosophila*. Vol. 3b. Academic Press, Londres.
- Wasserman, M. y Koepfer, H. R.. 1977. Character displacement for sexual isolation between *Drosophila mojavensis* and *Drosophila arizonensis*. *Evolution* 31: 812-823.
- Wiernasz, D. C.. 1989. Female choice and sexual selection of male wing melanin pattern in *Pieris occidentalis* (Lepidoptera). *Evolution* 43: 1672-1682.
- Wilkinson, G. S., Fowler, K. y Partridge, L.. 1990. Resistance of genetic correlation structure to directional selection in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* 44: 1990-2003.
- Willis, J. H., Coyne, J. A. y Kirkpatrick, M.. 1991. Can one predict the evolution of quantitative characters without genetics? *Evolution* 45: 441-444.
- Windig, J. J.. 1994. Genetic correlations and reaction norms in wing pattern of the tropical butterfly *Bicyclus anynana*. *Heredity* 73: 459-470.
- Wright, S.. 1932. General, group, and special size factors. *Genetics* 17: 603-619.
- Wright, S.. 1951. The genetical structure of populations. *Ann. Eugen.* 15: 323-354.
- Wright, S.. 1960. The treatment of reciprocal interaction, with or without lag, in path analysis. *Biometrics* 16: 423-445.
- Wright, S.. 1968. *Evolution and the genetics of populations*. Vol.1. Genetic and biometric foundation. Univ. Chicago Press, Chicago.
- Wright, S.. 1969. *Evolution and Genetics of populations*. Vol. 2. Univ. Chicago Press, Chicago.