

## Tesis de Posgrado

# Por qué es adaptativo el polimorfismo cromosómico de *Drosophila buzzatii* (grupo repleta, Drosophilidae)

Rodríguez, Constantina

1998

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](http://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](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Rodríguez, Constantina. (1998). Por qué es adaptativo el polimorfismo cromosómico de *Drosophila buzzatii* (grupo repleta, Drosophilidae). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_3027\\_Rodriguez.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_3027_Rodriguez.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Rodríguez, Constantina. "Por qué es adaptativo el polimorfismo cromosómico de *Drosophila buzzatii* (grupo repleta, Drosophilidae)". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1998.

[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_3027\\_Rodriguez.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_3027_Rodriguez.pdf)

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**Grupo de Investigación en Biología Evolutiva (GIBE)**

---

Por qué es adaptativo el polimorfismo  
cromosómico de *Drosophila buzzatii*  
(grupo *repleta*, *Drosophilidae*)

Por

Constantina Rodríguez

Director

Prof. Dr. Esteban Hasson

Tesis presentada para optar al título de  
Licenciada de la Universidad de Buenos Aires  
Área Ciencias Exactas y Naturales

## ABSTRACT

The possible causes of the adaptive value of the inversion polymorphism of *Drosophila buzzatii* were analyzed. First, we addressed the analysis of the longevity component of selection at two levels: phenotypic and karyotypic in a natural population. Pairwise comparisons between adult samples of flies newly emerged from the natural breeding sites and bait collected adults showed that larger individuals have an extended adult lifetime. Similarly some arrangements showed frequency shifts that can be attributed to differential longevity. The average effects of inversions on thorax length as well as the intensity of phenotypic selection were different in both sexes. Moreover, the average effects of inversions on the studied trait and the longevity selection favouring larger flies can account for the differential longevity conferred by each arrangement. Likewise, the genetic differences between arrangements were assayed by the analysis of the linkage disequilibria between inversions and seven allozymic loci (Est-1, Est-2, Lap, Pep-1, Pep-2, Xdh and Aldox) in seven natural populations. Gametic associations were consistent across populations suggesting a recent origin or a recent bottleneck. The pattern of population structuration for inversions was different than the pattern showed by the allozyme loci. These patterns as well as the observed clinal variation along geographic and/or climatic gradients indicate that inversions and allozyme variation for Est-2 and Xdh are the result of adaptation to different environmental conditions. On the other hand, Aldox varied at random and Est-1 varied as the result of hitchhiking with inversions. Finally, Pep-2 exhibited a very conserved polymorphism possibly maintained by heterotic balance.

PALABRAS CLAVE: *Drosophila*– linkage disequilibria – population structuration – natural selection – random drift

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**Grupo de Investigación en Biología Evolutiva (GIBE)**

---

Why is adaptive the inversion polymorphism of  
*Drosophila buzzatii*  
(grupo *repleta*, *Drosophilidae*)

By

Constantina Rodríguez

Advisor

PhD Esteban Hasson

Thesis presented to obtain the  
PhD degree in Biology

**Universidad de Buenos Aires**

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

- 1998 -

## RESUMEN

En este trabajo, analizamos las posibles causas del valor adaptativo de las inversiones cromosómicas. Realizamos el análisis simultáneo de un componente de selección, la longevidad, a nivel cromosómico y morfométrico en una población natural de *Drosophila buzzatii*. La comparación de la distribución de tamaños y de frecuencias cromosómicas entre muestras de individuos recién emergidos con las de adultos de la población, muestra que los individuos más grandes, así como los individuos portadores de las inversiones que lo confieren, son más longevos. Los efectos de las inversiones sobre el tamaño, así como la intensidad de selección, son diferentes en ambos sexos, y en hembras el efecto medio de las inversiones sobre el tamaño y la mayor viabilidad de las moscas más grandes, explican la longevidad diferencial detectada entre ordenaciones. Para indagar acerca de las diferencias genéticas entre inversiones, se analizó el desequilibrio de ligamiento entre siete marcadores enzimáticos (Est-1, Est-2, Lap, Aldox, Pep-1, Pep-2 y Xdh) y las inversiones. En las siete poblaciones analizadas se detectaron desequilibrios gaméticos consistentes, que indican un origen (o cuello de botella) reciente de las inversiones. Los patrones de estructuración para las ordenaciones y las enzimas estudiadas son diferentes, y los análisis de regresión con variables ambientales, indican que las ordenaciones y los alelos de Est-2 y Xdh varían sus frecuencias en respuesta al ambiente. En cambio, Aldox lo hace por deriva y Est-1 muestra efecto de arrastre de las inversiones y estructuración aleatoria. Pep-2 presenta un polimorfismo muy conservado que sería adaptativo.

PALABRAS CLAVE: *Drosophila*– desequilibrio gamético – estructura poblacional – selección natural – deriva genética

---

*A mi padre...*

*Desearía que estuviese aquí*



# Agradecimientos

*Porque es de bien nacidos ser agradecidos...*

Agradezco al Dr. Esteban Hasson la paciencia que ha tenido en la tarea de dirección. Mi gratitud para con él por el respeto y la confianza que siempre mostró hacia mi persona. Respeto y confianza que supo traducir en espacio y libertad, ingredientes indispensables para el crecimiento.

Al Dr. Osvaldo A. Reig debo su caluroso recibimiento en su Grupo de Investigación en Biología Evolutiva, así como el apoyo y estímulo permanentes durante la primera etapa de este trabajo. Hoy su memoria sigue siendo en muchos sentidos un referente.

Mis agradecimientos:

A los compañeros *drasophilianos*:

Al Dr. Juan José Fanara, por su participación en campañas y trabajo de laboratorio, así como por todas aquellas acciones con las cuales me ayudó a desarrollar mi capacidad para enfrentar dificultades.

A la Lic. Estrella Levy con quien he compartido alegrías, entusiasmo, sinsabores y hasta algún susto con cara de desasosiego.

A Romina Piccinali, que supo sumarse a la partida, no sólo para aprender, sino para compartir el entusiasmo por el trabajo.

A Marcelo Cortese y a Paula Cohen, por la buena onda.

Al Lic. Pedro Fernandez Iriarte por sus oportunos comentarios sobre diversos aspectos del trabajo, y por las muestras de Berna y Tirol que gentilmente colectó.

A la Dra. Marta Mudry, actual directora del GIBE.

---

A mis compañeros del GIBE: Dra. Alicia Massarini, Dra. Rosa Liascovich, Lic. Valeria Sapkievich, Lic. Marina Ascunce, Lic. Umbra Colombo, Lic. María Gorostiaga, Lic. Adriana Hick y Lic. Aldo Giudice por sus comentarios y su compañerismo.

Al Dr. Antonio Fontdevila por el apoyo económico brindados y el esfuerzo puesto en la obtención de las muestras de Berna y Tirol, así como por facilitarme cepas control utilizadas en este trabajo.

Al Dr. J.S.F. Barker por proporcionarme las cepas control y de letales balanceadas utilizadas en este trabajo.

Al Dr. Mauro Santos por las sugerencias y comentarios en la etapa previa a este trabajo, por la orientación acerca de programas estadísticos en las primeras etapas y por la gentileza de proporcionarme el programa estadístico Fstbootstrap.

A las brujas (Dani, Pauli y Georgi), por su amistad, su apoyo desinteresado y por tantos y tan bonitos aquelarres...

A mi familia y mis afectos, que son el combustible imprescindible para todo lo que hago (y lo saben), aún cuando algunos de ellos quizás nunca lean esto. Pero muy especialmente a mi madre, por tanta ayuda y tanto ejemplo, a quien no puedo dedicar este trabajo porque es tan suyo como mío.

Este trabajo ha sido subvencionado por los proyectos EX 050/90 y EX 099/94 concedidos por la Universidad de Buenos Aires al Dr. Esteban Hasson.

---



**Por qué es adaptativo el polimorfismo  
crómico de *Drosophila buzzatii*  
(grupo *repleta*, *Drosophilidae*)**

---

**Constantina Rodríguez**

Lab. 96 • Depto Cs. Biológicas • FCEy N  
Cuarto Piso • Pab II • Ciudad Universitaria • 1428 Buenos Aires  
T.E: 782-0566 • Fax 782-0582 • E-mail: [titina@biolo.bg.fcen.uba.ar](mailto:titina@biolo.bg.fcen.uba.ar)

# Tabla de Contenidos

<b>Prefacio</b>	<b>15</b>	• <b>Las alozimas y las Inversiones</b>	<b>51</b>
<b>CAPÍTULO 1</b>		<b>1.6. Objetivos</b>	<b>52</b>
<b>1.1. Las Ideas evolutivas</b>	<b>17</b>	• <b>Efecto fenotípico de las Inversiones</b>	<b>52</b>
• <b>La consolidación de una teoría</b>	<b>18</b>	• <b>Contenido genético de las Inversiones</b>	<b>52</b>
• <b>Buscando en el pasado</b>	<b>18</b>	• <b>Polimorfismo y variables macrogeográficas</b>	<b>53</b>
• <b>La complejidad de las interacciones</b>	<b>20</b>		
<b>1.2. La Genética de Poblaciones</b>	<b>22</b>	<b>CAPÍTULO 2</b>	
• <b>Selección Natural</b>	<b>24</b>	<b>2.1. Resumen: En pocas palabras</b>	<b>55</b>
• <b>Deriva Genética</b>	<b>26</b>	<b>2.2. Introducción</b>	<b>57</b>
• <b>La Deriva puede ser un hito</b>	<b>27</b>	• <b>Los polimorfismos en particular</b>	<b>57</b>
• <b>El neutralismo también es posible</b>	<b>28</b>	• <b>¿Por qué son adaptativos?</b>	<b>58</b>
• <b>Las Interacciones</b>	<b>30</b>	• <b>Ser o no ser... más grandes</b>	<b>58</b>
<b>1.3. Sistemas Multiloci</b>	<b>30</b>	• <b>Por qué el tamaño es candidato</b>	<b>59</b>
• <b>Valor adaptativo de un haplotipo</b>	<b>33</b>	• <b>¿Qué podemos hacer?</b>	<b>59</b>
• <b>Topografías adaptativas</b>	<b>33</b>	<b>2.3. Metodología</b>	<b>60</b>
• <b>Diferenciación entre poblaciones</b>	<b>36</b>	• <b>Diseño experimental: cómo hacerlo</b>	<b>60</b>
<b>1.4. Inversiones Cromosómicas</b>	<b>39</b>	• <b>Muestras: siempre la mosca</b>	<b>61</b>
• <b>Polimorfismos cromosómicos</b>	<b>40</b>	• <b>Adultos recién emergidos</b>	<b>61</b>
• <b>El origen de las inversiones</b>	<b>41</b>	• <b>Adultos capturados</b>	<b>63</b>
• <b>Una inversión puede ser interesante</b>	<b>42</b>	• <b>El carácter estudiado: midiendo moscas</b>	<b>64</b>
• <b>¿Por qué no se perdieron?</b>	<b>44</b>	• <b>Carácter fenotípico e Inversiones: medidas y cariotipos</b>	<b>65</b>
• <b>Cómo se establecen</b>	<b>45</b>	• <b>Análisis del efecto de las inversiones sobre el tamaño: partiendo el Anova</b>	<b>66</b>
• <b>Las poblaciones naturales</b>	<b>46</b>	• <b>Efectos ambientales sobre la longitud del tórax</b>	<b>67</b>
<b>1.5. <i>Drosophila buzzatii</i></b>	<b>47</b>		
• <b><i>D. buzzatii</i></b>	<b>48</b>		
• <b>Si hablamos de cromosomas</b>	<b>49</b>		
• <b>Los efectos de las inversiones</b>	<b>50</b>		
• <b>Respecto de las alozimas</b>	<b>50</b>		

• Selección cariotípica: hay un antes y un después	68	• Muestras: Ahora perseguimos machos	108
<b>2.4. Resultados</b>	<b>70</b>	• El análisis de los sistemas genéticos	
• Tamaño corporal y cariotipo y son distintos nomás	70	Despanzurrando larvas...	109
• Tamaño corporal y longevidad: Los más viejos son más grandes	71	• Análisis estadístico: contando haplotipos	111
• Componentes ambientales de la varianza: El sustrato influye	78	Más de dos loci	112
• Cariotipo y longevidad	82	Hay un entre y un dentro	113
resultados coherentes	82	El desequilibrio normalizado	113
• Tamaño corporal y selección cariotípica	84	La similitud se puede cuantificar	114
Cómo pensar el problema	84	<b>34. Resultados</b>	<b>115</b>
<b>2.5. Discusión</b>	<b>90</b>	• Frecuencias génicas	115
Sobre tamaño	90	Polimorfismo cromosómico	115
¿Habrá moscas cada vez más grandes?	91	Polimorfismos enzimáticos	116
Los grandes tienen inversiones	93	Analizando tablititas	124
Siempre es igual: ellos y ellas	94	• Desequilibrio gamético de los marcadores con las ordenaciones	125
La 2JZ <sup>2</sup> en el ojo de la tormenta	95	• Distancias genéticas entre ordenaciones: ahora son OTUs...	129
Y podría ser por el tamaño, nomás	96	• Desequilibrio gamético entre loci enzimáticos:	135
		Desequilibrio total	135
		Coeficientes de desequilibrio	138
		• Desequilibrio intrapoblacional	140
		• Desequilibrio entre loci asociados a las inversiones	155
<b>CAPÍTULO 3</b>		• Xdh: Qué la une a las inversiones	156
<b>3.1. Resumen: En pocas palabras</b>	<b>99</b>	<b>3.5. Discusión</b>	<b>159</b>
<b>3.2. Introducción</b>	<b>101</b>	Sobre las frecuencias génicas	159
Desde el principio	101	Comparando arbolitos...	159
El mantenimiento	101	Muy lindo, pero de las causas...	161
Las diferencias siempre están	102	Qué pasa con Arroyo Escobar	163
Variabilidad aloenzimática	103	Dime qué ordenación eres...	164
Polimorfismos y adaptación	104	Tratando de mirar toda la inversión	165
Las gametas fuera de equilibrio	104	¿Por qué Xdh está ligada?	167
Lo que viene	105	Allende los mares	168
<b>3.3. Metodología</b>	<b>106</b>		
Las poblaciones	106		
• Diseño experimental: La estrategia	106		

## CAPÍTULO 4

4.1. Resumen: En pocas palabras	171
4.2. Introducción	173
4.3. Metodología	
El país que miramos	176
• Diseño experimental: La estrategia	180
• Muestra: La misma del capítulo 3	180
• Análisis estadístico: cuentitas...	181
Boostrapeando...	182
Regresiones múltiples	183
34. Resultados	184
• Análisis de la diferenciación	
Interpoblacional	184
Qué tan distintas son...	187
Los diferentes $F_a$	189
• Correlación entre variables	
genéticas y ambientales	190
El polimorfismo cromosómico y las	
variables geográficas	190
El polimorfismo cromosómico y las	
variables climáticas	191
Los loci enzimáticos y las variables	
geográficas	192
Los loci enzimáticos y las variables	
climáticas	193
Los loci asociados a las inversiones	200
Las variaciones ciliales de las	
frecuencias condicionales	201
4.5. Discusión	211
Las diferentes diferencias	211
Las diferentes enzimas	212
La cuestión es: ¿Quién es qué?	213
Las diferentes inversiones	216

## CAPÍTULO 5

5.1. Resumiendo nuestros resultados	219
Del capítulo 2	219
Del capítulo 3	220
Del capítulo 4	222
5.2. Relacionando algunos resultados	223
Tamaños corporales	223
Juventud, divino tesoro	224
Jóvenes pero pleiotrópicas	225

## APÉNDICE 3 A

Técnicas electroforéticas	227
A.1. Dispositivos de la corrida	227
A.2. Metodología	229
• Preparación de los geles	229
• Preparación de la muestra	229
• La siembra y la corrida	230
A.3. Geles, tampones y soluciones	230
• Geles y tampones de corrida	231
• Soluciones de tinción	232
A.2. Sistemas enzimáticos	234
• Peptidasas	234
• Xantina deshidrogenasas	235
• Leucina-aminopeptidasas	236
• Aldehído oxidasa	237
• Esterasas	238

## APÉNDICE 3 B

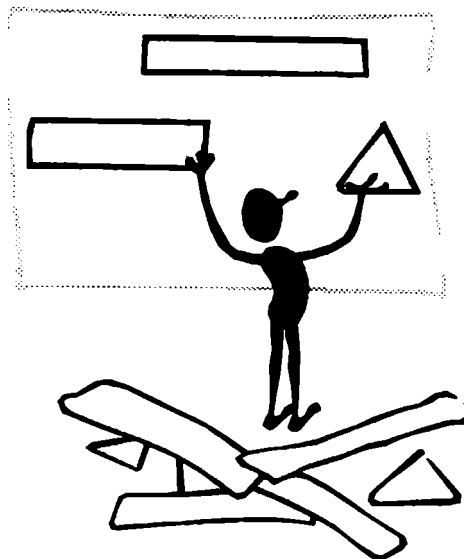
Coefficientes de desequilibrio gamético	
entre distintos loci enzimáticos	239
B.1. Desequilibrio en el global	
B.2. Desequilibrio en cada población	246
B.3. Componentes de varianza	265
0000	
BIBLIOGRAFÍA	267

# Prefacio

*A modo de presentación ...*

A menudo nos resulta difícil presentar con simpleza y de forma amena el trabajo que nos ha llevado cierto tiempo y muchas elucubraciones. En tal sentido, el orden y la forma que se sigue en la presentación suele ser más importante de lo que a veces nos parece. Con esta idea en mente, y con la convicción de que siempre existe un modo de hacer las cosas más amenas, he tratado de dar a esta presentación una forma que facilite la lectura, para lo cual recurrí a una estructuración en capítulos.

En el primer capítulo, a modo de introducción, se repasan algunos conceptos e ideas generales a fin de poner al lector en tema, y se especifican los objetivos del trabajo. Dado que en el objetivo central del trabajo se plantea el problema desde tres puntos de vista, se dedican los siguientes tres capítulos a cada uno de estos enfoques. Por último, en el capítulo 5 se presentan las conclusiones.





## Breve reseña acerca del marco teórico

*Nuestros paradigmas son los planos a partir de los cuales intentamos comprender el lugar donde nos encontramos. Todo lo que pensamos y hacemos está inserto en un contexto histórico y un sistema de creencias socialmente aceptadas*

### 1.1. Las ideas evolutivas

Probablemente la diversidad de formas que observó en su viaje por el Beagle, fue lo que hizo que Darwin concibiera la idea de que las especies podían cambiar. Las ideas de descendencia con modificación y adaptación al ambiente son previas, pero es en su obra *On the origin of species* (1859), donde estos conceptos se relacionan con la intención de explicar tanto la diversidad como la relación de la forma con el aprovechamiento del ambiente. Así se origina la teoría acerca del cambio de las especies y sus causas. Para explicar el cambio, Darwin se centró en la adaptación; tuvo que hacerlo ya que no contaba con una teoría de la herencia adecuada, y esta carencia hizo que durante mucho tiempo sus interpretaciones fueran más una especulación producto de la intuición que una teoría. Sin embargo, no cabe duda que la historia de la biología evolutiva comenzó en 1859.

---

Recién hacia fines del siglo XIX la teoría evolutiva alcanzó su apogeo, y sólo a partir de la recuperación de la genética mendeliana y el planteo de la teoría cromosómica de la herencia, la idea de selección natural se consolidó como mecanismo de adaptación que explicaría el cambio de las especies. Sin embargo, desde el principio este concepto fue medular en la teoría evolutiva y generó grandes controversias. Para mediados del siglo XX, ya no había dudas de que el mundo era el producto de miles de millones de años de historia evolutiva. Sin embargo, como lo puntualizó Dobzhansky (1970), las causas de la evolución y los procesos que la originan distaban mucho de ser comprendidos. Y aún recientemente, a más de 100 años de la publicación de la obra de Darwin, Endler en su libro "Natural selection in the wild" (1986), plantea la necesidad de "...to describe natural selection clearly, show that it is neither a tautology nor a metaphysical exercise, and place it in perspective." ("...describir claramente la selección natural, mostrar que no es una tautología ni un ejercicio metafísico, y ponerla en perspectiva."). En esta obra se da por primera vez una definición rigurosa de selección natural, y se presenta una revisión de las publicaciones en las cuales se registran evidencias de su existencia. Esta revisión muestra que aún cuando muchas veces se ha recurrido a especulaciones seleccionistas, en el terreno de la demostración de tales explicaciones la casuística no es tan numerosa.

### **Buscando en el pasado, para comprender el presente**

Podría pensarse que reconstruir la historia siempre resultará en parte especulativo, y esto puede parecer reñido con el rigor científico. Sin embargo, renunciar a esa tarea implicaría renunciar a explicar una de las características más notables del mundo viviente: la diversidad. Esto estaría aún más reñido con el espíritu de la ciencia, porque en definitiva,

la vida como la conocemos es producto del proceso evolutivo y por lo tanto (como dijera Dobzhansky en 1973), “*en biología nada tiene sentido si no se considera bajo el prisma de la evolución*”. Por otra parte, cuando se habla de la diversidad, en general, se piensa en la manifestación más evidente, como lo son las características que diferencian especies o taxas superiores. Sin embargo, la diversidad también existe a nivel intraespecífico e intrapoblacional. Explicar esta variabilidad, sin embargo, restringe la problemática al ámbito microevolutivo, es decir al de las poblaciones. Esto posiblemente no permita explicar lo que ocurre a nivel macroevolutivo (Eldredge y Gould, 1972), pero si podemos comprender la microevolución, ya habremos dado un paso importante.

Explicar la variabilidad intraespecífica e interpretar su significado, sigue siendo uno de los grandes desafíos. Particularmente los casos de polimorfismos, por tratarse de la coexistencia en la misma población de las distintas variantes, resultan no solo de interés en sí mismos, sino de utilidad para intentar comprender el proceso microevolutivo. Así, la amplia evidencia de polimorfismos proteicos encontrados en la naturaleza, no tardó en ser objeto de interpretaciones evolutivas. Kimura (1968), así como King y Jukes (1969) sugirieron que la mayor parte de la variabilidad observada a nivel proteico es neutra (todas las variantes son selectivamente equivalentes) y que la mayor parte de los cambios evolutivos a nivel molecular son dirigidos por el azar, más que por la selección natural. Esto instaló una severa discusión entre los biólogos evolutivos, dando origen a la llamada controversia seleccionistas-neutralistas. La teoría neutralista no sugiere que la deriva explique todos los cambios evolutivos. La selección natural es aún necesaria para explicar la adaptación. Sin embargo, es posible que las adaptaciones que



observamos en los organismos requieran solamente una pequeña parte de todos los cambios que han tenido lugar en el ADN, y la mayor parte de la evolución a nivel molecular sea no adaptativa.

Como ocurre siempre que se plantea una controversia de este tipo, tanto entre los seleccionistas como entre los neutralistas hubo quienes adoptaron posturas extremas y generalizadas; pero como suele también ocurrir, los extremos no son los que prevalecieron. Actualmente se acepta que en la medida en que la contribución diferencial de un carácter a la adaptación total sea pequeña, las frecuencias cambiarán más debido a accidentes de muestreo a través de las generaciones que a selección natural. Esto no resuelve qué caracteres están comprendidos en cada caso, aunque en general sería de esperar que la evolución de los caracteres morfológicos, comportamentales y ecológicos esté más condicionada por la selección natural, mientras que la evolución de la mayoría de las proteínas lo esté por el azar.

---

LA  
COMPLEJIDAD  
DE LAS  
INTERACCIO-  
NES

---

Sin embargo, los individuos no son entes aislados, y los caracteres mucho menos, por lo cual enfoques parciales o desacoplados, que pueden resultar muy apropiados para entender ciertos aspectos de la evolución, no deben hacer perder de vista que la adaptación de un organismo a su ambiente ha de ser el resultado no sólo de muchos caracteres interactuantes, sino de distintos niveles de interacción. Desde este punto de vista, resulta ineludible considerar que los organismos son sistemas genéticos, que interactúan entre sí en un sistema de orden superior que es la población. Por lo tanto, cualquiera sea el resultado de un proceso evolutivo, será el producto de las interacciones (entre loci, entre organismos y con el ambiente). Sólo considerar las interacciones

entre loci ya resulta en modelos más complejos, y esto puede constituir una limitación operacional. Sin embargo avanzar en el terreno de la complejidad es incluíble, ya que la realidad biológica es compleja. Los primeros en entender dicha necesidad, posiblemente hayan sido Fisher (1930) y Wright (1932), quienes trataron la interacción génica y el ligamiento dentro de sistemas multiloci en sus planteos teóricos.

Cuando se aborda el estudio de sistemas multiloci, es preciso definir los genotipos para los distintos loci, y los procesos modificarán las frecuencias de haplotipos o gametas. Así, por ejemplo, los distintos haplotipos presentes en una población podrían funcionar como unidades cuyo valor adaptativo es el resultado de la manera particular en que interactúan los genes. Dobzhansky pensó que este tipo de interacciones estarían operando entre los loci ubicados dentro de las inversiones cromosómicas de *Drosophila*, y lo llamó coadaptación. Coadaptación implica la existencia de interacciones entre distintos genes respecto del valor adaptativo. Cuando un alelo es favorecido por selección si está en el mismo individuo que un alelo particular de otro locus, pero es seleccionado en contra cuando se combina con otros alelos de este segundo locus, ambos loci están coadaptados.

Seguramente quien más lejos llegó con el enfoque de sistemas multilocus fue Sewall Wright, con su teoría del "Shifting-balance" (equilibrios cambiantes o paisajes adaptativos), en la cual considera las interacciones entre loci pero en el marco de una población donde los individuos viven en interacción entre sí y con el ambiente y, al plantear un modelo genético-poblacional, integra los conceptos de loci múltiples e interacciones epistáticas con cambios ambientales, selección, deriva, mutación y migración.

## 1.2. La Genética de Poblaciones

*La vida de un individuo transcurre en el contexto de una población, que es la unidad sistémica donde los organismos interactúan.*

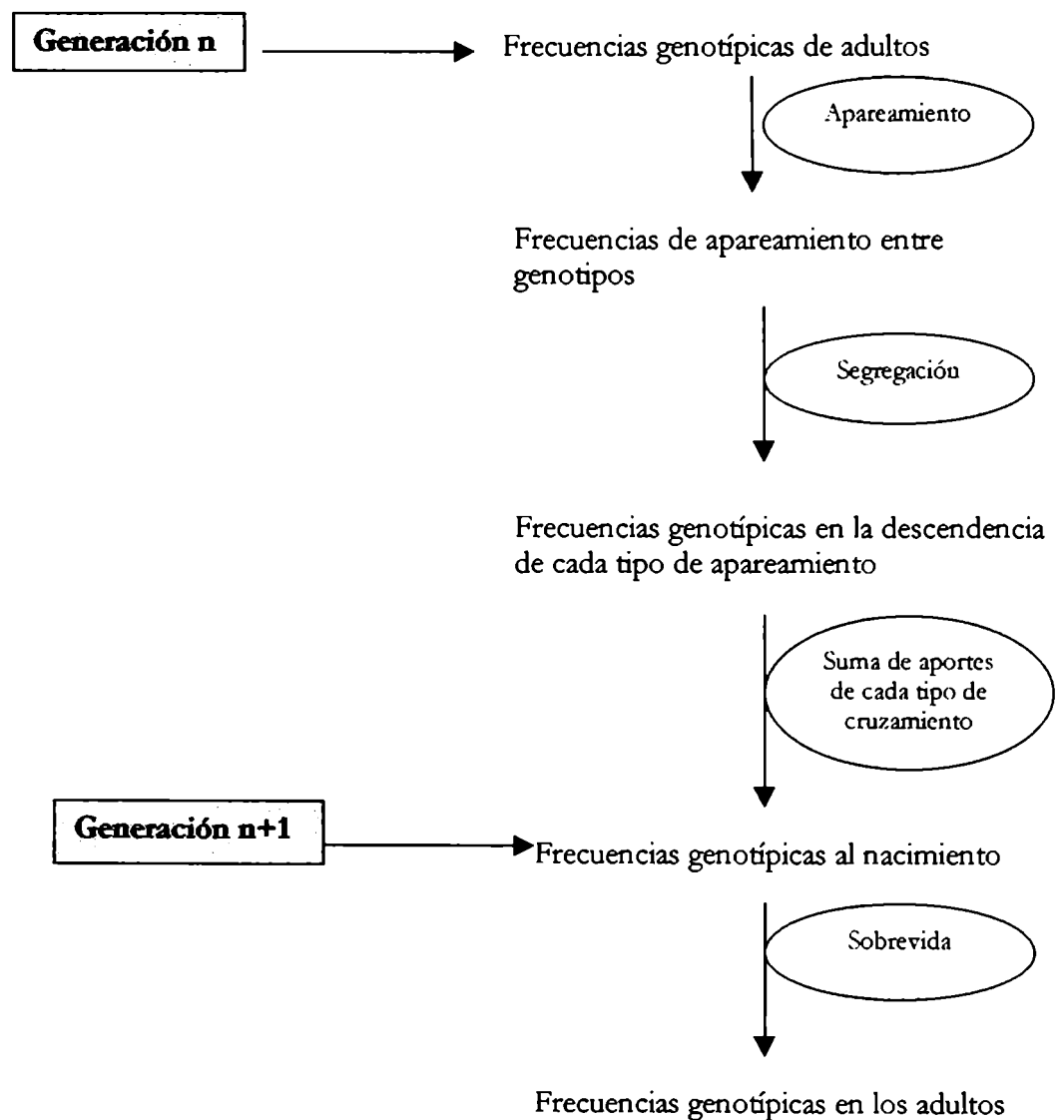
Una población natural puede definirse como el conjunto de individuos de una especie que coinciden en tiempo y espacio de modo de interactuar entre sí y constituir una unidad reproductiva.

El mantenimiento a lo largo del tiempo de una población, que ésta perdure por generaciones, depende de la reproducción. Es claro que la unidad reproductiva constituye la unidad evolutiva, ya que sus miembros compartirán un mismo destino evolutivo. Por esto, un aspecto básico a considerar en una población es el patrón de apareamiento, esto es la probabilidad que un individuo tiene de aparearse con otro de determinadas características. Cabe señalar que esto no se refiere a la probabilidad global de aparearse que puede tener un individuo. Lo que determina el patrón de apareamiento de una población es, dado que un individuo tiene determinada probabilidad de aparearse, con qué tipo de individuo del otro sexo lo hace. Si la probabilidad de que dos individuos se apareen depende de las probabilidades globales de cada uno de ellos, no hay preferencias, y por lo tanto el patrón de apareamiento será aleatorio y la población es panmíctica.

Cuando la población es panmíctica, puede ser pensada como un conjunto de gametas que se combinan al azar; en cada generación las variantes recombinan aleatoriamente dando gametas que a su vez se combinan entre sí, constituyendo un reservorio génico compartido. Por lo tanto, las poblaciones panmícticas pueden definirse como mezclas

homogéneas de individuos que se aparean aleatoriamente con iguales frecuencias alélicas en todas partes.

Las variantes alélicas presentes en una población pasan de una generación a la siguiente recombinándose en cada generación a través del sistema recombinacional (recombinación meiótica y combinación de gametas). El modelo general de la dinámica de los genes en una población podría representarse mediante un esquema:



En este modelo no se consideran procesos de mutación, migración, deriva ni selección, ni tampoco que existan diferencias entre sexos. En estas condiciones, y de acuerdo al principio de Hardy-Weinberg las frecuencias alélicas se mantienen constantes. Si los individuos se aparean al azar, y a partir de las leyes de Mendel no es difícil comprobar que las frecuencias genotípicas corresponden al desarrollo de  $(\sum p_i)^2$ , siendo  $p_i$  la frecuencia del alelo  $i$  ( $i$  varía desde 1 hasta  $n$ = número de alelos del locus en cuestión),  $p_i^2$  la frecuencia del homocigota  $ii$ , y  $2p_i p_j$  la frecuencia del heterocigota  $ij$ .

### **Todo cambia, y las frecuencias también**

A partir de este modelo, puede considerarse el efecto de los demás procesos. La mutación generará variabilidad, la migración tenderá a igualar las frecuencias de la población receptora con la de los migrantes y en ambos casos el efecto dependerá de la tasa con la cual el proceso esté teniendo lugar.

---

**SELECCIÓN  
NATURAL**

---

La selección natural es central para explicar la adaptación. Es un proceso que resulta de diferencias biológicas entre individuos y, aunque no necesariamente, puede resultar en cambios genéticos acumulativos. Este proceso se desencadena cuando estas diferencias biológicas entre los individuos son heredables y se correlacionan con su capacidad para aparearse, con su fertilidad, o su viabilidad. Cuando esto ocurre, el carácter que diferencia a los individuos cambia su distribución de frecuencias a lo largo del ciclo de vida, y si la población no está en equilibrio (equilibrio selectivo), también cambiará a lo largo de las generaciones. Aquellas variantes que aumentan la capacidad de aparearse, la fertilidad, o la viabilidad aumentarán en frecuencia, a

expensas de las otras, de un estadio del ciclo de vida al siguiente y, si la población no está en equilibrio, de una generación a la siguiente. Por lo tanto, la selección natural no puede explicar el origen de nuevas variantes, pero puede explicar tanto las variaciones como la constancia en las frecuencias alélicas a lo largo del tiempo o en el espacio.

El valor adaptativo de un genotipo, alelo o variante genética, es la probabilidad relativa de mantenimiento a lo largo de las generaciones. Cada variante genética tendrá una probabilidad de mantenimiento que dependerá del efecto que la variante tenga sobre la capacidad de aparearse, la fertilidad o la viabilidad del individuo. Si las probabilidades son diferentes, es decir si existen diferencias biológicas entre los individuos portadores de diferentes variantes, las diferencias de fitness determinarán la magnitud del cambio en las frecuencias alélicas entre generaciones. Sin embargo, esto es sólo una cuantificación del proceso, que nada dice acerca de las diferencias subyacentes que lo causan.

Según Endler (1986), se han empleado distintos métodos de detección de selección natural, que van desde analizar correlaciones con factores ambientales, o comparación entre especies, hasta análisis de ajuste a hipótesis nulas o a predicciones. Sin embargo, muchos de estos métodos parten del supuesto de que existe un proceso selectivo; sólo los estudios de perturbación y de comparación entre clases de edades ponen a prueba la existencia del proceso. De tal modo que no son tantos los casos en que se fue más allá de las evidencias y se pudo demostrar efectivamente la existencia del proceso. Pero aún en aquellos casos en los cuales se ha demostrado la existencia del proceso, es poco lo que se ha podido decir acerca de la causa y los mecanismos por los cuales ocurre. Dado que la capacidad para sobrevivir, aparearse y producir descendencia ha de ser

una función de muchos de los caracteres de un organismo, otra cuestión relevante lo constituyen las relaciones existentes entre distintos caracteres y el valor adaptativo. Sin embargo, en general sólo se analizan uno o dos caracteres, y la mayoría de las veces se estudia más el cómo que el por qué tiene lugar el proceso selectivo.

---

DERIVA  
GENÉTICA

---

Por otra parte, si bien es de esperar que sean muchos los caracteres involucrados en la adaptación, también es de esperar que existan diferencias entre los individuos que no la afecten. Estas diferencias, aunque sean heredables, no sufrirán un proceso selectivo que pueda variar sus frecuencias. Sin embargo, en todas las especies, cada individuo produce muchas más gametas que las que fertilizarán o serán fertilizadas para formar nuevos organismos. Las gametas exitosas que dan origen a descendencia son, por lo tanto, una muestra de las gametas que los padres producen. Y si todas las gametas tienen la misma probabilidad de ser exitosas (no hay diferencias de fitness), dicha muestra será una muestra aleatoria del "pool" de gametas. Del mismo modo, en cualquier estadio en el cual todos los individuos tengan la misma probabilidad de sobrevivir pero sólo unos pocos respecto del total lo hagan, tendrá lugar un muestreo al azar de genes. Cuando los distintos genotipos tienen en promedio la misma probabilidad de dejar descendencia (neutralidad selectiva), puede haber variación de las frecuencias alélicas entre generaciones debido a variaciones aleatorias en los muestreos de genes. Este cambio al azar de las frecuencias alélicas entre generaciones es llamado deriva genética. Los efectos de la deriva genética serán más importantes cuanto más pequeñas sean las poblaciones. Cuanto más pequeñas sean las muestras a partir de las cuales se origina la siguiente

generación, tanto mayor será el error en el muestreo, y es más probable que una muestra más pequeña se desvíe de las frecuencias parentales.

---

LA DERIVA  
PUEDE SER  
UN HITO  
HISTÓRICO

---

Un ejemplo particular es el llamado efecto fundador (Mayr, 1963). Si se establece una nueva población a partir de unos pocos fundadores (el caso extremo sería una sola pareja), éstos llevarán sólo una pequeña fracción de la variación genética total de la población parental. Nótese, que lo que puede considerarse “unos pocos fundadores” dependerá del nivel de variabilidad genética existente en la población original, ya que cuanto mayor sea la variación existente, mayor será el número de fundadores necesarios para ser representativos.

Una población puede ser descendiente de un pequeño número de individuos ancestrales en dos situaciones. Una es cuando unos pocos individuos colonizan un ambiente nuevo para su especie, otra tiene lugar cuando una población que está establecida en un área sufre fluctuaciones de tamaño. En este último caso se dice que la población pasó por un cuello de botella, en el cual solamente sobrevivieron unos pocos individuos que más tarde, en una etapa de expansión poblacional, dan origen a la población total.

Siempre que se toma una muestra de individuos de una población más grande, existe una probabilidad de que algún alelo se pierda, sin embargo aún cuando la muestra de individuos que forman la población fundadora suele tener casi todos los alelos de la población ancestral, las frecuencias alélicas pueden ser muy diferentes.

En una población finita (de tamaño relativamente pequeño), en cada generación la frecuencia de un alelo puede incrementar, descender o permanecer sin cambio por deriva genética. Que en dos generaciones



sucesivas ocurran cambios en las frecuencias en el mismo sentido, es poco probable; la deriva genética no tiene direccionalidad. Sin embargo, si alelos neutros, en suficientes loci y por suficientes generaciones, están variando sus frecuencias al azar, alguno de ellos alcanzará eventualmente la fijación. En este sentido, mientras existe variación las frecuencias seguirán variando en forma errática, pero cada vez que se fije un alelo, ese locus ya no tiene más posibilidad de variar sus frecuencias; por lo tanto cuanto más generaciones transcurran bajo la acción de la deriva, mayor será el número de loci que hayan alcanzado la fijación.

---

EL  
NEUTRALISMO  
TAMBIÉN ES  
POSIBLE ...

---

De lo anterior se desprende que un alelo puede ser sustituido por deriva. Puede, entonces, definirse la tasa de evolución neutra como la tasa con la cual las variantes alélicas son sustituidas por efecto de la deriva. La tasa de evolución neutra será igual a la probabilidad de fijación de una mutación neutra por su tasa de aparición  $((1/2N) \times 2N\mu)$ , de donde resulta que la tasa de evolución neutra será igual a la tasa de mutación neutra  $\mu$ .

Cuando un alelo es fijado en un locus, la población permanece homocigota para ese locus. En el largo plazo, la deriva causa un aumento del grado de homocigocis en la población. Sin embargo, por mutación surgirá nueva variabilidad, y se llegará a un equilibrio entre la creación de variabilidad por la mutación y la pérdida por deriva. En el equilibrio, coexistirán distintas variantes alélicas y la variabilidad genética de la población será mayor cuanto mayores sean  $N$  y  $\mu$ , pudiendo llegar a altos niveles de polimorfismos.

Estas consideraciones, permiten plantear que si tanto la sustitución alélica como el mantenimiento de la variabilidad puede ser explicado por procesos de deriva, el cambio evolutivo puede estar dirigido por deriva

más que por selección. Tal es el planteo de la teoría neutralista. Esta teoría asume que a nivel proteico existen muchas formas equivalentes, y propone que durante la evolución ocurrieron cambios en las secuencias de las proteínas, de modo que unas formas dieron origen a otras, y estos cambios han sido causados por deriva. La teoría neutralista se aplica a los cambios que ocurrieron entre formas selectivamente equivalentes.

La diferencia esencial entre neutralistas y seleccionistas concierne a la distribución de frecuencias de mutaciones, según sean sus coeficientes de selección. Según los seleccionistas, la mayor parte de las mutaciones son deletéreas, las mutaciones neutras son raras y hay suficientes mutaciones ventajosas para explicar la evolución adaptativa. Según los neutralistas, las mutaciones son casi siempre desventajosas o neutras. Los seleccionistas se valen de la selección natural para explicar tanto la pérdida de mutaciones deletéreas como la fijación de mutaciones ventajosas. Los neutralistas explican la pérdida de variantes desventajosas por selección natural y la fijación por deriva; reconocen que la mayoría de las mutaciones son deletéreas y que el proceso de selección natural tiene lugar a nivel molecular, pero sugieren que hay muchas formas de una molécula selectivamente equivalentes, y que la evolución consiste en la deriva al azar entre ellas. Por lo tanto bajo la óptica de la teoría neutralista, el polimorfismo no es más que la coexistencia en una población de estas formas selectivamente equivalentes, que estarán variando aleatoriamente por deriva hasta que una de ellas alcance la fijación. Los polimorfismos son, por lo tanto hechos transitorios. Para los seleccionistas, en cambio, un polimorfismo puede ser mantenido por selección natural, por ejemplo cuando los heterocigotas presentan algún tipo de ventaja adaptativa (heterosis

marginal), de modo que la selección natural resulta en el mantenimiento del mayor grado de variabilidad posible, llegando a equilibrios en los cuales coexisten distintas variantes moleculares.

---

¿ Y LAS  
INTERAC-  
CIONES ?

---

Sin embargo, cualquiera sea la interpretación que se haga de la variabilidad existente en las poblaciones, cuando se analiza la variación de frecuencias alélicas no se puede ignorar que el sistema genético que se analiza está en un contexto interactivo. Cuando existen interacciones génicas o relaciones de ligamiento que deben ser consideradas, los loci no pueden ser definidos en forma aislada, es preciso pensarlos como parte de sistemas multi-loci.

### 1.3. Sistemas multiloci

*Muchos loci y pocas piezas...*

Los sistemas multiloci, consideran dos o más loci simultáneamente, y las interacciones génicas entre ellos (Hedrick et al., 1978). Un concepto íntimamente relacionado a estos sistemas y sus interacciones es el de supergen. Darlington y Mather (1949) plantearon que en ocasiones, combinaciones alelomórficas particulares de ciertos genes podrían actuar como una unidad mecánica, y utilizaron el concepto de supergen para referirse a estos sistemas multiloci. Sin embargo, las interacciones entre los genes pueden ser no sólo mecánicas sino también funcionales. Así Mayr (1963), consideró que la integración del genotipo no está basada tanto en la arquitectura cromosómica como en la arquitectura genética, donde mucha de la integración ocurre a distintos

niveles. Mayr utiliza el término supergen para referirse a un grupo de genes funcionalmente similares.

Si las interacciones entre los loci son de interés, no es tan sólo por las consecuencias a nivel del funcionamiento individual que pueden tener. Aquellos loci que constituyan un supergen, ya sea que estén relacionados mecánica o funcionalmente, se coordinan y asocian de modo tal que su grado de adaptación no es independiente. Cuando esta coordinación o asociación resulta en un mayor grado de adaptación, se dice que los loci del supergen están coadaptados.

Cuando existen interacciones entre distintos loci, éstos forman un sistema y las frecuencias alélicas en forma aislada no alcanzan para describirlos, es preciso referirse a los haplotipos o gametas. La población estará en equilibrio gamético para una sistema multiloci cuando la asociación entre los loci sea aleatoria, y por lo tanto las frecuencias de los distintos tipos de gametas ajusten a lo esperado por segregación independiente de los loci considerados.

Dado que el ligamiento entre los loci impide la segregación independiente, a la asociación no aleatoria o desequilibrio gamético se lo llama también desequilibrio de ligamiento.

El desequilibrio de ligamiento reconoce cinco posibles causas (Hedrick, et al. 1978):

1. La selección natural cuando favorece individuos con combinaciones particulares de alelos.
2. No ha transcurrido el número de generaciones de recombinación necesarias para alcanzar el equilibrio.
3. Procesos aleatorios (deriva) alteran la frecuencia de gametas, pudiendo causar exceso de un haplotipo en una generación. Si hay

recombinación el efecto de la deriva es menor, ya que por recombinación se regeneran los haplotipos que se pierden por deriva, y el balance entre la creación aleatoria de desequilibrio y su destrucción por recombinación en poblaciones suficientemente pequeñas puede ser tal que el desequilibrio de ligamiento persista. Una reducción reciente en el tamaño poblacional puede también causar la persistencia del desequilibrio (causas 3 y 2)

4. El apareamiento no al azar, ya que si individuos portadores de un alelo en un locus (digamos  $A_1$ ) tienden a aparearse preferentemente con individuos portadores de un determinado alelo en otro locus (por ejemplo  $B_1$ ), habrá exceso de ciertos haplotipos (en este caso  $A_1 B_1$ ).
5. La selección en un locus puede generar desequilibrio gamético entre el locus blanco de la selección y otros estrechamente ligados por arrastre ("hitchhicking"). Esto también se denomina sobredominancia asociativa.

Para analizar el efecto de la selección natural sobre las frecuencias de haplotipos es preciso definir el valor adaptativo de cada haplotipo. En este sentido la relación entre el fitness de un individuo para todos los genotipos y el valor adaptativo de cada genotipo dependerá del tipo de interacción que exista entre los loci que forman el sistema.

Así se definen tres tipos de relaciones:

**Valor adaptativo aditivo:** Cuando cada locus contribuye en forma independiente a la constitución del sistema, el valor adaptativo resulta de la suma de los valores adaptativos de los alelos presentes en

cada locus. (Ej.: capacidad de digerir distintos tipos de alimentos, dos locus que afectan fecundidad temprana y tardía, etc.

**Valor adaptativo multiplicativo:** El valor adaptativo es el producto de los valores individuales (Ej.: loci que afectan la supervivencia en distintos estadios del ciclo de vida)

**Interacción epistática:** El efecto de un genotipo sobre el valor adaptativo depende del genotipo en el otro locus con el cual está asociado (es más plausible para loci que controlan partes interdependientes de un organismo) (Ej.: enzimas que catalizan reacciones sucesivas en una vía metabólica).

---

VALOR  
ADAPTATIVO  
DE UN  
HAPLOTIPO

---

Para un sistema multi-loci, el valor adaptativo de un haplotipo es la probabilidad relativa de éste de perdurar en la población, y su relación con los valores adaptativos de los alelos de cada locus dependerá del tipo de interacción que exista entre ellos. Así, por ejemplo el valor adaptativo de un sistema de dos locus podrá ser la suma, multiplicación o una función más compleja de los valores individuales, según que la interacción de estos loci sea aditiva, multiplicativa o epistática.

En un plano teórico, el valor adaptativo de cada haplotipo multi-loci podría ser definido como una función más o menos compleja de los valores de cada locus que lo definen.

### **Topografías adaptativas**

Sewall Wright (1977) imaginó a las poblaciones situadas en un relieve adaptativo, donde la altura del paisaje está determinada por el valor

adaptativo promedio de la población y el movimiento consiste en la variación de frecuencias alélicas de múltiples loci.

Para un locus selectivamente importante en una población, donde cada genotipo tendrá cierto valor adaptativo ( $w$ ), se puede calcular la media poblacional ( $W$ ) como la suma de los valores adaptativos de cada genotipo ponderados en cada caso por la frecuencia de cada genotipo. Por lo tanto, el valor de  $W$  dependerá de las frecuencias genotípicas, y éstas están determinadas por las frecuencias alélicas (y el patrón de apareamiento). Por lo tanto no es difícil ver que  $W$  es función de las frecuencias alélicas de una población.

Si se consideran dos loci que afecten al valor adaptativo, las posibles frecuencias alélicas en una población definirían un plano en el cual cada coordenada de un punto será la frecuencia de un locus. El  $W$  de la población será función de las frecuencias alélicas de ambos loci, y por lo tanto estará definido en todo el plano. Si se representa  $W$  en un tercer eje perpendicular a dicho plano, se obtendrá una superficie en el espacio, un relieve con picos y valles, donde cada punto del plano es una combinación de frecuencias alélicas a la cual le corresponderá una altura en el relieve adaptativo.

Dado que la selección natural favorece a los genotipos con mayor valor adaptativo, debido a este proceso aumentarán las frecuencias de estos genotipos, lo cual elevará el valor de  $W$ . Vale decir que bajo un proceso de selección la población siempre tenderá a mantenerse en un pico adaptativo. Sin embargo, el paisaje adaptativo puede ser complejo, ya que dependerá de la relación que exista entre el  $W$  de la población y las frecuencias alélicas de los loci considerados. Puede haber más de un pico separado por valles, y en este caso una población no podría pasar

del pico en que está a otro, aún cuando éste sea de mayor altura, sin atravesar un valle. Es decir que una población no podrá salir de un equilibrio selectivo sin disminuir su  $W$ , lo cual no ocurrirá mientras la selección tenga oportunidad de operar. Aún cuando el pico selectivo en el que una población se encuentra no sea el máximo del relieve, la población quedará atrapada en él mientras la selección opere. Cada pico del paisaje adaptativo funciona como un polo de atracción local, del cual no se puede escapar, salvo que abruptamente “algo” perturbe a la población y la arroje fuera de esta zona de atracción, es decir a la zona de atracción de otro pico. La manera que tendría una población de escapar de una zona de atracción es por eventos aleatorios que modifiquen abruptamente sus frecuencias, de modo de aparecer instantáneamente (de una generación a la siguiente) en la zona de atracción de otro pico.

Cuando las condiciones ambientales o de equilibrio gamético de los loci involucrados varíen, los valores adaptativos no se mantendrán constantes, la relación existente entre el valor adaptativo de la población y las frecuencias cambiará y el paisaje será cambiante. Por otra parte, la acción transcurrirá en un hiperespacio con tantas dimensiones como loci influyan en el valor adaptativo de un individuo. Vale decir que podemos imaginar a las poblaciones situadas en un paisaje adaptativo multidimensional que cambia en el tiempo y en el cual las poblaciones se mantienen en sus frecuencias o se mueven, siempre tendiendo a alcanzar el pico más cercano, aún cuando las perturbaciones aleatorias las arrastren de una zona a otra. Esta es una visión integradora de los procesos evolutivos, según la cual, mientras las condiciones ambientales permanecen constantes, las poblaciones se mueven en un paisaje adaptativo, sólo por acción de los procesos aleatorios como la deriva, y



se mantienen en una combinación de frecuencias particular por selección.

Esta visión de las poblaciones naturales, también permite ver y explicar de modo diferente las diferencias entre poblaciones. Dos poblaciones estables, en condiciones ambientales semejantes podrían estar en equilibrios selectivos diferentes, simplemente por razones históricas. Por eventos aleatorios dos poblaciones en un mismo paisaje adaptativo pueden caer en las zonas de atracción de picos diferentes, posteriormente, por selección cada una tenderá a alcanzar el pico que le es más próximo. Las poblaciones se diferenciarán por acción de la selección, pero el régimen selectivo es el mismo y la diferenciación tuvo lugar sólo por haber partido de estados iniciales diferentes.

El modelo de Wright, permite ver claramente que una de las mayores dificultades en evolución es que en el pasado ha actuado más de un proceso o una combinación de procesos que pueden explicar un mismo resultado en la actualidad.

### **Diferenciación entre poblaciones**

La diferenciación entre poblaciones puede ser el producto tanto de procesos estocásticos, selectivos o una combinación de ambos. Si bien no siempre es posible discernir la causa de la diferenciación entre poblaciones, es posible cuantificar esta diferencia, y muchas veces la cuantificación también puede servir para indagar sobre las causas. Si la diferenciación es debida puramente a la deriva, el grado de diferenciación será el mismo para todos los loci y para todos los alelos en un dado conjunto de poblaciones.

Las unidades panmícticas son las unidades ideales de la genética de poblaciones, y se las define como conjuntos homogéneos de individuos que se aparean aleatoriamente y que tienen las mismas frecuencias alélicas en toda la zona de distribución. Las poblaciones que se apartan de este ideal se dice que están estructuradas, y pueden reconocerse dentro de ellas subpoblaciones o demos que constituyen las unidades panmícticas.

La estructuración puede ser espacial o temporal. La estructuración espacial se da por variación geográfica de las frecuencias alélicas y la tendencia de los individuos a aparearse con mayor frecuencia con aquellos que están próximos espacialmente. La estructuración temporal tiene lugar cuando hay extinciones y recolonizaciones de poblaciones locales o expansión y contracción del tamaño poblacional. La estructuración espacial o geográfica es la más estudiada y documentada.

La variación geográfica no necesariamente tiene que ser la misma en todos los loci ni para todos los alelos, ya que no será producto únicamente de la deriva. Por lo tanto el patrón de estructuración puede variar de un locus a otro y de un alelo a otro.

Sewall Wright (1978) definió el estadístico  $F_{DT}$  como la correlación entre gametas tomadas al azar de demos dentro del total de la zona de distribución, y la calculó a partir de la varianza de las frecuencias alélicas.

$$F_{DT} = \sigma_p^2 / \bar{p} (1 - \bar{p}),$$

donde  $\bar{p}$  es la frecuencia promedio en la zona de distribución.

Posteriormente Nei (1977) redefinió este estadístico en función de las heterocigocis esperadas, como

$$F_{DT} = (H_T - H_D) / H_T ,$$

donde  $H_T = 2 p q$  es la frecuencia de heterocigotas esperados en la distribución total y  $H_D = 1/n \sum_i (2 p_i q_i)$  es el valor promedio de heterocigotas esperados en los demos.

Debido al efecto Wallhund, se verifica que  $H_T = H_D + 2 \sigma_p^2$ .

Si la distribución de una especie es tal que pueden distinguirse demos dentro de grandes subdivisiones del total, puede realizarse un análisis jerárquico de la estructuración poblacional, a partir de la ecuación general de Wright:

$$1 - F_{DT} = (1 - F_{DS}) (1 - F_{ST})$$

donde  $F_{DT}$  es el grado de diferenciación cuando se considera la totalidad de los demos,  $F_{DS}$  el grado de diferenciación observada entre demos dentro de las subdivisiones, y  $F_{ST}$  la diferenciación entre subdivisiones.

Los estadísticos  $F$ , no miden la cantidad de diferenciación o de varianza en términos absolutos, sino relativizados al número de alelos del sistema genético y a las frecuencias observadas, en definitiva son una medida de la cantidad de diferenciación entre subpoblaciones, relativa a la cantidad límite bajo fijación completa. Miden la diferenciación en el conjunto total en el sentido del grado al cual ha llegado el proceso de la fijación, entendiendo que tal proceso se alcanza cuando hay sólo un alelo presente en cada población.

Hasta los años sesenta no era muy usual encontrar loci de herencia simple y altamente polimórficos, por lo que la mayoría de los estudios de estructura poblacional se realizaban analizando las frecuencias de letales recesivos o las de rearrreglos cromosómicos (Taylor y Powell, 1984). A partir del desarrollo de las técnicas electroforéticas se contó con una batería de sistemas de herencia simple y polimórficos que permitieron ampliar notablemente este tipo de análisis.

Cuando la estructuración y la diferenciación son selectivas,  $F$  no será el mismo para todos los loci ni todos los alelos, por lo tanto dependerá del conjunto de loci estudiados. Cuando se analiza la estructuración considerando un grupo de loci diferentes, el estadístico  $F$  global es el promedio ponderado de los coeficientes de correlación para cada alelo en oposición con todos los demás. En estos casos puede ser muy ilustrativo comparar los estadísticos que se obtienen para distintos sistemas genéticos, ya que aquellos sistemas que sean selectivamente neutros, mostrarán el mismo grado de diferenciación, mientras que los sistemas de importancia adaptativa, mostrarán diferentes grado de diferenciación que dependerán de los regímenes selectivos a los que estén sujetos.

#### **1.4. Inversiones cromosómicas**

*Del derecho o del revés, ha de ser lo que es...*

**E**n numerosos grupos taxonómicos se ha podido observar que el proceso de especiación se ve acompañado por diferenciación citogenética debida a variaciones cromosómicas estructurales. Sin embargo, no siempre resulta claro hasta qué punto esta diferenciación puede ser causa de especiación, ni el papel que los rearrreglos cromosómicos pueden tener en la historia evolutiva de un grupo (Reig, 1989). La detección de diferentes rearrreglos cromosómicos entre especies no indica que la especiación haya ocurrido debido a mecanismos citogenéticos, ya que el aislamiento reproductivo podría

tener otra causa y la diferenciación cariotípica ser sólo un subproducto. Por otro lado, hay gran variedad de situaciones y así como existen casos en los cuales la estructura de los cromosomas es la mejor herramienta para discriminar dos especies sinmórficas, hay otros en los cuales todas las poblaciones de una especie resultan polimórficas para algún tipo de rearreglo.

---

POLIMORFIS-  
MOS  
CROMOSÓMI  
COS

---

La existencia de polimorfismos suele ser interpretada en términos adaptativos. En particular cuando se trata de polimorfismos estables parece razonable sospechar que la existencia de distintos morfos en una misma población y el mantenimiento de éstos en determinadas frecuencias no puede ser resultado del azar. En la medida en que cada morfo pueda experimentar el ambiente de manera diferente, una población polimórfica en un ambiente heterogéneo podría utilizar muchos más hábitats, explotando mejor los recursos de que dispone.

Entre los polimorfismos cromosómicos cuyo papel evolutivo ha sido analizado en distintos grupos taxonómicos se distinguen los que son debidos a inversiones cromosómicas.

Sturtevant (1921) fue el primero en describir la presencia de segmentos cromosómicos invertidos, como un fenómeno genético que ocurre naturalmente. Los cromosomas politénicos de las glándulas salivares de *Drosophila*, que como resultado de endopoliploidía muestran una extraordinaria amplificación, aportaron las evidencias físicas de las inversiones y permitieron que fueran documentadas y fácilmente estudiadas. La particularidad de un sistema genético de herencia simple y fácilmente observable, como las inversiones, junto al esfuerzo de T. Dobzhansky (1946, 1948), permitió caracterizar los polimorfismos cromosómicos presentes en *D. pseudoobscura* y *D. persimilis*. Pronto los

estudios de Dobzhansky sobre los polimorfismos de inversión se extendieron a otras especies, y sirvieron como piedra angular en el establecimiento de la genética de poblaciones experimentales, y el desarrollo de la síntesis Neo-darwinista de la evolución.

---

EL ORIGEN DE  
LAS  
INVERSIONES

---

La inversión de un segmento cromosómico implica la ocurrencia de dos fracturas independientes pero simultáneas, la inversión del sector comprendido entre ellas y la unión de los extremos en la nueva orientación. En general, por la complejidad del proceso que la origina, en condiciones naturales una inversión será un evento raro, pero luego de originada aún debe establecerse en la población o la especie. Aunque existen cuestionamientos al respecto, tradicionalmente se ha aceptado que la mayoría de las inversiones en la naturaleza son de origen único, ya que un origen polifilético implicaría una serie de eventos raros concatenados, lo cual sería poco probable. Esto implica que todas las copias de una ordenación pueden ser rastreadas hasta un cromosoma ancestral único.

Los principales cuestionamientos al origen único de las inversiones se refieren a dos alternativas (para revisión ver Krimbas y Powell, 1992a). La primera fue la posible existencia de “puntos calientes” o sitios frágiles en el cromosoma, es decir sitios más proclives a sufrir fracturas y re-uniones. Posteriormente, el descubrimiento de los transposones (McClintock, 1950), dio una nueva perspectiva al problema: el origen de las inversiones podría estar asociado a la presencia de transposones que mediaran en la ruptura y re-unión del segmento cromosómico (Novitski, 1946). El modelo de inversión por transposones abriría todo un panorama, ya que se sabe que los transposones pueden activarse en respuesta a condiciones ambientales (Green, 1982; McDonald et al.,

1987, citados por Krimbas y Powell, 1992). Sin embargo, hasta ahora no hay evidencias concluyentes que apoyen estas hipótesis.

Si, por la existencia de sitios calientes o por presencia de transposones, la probabilidad de que ocurran algunos reordenamientos fuera más alta de lo que creemos, podrían surgir reordenamientos por eventos recurrentes y ciertas inversiones podrían tener, por lo tanto, orígenes polifiléticos.

---

UNA  
INVERSION  
PUEDE SER  
INTERESANTE

---

Las inversiones cromosómicas presentan varios aspectos relevantes desde el punto de vista evolutivo. Si bien sólo alteran la ubicación o posición relativa de los loci en el cromosoma, se han descrito sistemas de regulación de la expresión genética cuyo efecto depende de la posición del gen regulador respecto del locus (regulación cis). Una inversión en la secuencia de loci podría tener efectos en la expresión génica (efectos de posición) (Wargent y Hartmann-Golstein, 1974).

En los heterocigotas para inversiones el entrecruzamiento ("crossing-over") dentro del segmento invertido daría origen a gametas desbalanceadas causando reducción de la fertilidad en los heterocigotas (y el consecuente menor valor adaptativo de éste). Sin embargo esto no siempre ocurre, ya que en muchas especies se han detectado mecanismos de compensación. En algunos casos el entrecruzamiento no tiene lugar ya sea por supresión, como ocurre en los machos del género *Drosophila*, o por apareamiento no homólogo. En otros casos los productos desbalanceados dan origen a cuerpos polares o espermatozoides no funcionales. La existencia de estos mecanismos resulta en que los heterocigotas no vean afectada su fertilidad, lo cual favorece el polimorfismo, y si el heterocigota para la inversión tiene mayor valor adaptativo (global o residual), el polimorfismo será estable. En cualquier

caso, ya sea por estos mecanismos o porque las gametas recombinantes no son viables, en el heterocigota el segmento cromosómico comprometido en la inversión será transmitido a la descendencia sin recombinar. Las inversiones cromosómicas reducen de forma efectiva la recombinación en los heterocigotas, y estos bloques de loci funcionan como unidades segregacionales llamados supergenes (Darlington y Mather, 1949). Esto da lugar a que la combinación alélica que fue atrapada por una inversión se mantenga protegida de la recombinación. La combinación alélica de la ordenación derivada permanecerá constante, salvo por efecto de la mutación que tenderá a restablecer la variabilidad. Esta diferenciación en contenido genético entre los cariomorfos podría causar que los individuos de cariotipos diferentes muestren diferencias tanto fenotípicas como adaptativas.

Sin embargo, ciertos dobles entrecruzamientos dentro del segmento invertido no resultan en gametas desbalanceadas (McClintock, 1931), por lo tanto puede ocurrir intercambio entre segmentos “invertidos” y “no invertidos”. Cuanto más larga sea la inversión y cuanto más distal sea su posición, mayor será la probabilidad de tal intercambio, y cuanto más alejado de los sitios de rotura esté un locus, mayor será la probabilidad de que recombine (Krimbas y Powell, 1992a). Por lo tanto, el efecto de una inversión sobre la recombinación depende de distintas variables: a) longitud de la inversión, b) posición en el cromosoma y c) sensibilidad del brazo cromosómico al reordenamiento (o el efecto que tiene la inversión sobre la recombinación en el resto del brazo).

En definitiva, las inversiones constituyen sistemas multi-loci, o supergenes, y en general se observa desequilibrio de ligamiento con loci internos o externos cercanos a los sitios de rotura. Con loci centrales el



desequilibrio suele ser menor e inexistente con loci externos. Las explicaciones que se dan a estos desequilibrios son:

1. Por selección, cuando los loci atrapados en una inversión están coadaptados.
2. Por razones históricas, debido a su origen único atrapó cierta combinación que al quedar protegida de la recombinación se conserva.
3. Por deriva, ya que la disminución en la recombinación permite que las inversiones se diferencien como “linajes” diferentes.

---

¿POR QUÉ NO  
SE  
PERDIERON?

---

A partir de su origen único, el establecimiento de una nueva ordenación en una población implica que deberá aumentar considerablemente su frecuencia a partir de un único individuo heterocigota. La pregunta obvia es cómo podría ocurrir tal proceso. Para poder establecerse en una población, una inversión deberá atravesar tres etapas (Krimbas y Powell, 1992a; pg. 15):

- En una primera etapa, inmediatamente después del evento originario, la inversión se perderá o mantendrá debido mayormente a eventos estocásticos.
- En una etapa posterior temprana, la nueva ordenación estará en varias copias en la población. En esta etapa prevalecen los procesos de selección natural, salvo en poblaciones pequeñas donde tendrán peso los eventos estocásticos.
- Por último la inversión se estabiliza en un polimorfismo estable debido a alguna forma de selección, o continúa aumentando su frecuencia hasta fijarse por selección direccional o deriva.

Lo notable es que un proceso cuya primera etapa depende del azar haya ocurrido tantas veces como para dar lugar a la gran cantidad de inversiones existentes en la naturaleza.

---

**¿CÓMO SE  
ESTABLECEN?**

---

Teóricamente, si la ordenación es neutra, permanecerá en la población por  $2 N_e$  generaciones antes de fijarse o perderse por deriva ( $N_e$  : tamaño efectivo de la población). Vale decir que aún siendo neutra puede mantenerse polimórfica en las poblaciones por un considerable período de tiempo, que dependerá del tamaño poblacional. Sin embargo, para establecerse en la población dependería de la selección, por lo cual su destino parece depender de su contenido genético.

Diversos modelos teóricos para la retención de inversiones en poblaciones naturales, y estudios en poblaciones artificiales en laboratorio (ver revisión en Krimbas y Powell, 1992a) han permitido indagar sobre algunos de los aspectos que pueden influir en el destino de una inversión nueva: su valor adaptativo; los efectos epistáticos (que afectan su valor adaptativo); la composición gamética de la población; la longitud de la inversión.

En general, la intensidad de selección sobre una nueva inversión es proporcional a la diferencia de su valor adaptativo marginal respecto de la media poblacional, y esto dependerá de su contenido genético y de los efectos epistáticos. Pero por tratarse de sistemas multi-loci, el efecto de una inversión depende de las frecuencias gaméticas de la población. En una población en desequilibrio gamético, la selección aumentará la frecuencia de una inversión si ésta tiene la combinación alélica de la gameta más frecuente. Cuando la inversión es introducida con el contenido de las gametas en deficiencia, es eliminada. Si la población está en equilibrio de ligamiento, la inversión debe ser introducida en

frecuencias altas, de modo que su presencia provoque desequilibrio gamético. La probabilidad de captar alelos favorables para distintos loci depende de la longitud de la inversión, y será mayor cuanto más largo sea el segmento invertido; pero con la longitud también aumentará la probabilidad de recombinación por dobles entrecruzamientos, que destruyen las combinaciones favorables. El resultado de este compromiso es que en general se favorezcan inversiones de tamaño moderado (Krimbas y Powell, 1992a; pg. 18-20).

---

¿Y LAS  
POBLACIONES  
NATURALES?

---

En la naturaleza, ya Dobzhansky detectó fluctuaciones estacionales cíclicas de los polimorfismos de inversión de *D. pseudoobscura*, que significó la primera evidencia acerca de su carácter adaptativo (Dobzhansky, 1962). Otras evidencias las constituyen los estudios de patrones espaciales y temporales en la variación de frecuencias de inversión. Un patrón geográfico homogéneo podría interpretarse como evidencia de neutralidad, sin embargo este tipo de patrón puede ser el resultado de selección normalizadora, cuando un genotipo, el heterocigoto, tiene el mayor valor de adecuación darwiniana en todos los ambientes (polimorfismo rígido). Otra posible explicación es que la migración entre poblaciones sea tan importante como para que el flujo génico homogeneice las frecuencias a pesar de la diferenciación que se generaría por deriva. La heterogeneidad geográfica de las frecuencias, en cambio, es mayormente atribuida a selección, particularmente cuando se verifican clinas, disminución del grado de polimorfismo en zonas periféricas o marginales, o correlación con variables ambientales. En estos casos la adaptación de la población tiene lugar mediante la variación de las frecuencias de inversión (polimorfismo flexible) porque

cada variante confiere un alto valor adaptativo en diferentes hábitats de un ambiente heterogéneo.

En la naturaleza se han encontrado gran diversidad de situaciones; sólo en las especies del género *Drosophila* hay ejemplos tanto de polimorfismos rígidos como flexibles, de variaciones geográficas y temporales, de diferenciación selectiva y de divergencia por deriva. Pero la demostración del valor adaptativo de las inversiones en la naturaleza no es tan frecuente, y aún en aquellos casos en los cuales no hay dudas al respecto, no es tan claro cuales son las causas biológicas subyacentes.

### **1.5. *Drosophila buzzatii***

*Un modelo entre modelos...*

Los estudios genéticos realizados en distintas especies del género *Drosophila*, por ser pioneros, han sido los promotores del desarrollo de la genética y muchos de los aspectos de la síntesis Neodarwinista. De hecho, posiblemente sea uno de los géneros de los cuales más infamación se tiene, particularmente en lo que se refiere a aspectos genéticos de las especies que lo conforman.

Sin embargo, a la hora de abordar estudios en poblaciones naturales, es preciso contar además con información acerca de la ecología de la especie. En este sentido, las especies cactófilas de *Drosophila* resultan muy apropiadas, ya que el conocimiento de su ecología (Starmer, 1982; Fanara, 1995; Hasson et al. 1992b) se suma a la información genética (Sanchez, 1986; Schafer et al., 1993; Hasson et al, 1995; Betrán et al., 1994). Estas especies ofrecen, además, la oportunidad de analizar el

microambiente, ya que todos los estadios del ciclo de vida se desarrollan en estrecha asociación con las necrosis de cactáceas, donde se alimentan, aparean, oviponen y transcurren los estadios larvarios.

El grupo *Drosophila repleta* de especies cactófilas, se destaca por la cantidad de especies caracterizadas citológicamente, lo que ha permitido establecer relaciones filogenéticas entre especies en base a los reordenamientos cromosómicos, particularmente las inversiones paracéntricas (para una revisión véase Wasserman, 1993).

Dado el gran número de especies que conforman el grupo *D. repleta*, se han establecido agrupaciones sin valor taxonómico, de modo que las especies se agrupan en “clusters”, y éstos en “complejos” dentro de los “subgrupos” que conforman el grupo. Dentro del grupo se reconocen 6 subgrupos, entre los cuales se cuenta el Subgrupo *D. mulleri* con 6 complejos.

---

**DROSOPHILA.**  
**BUZZATI ?**

---

*D. buzzatii* es una especie del cluster que lleva su nombre, dentro del complejo *D. buzzatii* del Subgrupo *D. mulleri* (Ruiz y Wasserman, 1993). Se trata de una especie originaria de Sudamérica, que en asociación con su hospedador natural, especies del género *Opuntia*, ha colonizado el Viejo Mundo, África y Australia (Barker, 1977; Fontdevila et al. 1981), alcanzando una distribución subcosmopolita (David y Tsacas, 1980).

Diversos estudios en poblaciones naturales y de laboratorio de *D. buzzatii* han logrado que hoy exista buena información acerca de esta especie, tanto sobre aspectos biogeográficos (Fontdevila 1989, 1991); como genéticos y citogenéticos (Barker y Mulley, 1976; Ruiz, 1982; Barker et al., 1985; Sánchez, 1986; Hasson et al., 1995) o de su nicho trófico (Barker et al. 1987; Barker 1990; Hasson et al., 1992b; Peris et al. 1991; Fanara., 1995; Fanara et al., 1998).

---

SI HABLAMOS  
DE  
CROMOSOMAS

---

Cariotípicamente, presenta cinco pares de cromosomas acrocéntricos y un par puntiformes. Se han detectado quince inversiones en tres de los autosomas acrocéntricos, de las cuales trece se sitúan en el cromosoma 2, que resulta el más variable de todo el cariotipo (Fontdevila et al. 1981, 1982). El cromosoma 2 representa alrededor del 23 % de la eucromatina total y contiene aproximadamente el 70 % de todas las inversiones que han tenido lugar en todo el grupo *repleta* (Wasserman, 1982). Esta acumulación de inversiones ha sido especulativamente interpretada por algunos autores como adaptativa (Ruiz, 1982; Ruiz et al., 1982).

La distribución geográfica de las inversiones de *D. buzzatii* es muy variable. Hay inversiones que, al igual que la ordenación ancestral 2ST, tienen una distribución muy amplia y están presentes tanto en poblaciones originarias como colonizadoras (2 J y 2 JZ<sup>3</sup>); las hay que si bien están presentes en poblaciones originarias y colonizadoras, su distribución es intermedia (2 JQ<sup>7</sup>, 4 S); otras se han detectado sólo en poblaciones originarias (2 R<sup>9</sup>, 2 S<sup>9</sup>, 2 Y<sup>3</sup>, 2 C<sup>9</sup> y 5 C<sup>2</sup>) (Ruiz et al., 1984). Estas diferencias en la distribución geográfica llevaron a los mencionados autores a clasificarlas en cuatro categorías, que llamaron respectivamente: cosmopolitas, moderadamente frecuentes, endémicas y únicas (aquellas que solo se detectaron en una población). Las poblaciones argentinas presentan un alto grado de polimorfismo para inversiones del cromosoma 2 (Fontdevila et al., 1982) y se diferencian geográficamente respecto de las frecuencias de sus polimorfismos cromosómicos. Esta diferenciación espacial, por estar correlacionada con variables macrogeográficas, fue interpretada como adaptativa (Hasson et al., 1995).

---

HABLANDO DE  
LOS EFECTOS  
DE LAS  
INVERSIONES

---

Además, estos polimorfismos parecen mantenidos por selección endocíclica o pleiotropía negativa, ya que se ha detectado que las inversiones confieren valores adaptativos de signos opuestos en diferentes fases del ciclo de vida (Ruiz et al., 1986; Hasson et al., 1991). Además, se han detectado efectos fenotípicos de las inversiones del cromosoma 2 con el tamaño corporal (Ruiz et al., 1991; Hasson et al., 1992a; Fanara et al., 1997) así como con otros caracteres morfométricos relacionados con el tamaño corporal (Norry et al., 1995b). Por otra parte, se sabe que el tamaño corporal es un carácter fenotípico estrechamente relacionado con distintos componentes de la adecuación. En general, está correlacionado positivamente con componentes tardíos y negativamente con componentes tempranos (Leibowitz et al., 1995). Esto ha llevado a postular la hipótesis de que los efectos que las inversiones tienen sobre el tamaño podrían explicar el valor adaptativo del polimorfismo. Sin embargo, no se han obtenido hasta ahora evidencias directas en tal sentido.

---

RESPECTO DE  
LAS  
ALOZIMAS

---

La variabilidad alozímica en *D. buzzatii* ha sido evaluada en distintas poblaciones, tanto ancestrales como colonizadoras. En poblaciones ancestrales se detectaron catorce loci polimórficos sobre un total de 22 loci analizados: *Alcohol deshidrogenasa-1 (Adh-1)*, *Aldehído oxidasa (Aldox)*, *Esterasa-1 (Est-1)*, *Esterasa-2 (Est-2)*, *6-Fosfogluconato deshidrogenasa (6-Pgdl)*, *Peptidasa-2 (Pep-2)*, *Xantín deshidrogenasa (Xdh)*, *Enzima málico (EM)*, *Fumarasa (Fum)*, *Fosfatasa ácida (Acpb)*, *Fosfatasa alcalina (Aph-1)*, *Glicerolfosfato deshidrogenasa (Gpdl)*, *Leucin aminopeptidasa-1 (Lap-1)* y *Fosfoglucomutasa (Pgm)*, (Sánchez, 1986). En las poblaciones colonizadoras sólo los 7 primeros de los anteriores resultaron polimórficos en el Viejo Mundo (Sánchez, 1986) y se detectaron ocho loci polimórficos en

Australia: *Aldox*, *Est-1*, *Est-2*, *Adh-1*, *Adh-2*, *Pgm*, *Lap-1* y *Hexosaminidasa* (*Hex*), (Barker y Mulley, 1976; Barker, 1981).

El menor número de loci polimórficos detectado en las poblaciones colonizadoras sugiere un efecto fundador en ellas, que se manifiesta también en una reducción de la variabilidad genética medida por el número de alelos por locus y por diversidad génica (Fontdevila, 1989; 1991).

De los catorce loci aloenzimáticos polimórficos en las poblaciones sudamericanas, siete se localizan en el cromosoma 2: *Xdh*, *Aldox*, *Est-1*, *Est-2*, *Pep-2* y *Lap-1*. Esto es coincidente con lo observado en la mayoría de las especies del grupo *repleta*, en el que se observa que este cromosoma contiene más del 50 % del polimorfismo aloenzimáticos (Zouros, 1976; Wasserman, 1982).

Tanto en estudios de perturbación (Barker y East, 1980), como del análisis de los patrones de variación geográfica de los polimorfismos aloenzimáticos, y su correlación con variables ambientales (Mulley et al., 1979; Sokal et al., 1987), se ha mostrado que habría factores selectivos implicados en la diferenciación espacial observada, al menos en algunos loci.

Es relativamente poco lo que se sabe de la relación de las alozimas con las inversiones. La localización relativa de algunos de estos loci está determinada (Fig. 1.): *Est-1* y *Aldox* mapean dentro del segmento involucrado en las inversiones, *Est-1* en posición central (Schafer et al., 1993), *Aldox* también central (Betrán et al., 1994); *Est-2* en el segmento involucrado sólo en la inversión 2 JQ<sup>7</sup>, quedando externa y próxima al sitio de rotura proximal en la inversión 2J (Betrán et al., 1994); *Pep-2* es externa y próxima al sitio de rotura distal; *Xdh* y *Lap* externas y lejanas al

---

LAS  
ALLOZIMAS Y  
LAS  
INVERSIONES,  
JUNTAS?

---



sitio de rotura proximal (Schafer et al., 1993). Las asociaciones gaméticas de las inversiones con loci enzimáticos podrían explicar tanto las diferencias adaptativas entre las inversiones por diferencias en el contenido genético, como el valor adaptativo de ciertos alelos alloenzimáticos por efectos de posición de las inversiones. En tal sentido Quesada-Díaz (1993) ha detectado fuerte asociación de los loci Aldox y Est-2 con el sistema de inversiones, asociaciones que podrían ser explicadas tanto por efectos históricos, ya que se trata de loci ubicados en la región afectada por las inversiones, como por la selección natural.

## 1.6. Objetivos

*En busca de las causas, pregunta perdida...*

Como objetivo central, nos proponemos indagar en las causas por las cuales las inversiones le significan diferencias adaptativas a sus portadores. En tal sentido, hemos abordado el problema desde enfoques diferentes:

1. **El efecto fenotípico de las inversiones.** Intentaremos ver si las inversiones presentan efectos fenotípicos significativos en condiciones naturales, donde la varianza ambiental es muy importante. Se eligió el tamaño corporal como carácter fenotípico, de modo de analizar hasta qué punto la selección fenotípica sobre el tamaño corporal, podría explicar al menos parcialmente algunos de los componentes selectivos detectados en las inversiones.
2. **El contenido genético de las inversiones.** Se analizarán las frecuencias alloenzimáticas de siete loci ubicados en el cromosoma 2 (Est-1; Est-

2; Lap; Aldox; Pep-1; Pep-2; y Xdh), para intentar determinar desequilibrios gaméticos, y grado de diferenciación entre ordenaciones. Dadas las ubicaciones relativas de los loci respecto de las inversiones, la comparación entre ellos permitirá analizar también este factor.

3. **La relación del polimorfismo con variables macrogeográficas.** Se realizará un estudio comparativo de estructura poblacional a nivel macrogeográfico, para cromosomas y para los siete loci aloenzimáticos localizados en el cromosoma 2 que comprenderá distintas regiones fitogeográficas.

Para abordar el primer punto, se realizará un estudio intensivo, de un único componente de la adaptación, la longevidad, a nivel fenotípico y cariotípico en la población natural de Arroyo Escobar.

Los otros dos enfoques, requieren de un análisis más extensivo, por lo cual se analizarán siete poblaciones naturales localizadas en tres regiones fitogeográficas diferentes: Región del Chaco Occidental (poblaciones de Chumbicha, La Sebila, y Río Hondo); Región Chaco Oriental (Berna y Tirol) y Región Pampa (Otamendi y Arroyo Escobar) (Fig. 3.1, en Capítulo 3).

Como objetivo adicional, se estimarán las asociaciones gaméticas entre los loci aloenzimáticos analizados. La comparación de las asociaciones enzima-enzima con las asociaciones enzima-inversión, y la relación con las posiciones relativas, permitirá ampliar el panorama que se tiene acerca de las causas biológicas del valor adaptativo de los diferentes polimorfismos.





## Inversiones, Tamaño corporal y Adaptación

*Lo esencial es invisible a los ojos, y a menos que tenga consecuencias fenotípicas será invisible también para la selección natural.*

**E**n este capítulo abordaremos el análisis de la relación entre la longevidad diferencial de adulto, la variación del tamaño corporal - estimado a partir de la longitud del tórax- y el cariotipo del cromosoma 2.

### 2.1. Resumen

---

EN POCAS  
PALABRAS...

---

Para analizar las relaciones entre inversiones, tamaño corporal y longevidad, se tomó una muestra de más de 1.000 individuos adultos de una población natural de *Drosophila buzzatii*. La comparación entre la media del tamaño corporal de una muestra de adultos recién emergidos de los sustratos naturales de la planta hospedadora (*Opuntia vulgaris*), con la media de una muestra de adultos capturados sobre trampas de banana sugiere que los individuos más grandes tienen una mayor probabilidad de supervivencia, es decir que viven más (son más longevos). La comparación de frecuencias de inversión entre adultos emergidos y capturados muestra no sólo que las ordenaciones del cromosoma 2 están asociadas con efectos de longevidad diferencial, sino que la selección es sexo-específica. Además se observa una correlación entre la longitud del

---

tórax y el cariotipo en las muestras de adultos recién emergidos, lo cual es consistente con resultados previos en condiciones de laboratorio. Por último, los resultados de este trabajo sustentan la hipótesis que el efecto medio de las inversiones sobre el tamaño corporal y la correlación entre tamaño y longevidad, explicarían los cambios de frecuencias cromosómicas debidos a longevidad diferencial, al menos en hembras.

Además, se propone que el consistente patrón de pleiotropía negativa del polimorfismo cromosómico sobre la fecundidad y la longevidad podría ser una explicación plausible para el patrón macrogeográfico de variación del polimorfismo en las poblaciones sudamericanas de *D. buzzatii* descrito en otros trabajos.

## 2.2. Introducción

Como ya se planteó en el capítulo anterior, el estudio de la selección natural en la naturaleza, si bien es difícil, se ha abordado desde distintos enfoques (Endler, 1986). Sin embargo, en la mayoría de los casos se adolece del conocimiento de la función del carácter en estudio. De tal modo, si bien puede llegar a establecerse que la selección natural está operando, y en algunos casos incluso cómo lo hace, no queda tan claro por qué el carácter en cuestión resulta adaptativo. Es decir: ¿Cuáles son las diferencias biológicas asociadas al carácter en estudio que causan diferencias adaptativas?

---

LOS POLI-  
MORFISMOS  
EN  
PARTICULAR

---

Los polimorfismos de inversiones en el género *Drosophila* son quizás uno de los ejemplos más ilustrativos de este problema. A menudo se ha planteado que son mantenidos selectivamente (ver revisión en Krimbas y Powell 1992b) pero no hay ningún caso citado en la extensa revisión de Endler (1986) donde se haya demostrado la existencia de una correlación entre cariotipo y valor adaptativo en poblaciones naturales.

*D. buzzatii*, una especie caracterizada por el valor adaptativo del polimorfismo de inversión que presenta en su cromosoma 2, ha sido intensamente estudiada en tres poblaciones naturales mediante el análisis de componentes de selección (SCA) (Ruiz et al. 1986; Hasson et al. 1991; Barbadilla et al. 1994; Fanara et al. 1996). Estos, al igual que otros estudios realizados bajo condiciones experimentales controladas (Ruiz y Fontdevila 1985; Ruiz et al. 1987; Fanara et al. 1995) han mostrado que estos polimorfismos son adaptativos. Sin embargo, no sabemos aún cuáles son las causas biológicas subyacentes de estas observaciones.

---

¿PERO... POR  
QUÉ SON  
ADAPTATIVOS  
?

---

La selección natural opera inicialmente sobre el fenotipo. En la medida en que el carácter fenotípico seleccionado tenga base genética, y como consecuencia de esta selección fenotípica, tendrá lugar el proceso de selección natural propiamente dicho. Por lo tanto, el valor adaptativo de las inversiones podría estar dado por las consecuencias fenotípicas de éstas.

Resulta entonces pertinente considerar caracteres fenotípicos correlacionados con el polimorfismo de inversiones, y analizar si éstos pueden causar diferencias adaptativas que expliquen la acción de la selección a nivel cariotípico. En este sentido, diferentes estudios, tanto bajo condiciones experimentales (Ruiz et al. 1991; Hasson et al. 1992a), así como en la naturaleza (Ruiz et al. 1991; Fanara et al., 1997), han mostrado una correlación entre la longitud del tórax (estimador del tamaño corporal), y el polimorfismo de inversiones en *D. buzzatii*. Más recientemente, Norry et al. (1995b) han reportado que las inversiones del cromosoma 2 de esta especie presentan, además, efectos diferenciales sobre otros caracteres relacionados con el tamaño. En todos estos estudios hay resultados coincidentes respecto de los efectos de las inversiones del cromosoma 2: los individuos portadores de la ordenación 2S1, el cariomorfo considerado ancestral (Wasserman 1993), son siempre más pequeños que los individuos con ordenaciones derivadas (2J, 2Jz<sup>3</sup> y 2JQ<sup>7</sup>).

---

SER O NO  
SER... MÁS  
GRANDE!

---

La longitud del tórax es un carácter morfométrico fácilmente observable, es sencillo determinarlo, y resulta un buen estimador del tamaño corporal. Estas características posiblemente hayan incidido en el considerable esfuerzo realizado para obtener evidencias de su correlación con el valor adaptativo en condiciones naturales. Así se ha

visto que en poblaciones naturales de *D. buzzatii*, la longitud del tórax está positivamente correlacionada con distintos componentes de la adecuación de adulto, ya que afecta la capacidad de apareamiento de los machos (Santos et al. 1988), la fecundidad (Santos et al. 1992a), y la longevidad (Santos et al. 1992a; Hasson et al. 1993). Sin embargo, trabajos más recientes han mostrado que la selección sexual asociada a la variación en el tamaño corporal, es atribuible a selección directa sobre otro carácter, el ancho de la cabeza, que está relacionado con el tamaño (Norry et al. 1995a). De hecho, un trabajo reciente sugiere que el tamaño corporal podría ser considerado neutro para el éxito en el apareamiento en *D. buzzatii* (Santos, 1996).

---

¿POR QUÉ EL  
TAMAÑO ES  
CANDIDATO?

---

Los resultados del análisis de componentes de selección realizado por Hasson et al. (1991) en la población de Arroyo Escobar (Argentina) muestran que las inversiones que incrementan el tamaño corporal parecen estar positivamente correlacionadas con la longevidad de los adultos. Los efectos selectivos de la longevidad sobre el cariotipo podrían, entonces, ser mediados por los efectos de las inversiones sobre el tamaño corporal. En otras palabras, las ordenaciones que causan incremento en el tamaño (las derivadas) podrían mostrar una correlación positiva con la longevidad, mientras que 2ST, cuyo efecto es la disminución del tamaño, sería perjudicial para la supervivencia de los adultos (Hasson et al. 1992a). Sin embargo, es necesario confirmar la correlación entre la longitud del tórax y las inversiones en la población natural de Arroyo Escobar para poder indagar acerca de esta hipótesis.

---

ENTONCES ...  
¿QUÉ  
PODEMOS  
HACER?

---

En este capítulo analizamos simultáneamente los efectos de las inversiones sobre la longitud del tórax en individuos de la naturaleza, y el efecto de la longevidad en la distribución de las frecuencias de



inversiones y en la variación del tamaño. La intención es encontrar una posible explicación para el valor adaptativo diferencial de las inversiones. Para ello se analizará si el patrón de selección por longevidad para las inversiones (Hasson et al. 1991) puede ser predicho a partir de las correlaciones entre inversiones y longitud del tórax, y el efecto que este carácter fenotípico tiene sobre la longevidad (Hasson et al. 1993).

### 2.3. Metodología

La población natural estudiada, que denominamos Arroyo Escobar por su cercanía a dicha localidad del Gran Buenos Aires, está localizada a 30 Km. de Buenos Aires en dirección noroeste. En esta población *D. buzzatii* utiliza como recurso para su alimentación, oviposición y crecimiento de las larvas, las pencas en proceso de putrefacción de *Opuntia vulgaris*. Todos los adultos fueron capturados en el otoño de 1990, durante los meses de marzo y abril. Estudios previos revelaron que esta población es polimórfica para tres ordenaciones del cromosoma 2: las denominadas 2ST, 2J y 2JZ<sup>3</sup>. También se detectó una cuarta ordenación, 2JQ<sup>7</sup>, que está en muy baja frecuencia.

#### Diseño experimental

El componente de selección que interesa estudiar es el de viabilidad de adulto o longevidad en condiciones naturales. Para analizar un componente en particular bastaría con realizar comparaciones de frecuencias antes y después de la selección. En este caso, si se toma una muestra de adultos recién emergidos y se la compara con otra de adultos

maduros (cerca de la senectud), bajo ciertas suposiciones, se detectarían las diferencias debidas a longevidad diferencial. El diseño experimental consiste en la toma de muestras que puedan ser consideradas representativas de estas dos clases de adultos y la determinación del cariotipo y el tamaño corporal de cada individuo de estas muestras. Este procedimiento permitió no sólo determinar la distribución de frecuencias de inversiones y del tamaño corporal en cada una de ellas y compararlas, sino que también se pudo analizar la relación entre el cariotipo y la longitud del tórax de los individuos.

### Muestras

---

SIEMPRE  
DETRÁS DE LA  
MOSCA

---

En general, para tomar muestras de poblaciones naturales de *Drosophila buzzatii*, se prefieren las estaciones de otoño y primavera. Durante las épocas de temperaturas extremas los tamaños de las poblaciones y la movilidad de los adultos disminuyen, lo que provoca que las capturas requieran mayor esfuerzo y sea menos efectiva (observaciones de campo). Para este análisis, la toma de muestras se realizó en otoño, durante el mes de marzo de 1990. Colectamos adultos de la población natural mediante dos procedimientos diferentes, de modo de obtener dos clases de adultos:

i.- **Adultos recién emergidos (AE):** Esta muestra es representativa de los adultos inmaduros presentes en la población, es decir que es la muestra pre-selectiva, o sea antes de la selección por longevidad. Para obtenerla, se buscaron cladodios o palas en descomposición de *Opuntia*, en las cuales se verificara la presencia de larvas. Se encontraron 44, las cuales fueron envueltas en tela de *voile* y dejadas en el lugar donde se las encontró, con el objeto de aislarlas evitando modificar las condiciones

ambientales naturales (Fig. 2.1). Las palas fueron revisadas diariamente y los adultos emergidos aspirados, separados por sexo inmediatamente y ubicados en tubos con medio de cultivo durante cinco o seis días, tiempo en el cual alcanzaron la madurez sexual. Luego fueron cruzados individualmente por adultos maduros provenientes de una línea homocigota para las ordenaciones 2J del cromosoma 2, y 4S del cromosoma cuatro. Se utilizaron dos individuos de la línea homocigótica por cruzamiento, vírgenes en el caso de tratarse de hembras.



**Figura 2.1:** Población natural de Arroyo Escobar. Los cladodios o palas de *Opuntia* en descomposición, en las cuales se verificara la presencia de larvas, aisladas, envueltas en tela de *voile*, y dejadas en el lugar donde se las encontró, evitando modificar las condiciones ambientales naturales.

La productividad de las palas fue variable, 30 de ellas (68,5%) produjeron en total más de 700 adultos con un promedio de  $25,3 \pm 7,1$  individuos por sustrato. La ventana media de emergencia, o período de

productividad del sustrato, que es el lapso de tiempo transcurrido desde que aparece el primer adulto hasta que emerge el último, fue de  $9,1 \pm 1,3$  días.

ii.- **Adultos capturados (AC):** Esta es una muestra de los adultos presentes en la población natural en un momento dado, lo cual implica que está compuesta por individuos de diferentes edades, e incluye, además, adultos inmaduros o recién emergidos. Si se tratara sólo de adultos maduros (y relativamente longevos), se trataría de los sobrevivientes a la selección por longevidad (muestra post-selectiva del componente). Al tomarla como representativa de los adultos maduros, cuando en realidad hay superposición de edades, se comete un error. Sin embargo es un error que disminuiría nuestra capacidad de detectar la longevidad diferencial, ya que enmascararía las diferencias entre las muestras pre- y post-selectiva. Vale decir que el error en la estimación del componente sería por defecto, y podremos afirmar que la selección es más intensa o igual a lo estimado.

Para tomar la muestra de adultos de la población natural, se utilizaron baldes con banana fermentada como cebo atractivo. Los mismos se distribuyeron en el área considerada, y las moscas adultas fueron capturadas mediante la utilización de redes entomológicas. La toma de las muestras se realizó durante cinco días consecutivos, al cabo de los cuales más de 1000 adultos habían sido capturados. Cada día, al llegar al laboratorio luego de la captura, se separaron los capturados por sexos y se cruzaron con individuos de la misma línea homocariotípica utilizada con la muestra de adultos recién emergidos y que fue descripta con anterioridad.

Los cruzamientos de machos adultos capturados (MC) fueron realizados inmediatamente y transferidos a las 48 hs a tubos nuevos con medio fresco. Las hembras capturadas (HC), pueden haber sido fecundadas antes de su captura, y por lo tanto es muy probable que muchas de ellas tengan espermatozoides de machos de la población natural en su espermateca. Esto hace necesario asegurar la eliminación de este espermatozoides, mediante lo que se conoce como desplazamiento de espermatozoides (Barbadilla et al. 1991). Para lograr esto último, las hembras fueron mantenidas individualmente en tubos sin machos por 36 hs y luego transferidas a tubos nuevos con medio fresco y dos machos provenientes de la cepa homocariotípica. Dos días después, los tríos fueron transferidos a un segundo tubo con medio fresco, y el primero se descartó. La descendencia del segundo tubo será casi en su totalidad proveniente de un macho de la cepa de laboratorio, ya que el espermatozoides presente en las espermatecas de las hembras en el momento de la captura, proveniente de machos de la naturaleza, habrá sido desplazado por el espermatozoides de los machos de la cepa.

En todos los casos el medio de cultivo utilizado fue preparado siguiendo una modificación de la fórmula de David (1962).

### **El carácter estudiado**

El carácter fenotípico analizado fue la longitud del tórax, un buen estimador del tamaño corporal. Todas las determinaciones fueron realizadas en especímenes vivos. Se utilizó un microscopio binocular provisto de un ocular micrométrico. La longitud del tórax fue medida desde el margen anterior del tórax hasta el extremo posterior del scutellum, en vista lateral.

Las pruebas estadísticas empleadas para el análisis de los datos se pueden encontrar en Sokal y Rolf (1981)

### **Carácter fenotípico e inversiones**

La correlación entre la longitud del tórax y las inversiones fue analizada en ambas muestras de adultos de la población natural. Todos los adultos, tanto emergidos como capturados, fueron medidos a las 48 horas de haber sido transferidos por última vez. Para determinar su cariotipo se procedió al análisis de la descendencia. Se disecaron seis a ocho larvas de la progenie de cada cruzamiento exitoso para extraer las glándulas salivares y examinarlas citológicamente (Fontdevila et al. 1981). Sabiendo que la progenie recibe un cromosoma determinado (en este caso es el 2J de la línea homocariotípica), el análisis de 5 larvas de la progenie permite inferir el cariotipo de su progenitor con una probabilidad mayor al 95 % (más precisamente de 96,9 %, ya que la probabilidad de no detectar una ordenación será  $(1/2)^5 = 0,031$ ). Por lo tanto, nuestro procedimiento es adecuado si la progenie de cada tubo es descendiente de un progenitor proveniente de la cepa de laboratorio, pero esto puede ser una fuente de error cuando se trata de la descendencia de una hembra, si el desplazamiento de esperma no hubiera sido completo. La inversión 4S, presente en estado homocigota en la cepa utilizada, está en muy baja frecuencia en la población natural (menos de 0,01) (Hasson et al. 1991), por lo tanto se la utilizó para distinguir los descendientes de las hembras cuyo progenitor fue un macho proveniente de la línea de laboratorio de los descendientes que pudieran provenir de cruzamientos ocurridos antes de la captura. Se pudo comprobar que el desplazamiento fue prácticamente completo, ya

que más del 95% de la progenie analizada era descendiente de un individuo de la línea homocigótica.

### **Análisis del efecto de las inversiones sobre el tamaño corporal**

El efecto biométrico de las inversiones sobre la longitud del tórax fue analizado de acuerdo al modelo genético propuesto por Ruiz et al. (1991).

---

PARTIENDO  
EL ANOVA

---

El efecto del cariotipo sobre la longitud del tórax fue evaluado por medio de análisis de varianza (ANOVA) de un factor considerando el cariotipo como fuente de varianza, y la regresión de la longitud del tórax sobre la dosis cromosómica para estimar los componentes genéticos de la varianza cariotípica. Este método permite la partición de la varianza fenotípica total en varianza aditiva y no aditiva. Como lo puntualizan Ruiz et al. (1991), la varianza entre cariotipos ( $\sigma^2_k$ ) da una estimación mínima de la varianza genética ( $V_g$ ) y la proporción de la varianza explicada por la regresión ( $\sigma^2_a$ ) da una estimación mínima del componente aditivo ( $V_a$ ). Por lo tanto, la varianza entre cariotipos no explicada por el modelo de regresión ( $\sigma^2_d$ ) corresponde a la varianza genética no-aditiva o varianza debida a efectos de dominancia y es  $\sigma^2_d \leq V_d$ . De lo cual resulta:

$$\sigma^2_k = \sigma^2_a + \sigma^2_d \leq V_g = V_a + V_d.$$

A partir de los cuadrados medios esperados (MS) en los ANOVA, es posible estimar los componentes de varianza utilizando las siguientes ecuaciones:

$$MS_{dentro} = \sigma^2$$

$$MS_K = \sigma^2 + N\sigma^2_k / k-1 \quad (\sigma^2_k \cong V_k)$$

$$MS_R = \sigma^2 + N\sigma_r^2 / a-1 \quad (\sigma_r^2 \cong V_a)$$

$$MS_D = \sigma^2 + N\sigma_d^2 / k-a \quad (\sigma_d^2 \cong V_d),$$

Donde  $MS_K$ ,  $MS_R$  y  $MS_D$  corresponden a los cuadrados medios entre cariotipos, los cuadrados medios de la regresión, y los de la desviación, respectivamente;  $N$  es el número total de individuos en la muestra,  $k$  es el número de cariotipos ( $k=6$ ), y  $a$  es el número de ordenaciones cromosómicas ( $a=3$ ).

Para obtener la ecuación de regresión se utilizó el programa estadístico SPSS que emplea el método "ENTER", en el cual las variables significativas son entradas en pasos sucesivos.

Todos los análisis estadísticos y la estimación de los componentes de la varianza fenotípica se repitieron considerando a las ordenaciones 2J y 2JZ<sup>3</sup> reunidas en una única clase que se llamó 2J•. La validez de este procedimiento descansa en el hecho que 2St es la ordenación ancestral de *D. buzzatii* (Wasserman, 1993), y por lo tanto permite contrastar los efectos de la ordenación ancestral con el efecto de las ordenaciones derivadas.

### **Efectos ambientales sobre la variación de la longitud del tórax**

En general, el tamaño corporal es un carácter fuertemente influenciado por las condiciones ambientales durante el desarrollo, particularmente aquellas que puedan afectar el estado nutricional de los estadios juveniles. En el caso de las especies de *Drosophila* que son cactófilas, el desarrollo de las larvas depende de la clase de sustrato en el cual éstas nacen, así como de la habilidad que tengan para explotar los recursos alimenticios, levaduras, que el sustrato les ofrece. Por lo tanto,

---

**AHORA VA A  
 RESULTAR  
 QUE HAY QUE  
 TOMAR LA  
 SOPA**

---



la heterogeneidad entre sustratos en diversidad y abundancia de especies de levaduras (Barker et al. 1987) puede tener una importante influencia sobre el tamaño de los adultos.

Para analizar este aspecto, en este diseño se cuenta con los adultos recién emergidos de distintos sustratos. Sin embargo, para analizar el efecto de los sustratos, las muestras de individuos provenientes de cada sustrato considerado deben ser representativas. De los sustratos aislados en condiciones naturales, 30 fueron productivos. En 7 de estos 30 sustratos se obtuvieron el cariotipo y la longitud del tórax de 18 o más adultos de cada sexo. Esta submuestra de 7 sustratos fue empleada para analizar la hipótesis que el sustrato en el cual crecen y se desarrollan los individuos afecta la longitud del tórax. Para esto se implementó un ANOVA multifactorial con dos efectos fijos: sexo e inversión; y uno aleatorio: sustrato.

### **Selección cariotípica**

Como fuera planteado en los análisis de componentes de selección realizados por Ruiz et al. (1986) y Hasson et al. (1991), la comparación de frecuencias de inversión entre muestras de AE y AC permite obtener una estimación de la selección por longevidad. La validez de esta estimación descansa en distintos supuestos (Ruiz et al. 1986), algunos de los cuales fueron corroborados en estudios previos en la población de Arroyo Escobar (Rodríguez et al. 1992; Hasson et al. 1993).

La igualdad de frecuencias en ambos sexos es también un supuesto en el análisis de componentes de selección, y la validez de la estimación de la longevidad descansa en esta suposición, que nunca fue verificada en estudios previos (Ruiz et al., 1986; Hasson et al., 1991; Fanara et al.,

---

HAY UN  
ANTES Y UN  
DESPUÉS ...

---

1996; Barbadilla et al., 1994). En este estudio se realiza un análisis más intensivo del componente de selección longevidad, ya que se analizan y comparan las frecuencias cariotípicas en machos y hembras separadamente.

Para comparar las frecuencias de inversión entre muestras empleamos tablas de contingencia. Sin embargo, como era preciso comparar simultáneamente las frecuencias de más de dos ordenaciones, también empleamos la prueba de Anderson et al. (1979) que es más sensible. Esta prueba permite detectar diferencias de frecuencias relativas entre muestras. En este caso si  $p_{AE}$ , es la frecuencia de una dada ordenación en la muestra de adultos emergidos y  $p_{AC}$  en adultos capturados, se puede definir la expresión:

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

donde

$$\Delta p = p_{AC} - p_{AE}$$

$$\text{Var } (\Delta p) = p (1 - p) (1/n_{AE} + 1/n_{AC}),$$

$$p = \text{frecuencia media} = 1/2 (p_{AE} + p_{AC});$$

$$n_{AE} \text{ y } n_{AC} = \text{tamaños de las muestras de cada fase}$$

El estadístico empleado está dado por el cociente  $\Delta p / (\text{Var } \Delta p)^{1/2}$  el cual tiene una distribución normal.

Además, como se obtuvieron las frecuencias cariotípicas en cada muestra, fue posible obtener estimaciones de los coeficientes de adecuación darwiniana mediante el cociente:

$$W_{ij} = a_{ij} / f_{ij},$$

donde  $W_{ij}$  es la longevidad estimada para el cariotipo  $ij$ ; siendo  $f_{ij}$  y  $a_{ij}$  las frecuencias de cada cariotipo en las muestras de AE y AC,

respectivamente. La varianza aproximada de  $W_{ij}$  para muestras de grandes tamaños (Clegg et al. 1978) es:

$$\text{Var} (W_{ij}) = (a_{ij} / f_{ij})^2 [(1 - a_{ij}) / n_a + [a_{ij} (1 - f_{ij})] / f_{ij} n_f ]$$

donde  $n_a$  y  $n_f$  son los respectivos tamaños de muestra.

## 2.4. Resultados

El efecto biométrico del cariotipo sobre el tamaño corporal fue analizado en cada muestra y en ambos sexos por separado (machos emergidos -ME-, hembras emergidas -HE-, machos capturados -MC-, y hembras capturadas -HC). Se determinó el cariotipo y la longitud del tórax de más de mil individuos adultos de *D. buzzatii*.

### Tamaño corporal y cariotipo

En la tabla 2.1 se presentan los valores determinados en cada una de nuestras muestras de longitud media del tórax correspondiente a cada clase cariotípica y su desvío standard en cada una de las muestras.

	St/St	St/J	St/Jz <sup>3</sup>	J/J	J/Jz <sup>3</sup>	Jz <sup>3</sup> /Jz <sup>3</sup>	TOTAL
<b>HE</b>							
Y	0,905	0,957	0,978	0,997	1,018	0,961	0,991
SD	0,089	0,110	0,076	0,099	0,096	0,086	0,097
N	5	35	18	76	74	18	226
<b>HC</b>							
Y	1,077	1,041	1,057	1,069	1,082	1,037	1,063
SD	0,053	0,095	0,093	0,105	0,096	0,105	0,100
N	4	37	31	89	90	43	294
<b>ME</b>							
Y	0,914	0,960	0,931	0,960	0,974	0,969	0,960
SD	0,054	0,085	0,086	0,078	0,083	0,056	0,079
N	10	33	24	64	64	26	221
<b>MC</b>							
Y	0,961	0,990	0,966	1,002	0,994	0,995	0,993
SD	0,088	0,076	0,090	0,094	0,084	0,081	0,086
N	4	40	23	88	117	34	306

**TABLA 2.1.** Longitud de tórax promedio (Y), Desvío standard (SD) y tamaño de muestra (N) para los cariotipos del cromosoma dos en las muestras de hembras emergidas (HE), hembras capturadas (HC), machos emergidos (ME) y machos capturados (MC) de *D. buzzatii* procedentes de la población natural de Arroyo Escobar.

Y SON  
DISTINTOS  
NOMÁS ...

El análisis de varianza realizado para comparar cariotipos, muestra diferencias significativas en la longitud del tórax sólo en la muestra de HE (Tabla 2.2a). Sin embargo, cuando se reúnen las ordenaciones 2J y 2Jz<sup>3</sup> en una misma clase cariotípica J●, los ANOVAs correspondientes revelan diferencias significativas no sólo para HE, sino también para ME (Tabla 2.2b).

FUENTE DE VARIACION				
	DF	MS	F	P
<b>HE</b>				
Entre cariotipos	5	0,0306	3,45	0,005
Regresión	2	0,0473	5,32	0,005
Desvío	3	0,0196	2,20	0,083
<b>ST / ST, ST / J•, J• / J•</b>				
Entre cariotipos	2	0,0481	5,41	0,005
Regresión	1	0,0946	10,65	0,001
Desvío	1	0,0016	0,18	0,680
Entre ST / J•	1	0,0102	1,15	0,280
Entre J• / J•	2	0,0260	2,93	0,056
Dentro	220	0,0089		
<hr/>				
<b>H Laboratorio</b>				
Entre cariotipos	5	0,0028	13,23	<0,0001
Regresión	2	0,0039	18,70	<0,0001
Desvío	3	0,0020	9,58	<0,0001
<b>ST / ST, ST / J•, J• / J•</b>				
Entre cariotipos	2	0,0034	16,43	<0,0001
Regresión	1	0,0068	32,60	<0,0001
Desvío	1	0,00005	0,24	0,63
Entre ST / J•	1	0,0003	1,35	0,25
Entre J• / J•	2	0,0033	15,55	<0,0001
Dentro	82	0,00021		

**TABLA 2.2a.** ANOVAs de un factor para detectar diferencias entre cariotipos de inversión del cromosoma 2, y análisis de regresión múltiple de la longitud del tórax sobre la dosis cromosómica para estimar el componente aditivo de la varianza cariotípica en hembras de *D. buzzatii* emergidas en la población natural (HE) y en laboratorio.

FUENTE DE VARIACION	DF	MS	F	P
<b>ME</b>				
Entre cariotipos	5	0,0111	1,79	0,115
Regresión	2	0,0182	2,95	0,054
Desvío	3	0,0063	1,03	0,381
<b>ST / ST, ST / J•, J• / J•</b>				
Entre cariotipos	2	0,0188	3,04	0,049
Regresión	1	0,0364	5,91	0,016
Desvío	1	0,0011	0,18	0,680
Entre ST / J•	1	0,0115	1,87	0,174
Entre J• / J•	2	0,0041	0,67	0,514
Dentro	215	0,0061		
<b>M Laboratorio</b>				
Entre cariotipos	5	0,0046	26,53	< 0,0001
Regresión	2	0,0083	48,02	< 0,0001
Desvío	3	0,0021	12,21	< 0,0001
<b>ST / ST, ST / J•, J• / J•</b>				
Entre cariotipos	2	0,0089	50,96	< 0,0001
Regresión	1	0,0157	90,30	< 0,0001
Desvío	1	0,00202	11,61	0,001
Entre ST / J•	1	0,00015	0,85	0,37
Entre J• / J•	2	0,0026	14,95	< 0,0001
Dentro	82	0,00017		

**TABLA 2.2b.** ANOVAs de un factor para detectar diferencias entre cariotipos de inversión del cromosoma 2, y análisis de regresión múltiple de la longitud del tórax sobre la dosis cromosómica para estimar el componente aditivo de la varianza cariotípica en machos de *D. buzzatii* emergidas en la población natural (ME) y en laboratorio.

Cuando empleamos el mismo procedimiento con machos y hembras capturados, las diferencias entre cariotipos en ningún caso resultan significativas (Tabla 2.3).

Es importante observar que al agrupar las inversiones derivadas y compararlas con la ordenación ancestral, se crean clases cariotípicas que podrían resultar heterogéneas (por ejemplo ST/J• y J• / J•), y en consecuencia la fuente de variación podría ser subestimada. Sin embargo, en este caso contrastes “a posteriori” muestran que, en general

las clases ST/J• y J•/ J• no son significativamente heterogéneas, con la única excepción de la clase J•/ J• en HE, que resulta marginalmente heterogénea (Tabla 2.2, componente Entre J•/ J•).

FUENTE DE VARIACION				
	DF	MS	F	P
<b>HC</b>				
Entre cariotipos	5	0,0167	1,691	0,13
Regresión	2	0,0113	1,141	0,32
Desvío	3	0,0203	2,051	0,11
ST / ST, ST / J•, J• / J•				
Entre cariotipos	2	0,0107	1,083	0,34
Regresión	1	0,0137	1,384	0,24
Desvío	1	0,0077	0,778	0,38
Entre ST / J•	1	0,0089	0,899	0,34
Entre J• / J•	2	0,0266	2,687	0,07
Dentro	288	0,0099		
<b>MC</b>				
Entre cariotipos	5	0,0055	0,738	0,59
Regresión	2	0,0109	1,473	0,23
Desvío	3	0,0018	0,243	0,87
ST / ST, ST / J•, J• / J•				
Entre cariotipos	2	0,0083	1,122	0,33
Regresión	1	0,0165	2,230	0,14
Desvío	1	0,0001	0,013	0,91
Entre ST / J•	1	0,0053	0,716	0,40
Entre J• / J•	2	0,0028	0,378	0,69
Dentro	300	0,0074		

**TABLA 2.3.** ANOVAs de un factor para detectar diferencias entre cariotipos de inversión del cromosoma 2, y análisis de regresión múltiple de la longitud del tórax sobre la dosis cromosómica para estimar el componente aditivo de la varianza cariotípica en hembras y machos de *D. buzzatii* capturados en la población natural (HC y MC respectivamente).

El análisis de regresión de la longitud del tórax sobre cada ordenación permite distinguir entre los componentes genéticos aditivos y no aditivos de la varianza. En la tabla 2.2 se pueden observar los resultados del análisis de regresión para cada muestra. La regresión para HE es altamente significativa, mientras que para ME resulta sólo

marginalmente significativa y en ambos casos el componente de desviación no es significativo. Por otra parte, al agrupar 2J y 2JZ<sup>3</sup> el análisis de regresión resulta significativo en ambas muestras. Análisis similares para HC y MC resultan no significativos, en concordancia con el análisis de varianza entre cariotipos.

Cabe destacar que en todas las muestras, incluyendo aquellas en las cuales los ANOVAs resultan no significativos, hay un efecto coincidente de las inversiones sobre la longitud del tórax: los individuos portadores de la ordenación 2ST son en promedio más pequeños que aquellos con ordenaciones derivadas (Tabla 2.1).

El análisis de componentes de varianza muestra que en HE el 5,1% de la varianza total es cariotípica, mientras que el correspondiente valor en ME es de sólo el 1,8%. No obstante, la mayor proporción de varianza cariotípica resulta aditiva en ambos sexos, 71% en HE y 98% en ME (Tabla 2.4)



MUESTRA	ORDENACIÓN	$\sigma'_A$	$\sigma'_D$	$\sigma'_k$	$\sigma'_i$	$\sigma'_e$
<b>H E</b>	Las tres	3,40	1,42	4,82	88,86	93,68
	ST y J•	3,79	-0,32	3,47		
<b>H Laboratorio</b>	Las tres	0,84	0,61	1,45	2,09	3,55
	ST y J•	0,75	-0,02	0,73		
<b>M E</b>	Las tres	1,09	0,02	1,11	61,64	62,75
	ST y J•	1,37	-0,23	1,14		
<b>M Laboratorio</b>	Las tres	1,86	0,66	2,52	1,74	4,26
	ST y J•	1,76	0,21	1,97		

$\sigma_A^2$  : varianza aditiva,  $\sigma_D^2$  : varianza de dominancia,  $\sigma_k^2$  : varianza cariotípica,  
 $\sigma_e^2$ : varianza ambiental, y  $\sigma_T^2$ : varianza total

**TABLA 2.4.** Contribución del cariotipo del cromosoma 2 a la varianza fenotípica de longitud de tórax (en  $\text{mm}^2 \times 10^{-4}$ ) en individuos de *D. buzzatii* emergidos en la naturaleza y en laboratorio.

En las muestras de adultos emergidos, en las cuales detectamos un efecto significativo del cariotipo, podemos estimar el efecto medio de cada ordenación cromosómica ( $\alpha_i$ ) como:

$$\alpha_i = Y_i - Y_{\text{TOTAL}}$$

donde  $Y_i$  es la longitud de tórax promedio de los individuos portadores de la ordenación  $i$ , e  $Y_{\text{TOTAL}}$  es la longitud del tórax promedio de la totalidad de individuos en la muestra. Los efectos medios estimados de cada ordenación son: 2ST: -0,032; 2J: +0,006; y 2JZ<sup>3</sup>: +0,013 en HE; y 2ST -0,017; 2J: +0,006; y 2JZ<sup>3</sup>: +0,004 en ME.

Estudios previos habían mostrado la existencia de efectos significativos del cariotipo sobre la longitud del tórax en líneas de laboratorio derivadas a partir de esta misma población (Hasson et al. 1992a). Resulta pertinente preguntarse si estos resultados en individuos de la población natural son comparables con aquellos obtenidos en condiciones de laboratorio. Con tal motivo reanalizamos los datos presentados en Hasson et al. (1992a) utilizando los métodos estadísticos presentados aquí. Este análisis revela diferencias altamente significativas entre cariotipos tanto en machos como en hembras de líneas de laboratorio (Tabla 2.2). Tanto el modelo de regresión como el componente de desviación son altamente significativos, sugiriendo que tanto la aditividad como la dominancia son fuentes importantes de variación. Al agrupar las ordenaciones derivadas, los resultados de las pruebas estadísticas son concordantes con la hipótesis de efectos no aditivos, ya que tanto en machos como en hembras de laboratorio las diferencias entre los cariotipos  $J/J$ ,  $J/JZ^3$  y  $JZ^3/JZ^3$  son altamente significativas, mientras que no se detectó heterogeneidad entre  $ST/J$  y  $ST/JZ^3$  (Tabla 2.2). Estos resultados sugieren que el heterocariotipo  $J/JZ^3$  podría ser sobredominante como fuera sugerido con anterioridad por Hasson et al. (1992a).

De hecho, si se examina detenidamente la Tabla 2.1 se observa que, excepto en la muestra de machos capturados, los individuos de la población natural cuyo cariotipo es  $J/JZ^3$  son de mayor tamaño que los individuos con homocariotipos  $J/J$  y  $JZ^3/JZ^3$ , un patrón que resultó ser marginalmente significativo en hembras emergidas (Tabla 2.2, componente entre  $J\bullet/J\bullet$ ).

Esta aparente diferencia entre los resultados obtenidos en la naturaleza y el laboratorio, podría explicarse por la menor variación ambiental en el laboratorio. En ambos casos el resultado sería una disminución en la varianza dentro de cada clase cariotípica, como se observa en los cuadrados medios del componente 'dentro' de la Tabla 2.2, y esto posibilita la detección de los efectos no-aditivos.

Otro aspecto importante acerca de la variación de la longitud del tórax en los individuos de las líneas de laboratorio, es que la varianza total es menor que en los individuos provenientes directamente de la población natural. Esta es una observación común en *Drosophila* debido a la menor varianza ambiental que existe al controlar las condiciones de cría en el ámbito del laboratorio. No obstante, es importante resaltar que la partición total de la varianza revela que, en hembras el 58% de la varianza cariotípica es aditiva, mientras que en machos este componente es del 74% (Tabla 2.4). Aún cuando estos valores muestran una disminución de varianza aditiva en las líneas de laboratorio, la diferencia entre sexos es comparable a la observada en los individuos de la población natural.

### **Tamaño corporal y longevidad**

El promedio de longitud de tórax de los individuos capturados es significativamente mayor que el de los emergidos ( $t = 4,52$   $p < 0,001$ ; y  $t = 8,25$   $p < 0,001$ ; en machos y hembras, respectivamente). Esta observación puede ser interpretada como el resultado de selección por longevidad favoreciendo a los individuos de mayor tamaño. Más recientemente, en Octubre de 1993, realizamos una captura en la misma población de Arroyo Escobar, en la cual se tomaron muestras de machos, emergidos y capturados, y pudimos confirmar estas

---

LOS MÁS  
VIEJOS SON  
MÁS GRANDES

---

observaciones; los MC (Media = 0,987 SD = 0,075 N=191) fueron significativamente más grandes que los ME (Media = 0,957 SD = 0,081 N=114) ( $t = 3,17$   $df = 302$   $p = 0,0017$ ). Sin embargo, la comparación de la longitud de tórax promedio de las muestras tomadas en 1990 y 1993 no resulta significativa ( $t = 0,24$   $p = 0,81$  y  $t = 0,82$   $p = 0,41$ ; en ME y MC, respectivamente) mostrando que *D. buzzatii* no está evolucionando hacia tamaños mayores en la población de Arroyo Escobar.

### **Componente Ambiental de la varianza de la longitud de tórax**

---

EL SUSTRATO  
ES COMO EL  
PAÍS,  
INFLUYE...

---

Para analizar los efectos del ambiente sobre la variación del carácter longitud de tórax, consideramos los sustratos de los cuales emergían los individuos como una posible fuente de variación además del sexo y las inversiones (Tabla 2.5) y realizamos un análisis de varianza de tres factores.

Esta prueba muestra diferencias significativas entre ordenaciones, lo cual es concordante con los resultados presentados en párrafos anteriores, y entre individuos provenientes de diferentes sustratos (Tabla 2.6).

INVERSIONES, TAMAÑO CORPORAL Y ADAPTACIÓN

SUST.	S1		J		Jz'		N
	M	H	M	H	M	H	
1	0,951 (0,162) N=6	0,995 (0,055) N=11	0,978 (0,131) N=18	1,023 (0,072) N=16	0,975 (0,134) N=9	0,985 (0,080) N=9	69
2	1,011 (0,023) N=5	0,982 (0,047) N=3	1,028 (0,052) N=17	0,963 (0,048) N=14	1,039 (0,049) N=12	0,967 (0,050) N=11	62
3	0,886 (0,030) N=7	0,868 (0,031) N=5	0,935 (0,077) N=13	0,885 (0,053) N=13	0,987 (0,050) N=6	0,895 (0,061) N=8	52
4	1,013 (0,072) N=3	0,936 (0,046) N=5	1,037 (0,065) N=15	0,986 (0,043) N=11	1,057 (0,074) N=11	0,943 (0,047) N=7	52
5	1,008 (0,109) N=4	1,023 (0,031) N=3	1,056 (0,093) N=13	1,035 (0,042) N=16	1,069 (0,092) N=8	1,023 (0,045) N=15	59
6	1,004 (0,042) N=5	0,876 (0,027) N=12	0,980 (0,057) N=15	0,883 (0,043) N=17	0,999 (0,043) N=9	0,901 (0,054) N=13	71
7	0,901 (0,057) N=12	0,918 (0,047) N=8	0,910 (0,052) N=30	0,932 (0,046) N=16	0,913 (0,047) N=18	0,938 (0,043) N=8	92

**TABLA 2.5.** Longitud de tórax promedio y desvío standard (en paréntesis) de machos (M) y hembras (H) de *Drosophila buzzatii* emergidos de los 7 sustratos más productivos de *Opuntia vulgaris* portadores de las tres ordenaciones del cromosoma 2 más frecuentes. N= número de individuos analizados.

FUENTE DE VARIACION	GL	MS	F	P
Ordenación	2	0,013	4,52	0,034
Sexo	1	0,118	2,97	0,135
Sustrato	6	0,106	24,73	< 0,0001
Ordenación por sexo	2	0,0075	4,02	0,046
Ordenación por sustrato	12	0,0028	0,66	0,789
Sexo por sustrato	6	0,0397	9,24	< 0,0001
Ordenación por sexo por sustr.	12	$1,9 \times 10^{-3}$	0,44	0,948
Dentro	415	$4,3 \times 10^{-3}$		

**TABLA 2.6.** ANOVA de tres factores para analizar las diferencias en longitud de tórax entre sexos y entre individuos portadores de diferentes ordenaciones cromosómicas (25T, 2J ó 2Jz3) y emergidos de diferentes sustratos de *O. vulgaris*.

La interacción ordenación por sexo que también resulta significativa, podría considerarse un resultado esperado, dada la diferencia de patrones que machos y hembras emergidos mostraron en el análisis presentado en la Tabla 2.2. En cambio, la ausencia de efectos significativos del factor sexo, así como la significación de la interacción sexo por sustrato, son resultados relativamente inesperados (Tabla 2.6). Al respecto, debe notarse que en 2 de los sustratos los machos resultan, en promedio, de mayor tamaño que las hembras (Tabla 2.5), contradiciendo el dimorfismo sexual normalmente observado en las especies de *Drosophila*. En general, las hembras son de mayor tamaño y emergen antes que los machos (observaciones de campo), y además hemos podido observar en el trabajo de campo, que hay una correlación negativa entre el tamaño corporal y el momento en que los adultos emergen del sustrato: en general, los primeros emergidos tienen, en promedio, mayor tamaño corporal.

**Cariotipo y longevidad**

En la Tabla 2.7 presentamos las frecuencias cariotípicas de las cuatro muestras, junto a los coeficientes de longevidad estimados para cada cariotipo en cada sexo.

	St/St	St/J	St/Jz <sup>3</sup>	J/J	J/Jz <sup>3</sup>	Jz <sup>3</sup> /Jz <sup>3</sup>	N
<b>HE</b>	0,019	0,168	0,084	0,324	0,324	0,076	262
<b>HC</b>	0,011	0,140	0,093	0,299	0,313	0,143	364
<b>W</b>	0,576 (0,147)	0,834 (0,025)	1,112 (0,084)	0,923 (0,012)	0,966 (0,013)	1,873 (0,220)	
<b>ME</b>	0,040	0,156	0,096	0,284	0,296	0,120	250
<b>MC</b>	0,012	0,131	0,064	0,295	0,397	0,102	343
<b>W</b>	0,293 (0,029)	0,841 (0,029)	0,668 (0,036)	1,037 (0,018)	1,339 (0,025)	0,850 (0,040)	

**TABLA 2.7.** Frecuencias cariotípicas en las muestras de individuos emergidos y capturados en una población natural de *D. buzzatii* y el coeficiente de selección cariotípica estimado (W) con el correspondiente desvío estándar entre paréntesis.

**RESULTADOS  
COHERENTES  
(MENOS MALI)**

La comparación de las frecuencias de inversión en emergidos y capturados muestra diferencias significativas tanto en machos ( $\chi^2 = 8,74$   $df = 2$   $P = 0,013$ ), como en hembras ( $\chi^2 = 6,23$   $df = 2$   $P = 0,049$ ).

En el análisis de componentes de selección realizado por Hasson et al. (1991), el componente de longevidad fue analizado por comparación de las frecuencias de inversión en una muestra de adultos capturados con las frecuencias en la progenie F<sub>1</sub> de parejas formadas al azar con individuos provenientes de una muestra de adultos emergidos de sustratos de *Opuntia vulgaris*. Cuando promediamos las frecuencias de inversión de machos y hembras en nuestras muestras de emergidos y la comparamos con las frecuencias cromosómicas de los adultos capturados, los resultados que obtenemos son consistentes con los reportados previamente. Esta repetibilidad en las estimaciones de la

longevidad confirma que no se trata de un efecto de la muestra, sino de una característica de la población.

El diseño experimental empleado en esta ocasión, al abordar un solo componente, permite trabajar con tamaños muestrales mayores y analizar la longevidad en cada sexo por separado.

Cuando se comparan las frecuencias de inversión por medio del estadístico  $\Delta p$  (Anderson et al. 1979), los resultados revelan patrones de selección por longevidad sexo-específicos. La frecuencia de la ordenación 2JZ<sup>3</sup> en HC es significativamente mayor que en HE, sugiriendo que las portadoras de esta ordenación tienen mayor viabilidad de adulto (Tabla 2.8). Por otra parte, en machos los resultados del análisis de  $\Delta p$  sugieren que 2ST disminuye la longevidad, ya que su frecuencia en MC es menor que en ME. En ambos casos, las variaciones de frecuencias observadas son compensadas principalmente por cambios marginalmente significativos en la frecuencia de 2J (Tabla 2.8).

		ST	J	JZ <sup>3</sup>	JQ <sup>+</sup>	N
<b>HEMBRAS</b>						
	H E	0,1450	0,5725	0,2805	0,0019	524
	H C	0,1277	0,5261	0,3462	---	728
	$\Delta p$	-0,0173 (0,190)	-0,0464 (0,052)	+0,0657 (0,007)		
<b>MACHOS</b>						
	M E	0,1680	0,5120	0,3160	0,0040	500
	M C	0,1093	0,5583	0,3324	---	686
	$\Delta p$	-0,0587 (0,002)	+0,0463 (0,057)	+0,0164 (0,276)		

**TABLA 2.8.** Frecuencias de inversiones del cromosoma 2 en muestras de individuos emergidos y capturados de *D. buzzatii* y los valores  $\Delta p / [\text{Var}(\Delta p)]^{1/2}$  para las comparaciones entre muestras. La significación figura entre paréntesis. N: número de cromosomas analizados



Dado que ambos sexos presentan diferentes patrones de selección por longevidad operando sobre las inversiones, es de esperar que las frecuencias de inversión en ambos sexos sean diferentes. Cuando comparamos las muestras mediante tablas de contingencia, no detectamos diferencias entre sexos ni en emergidos ( $\chi^2 = 5,7$ ;  $df = 5$ ;  $P=0,337$ ), ni en capturados ( $\chi^2 = 7,91$   $df = 5$   $P = 0,1$ ). Sin embargo, al realizar una prueba de  $\Delta p$ , que es más sensible que la prueba de  $\chi^2$  y permite analizar lo que ocurre con cada inversión por separado, podemos observar que existen diferencias entre sexos en la muestra de emergidos, las frecuencias de la ordenación 2J en ME y HE son significativamente diferentes ( $\Delta p = 0,065$ ,  $\Delta p/\text{Var}(\Delta p) = 1,94$   $P = 0,027$ ).

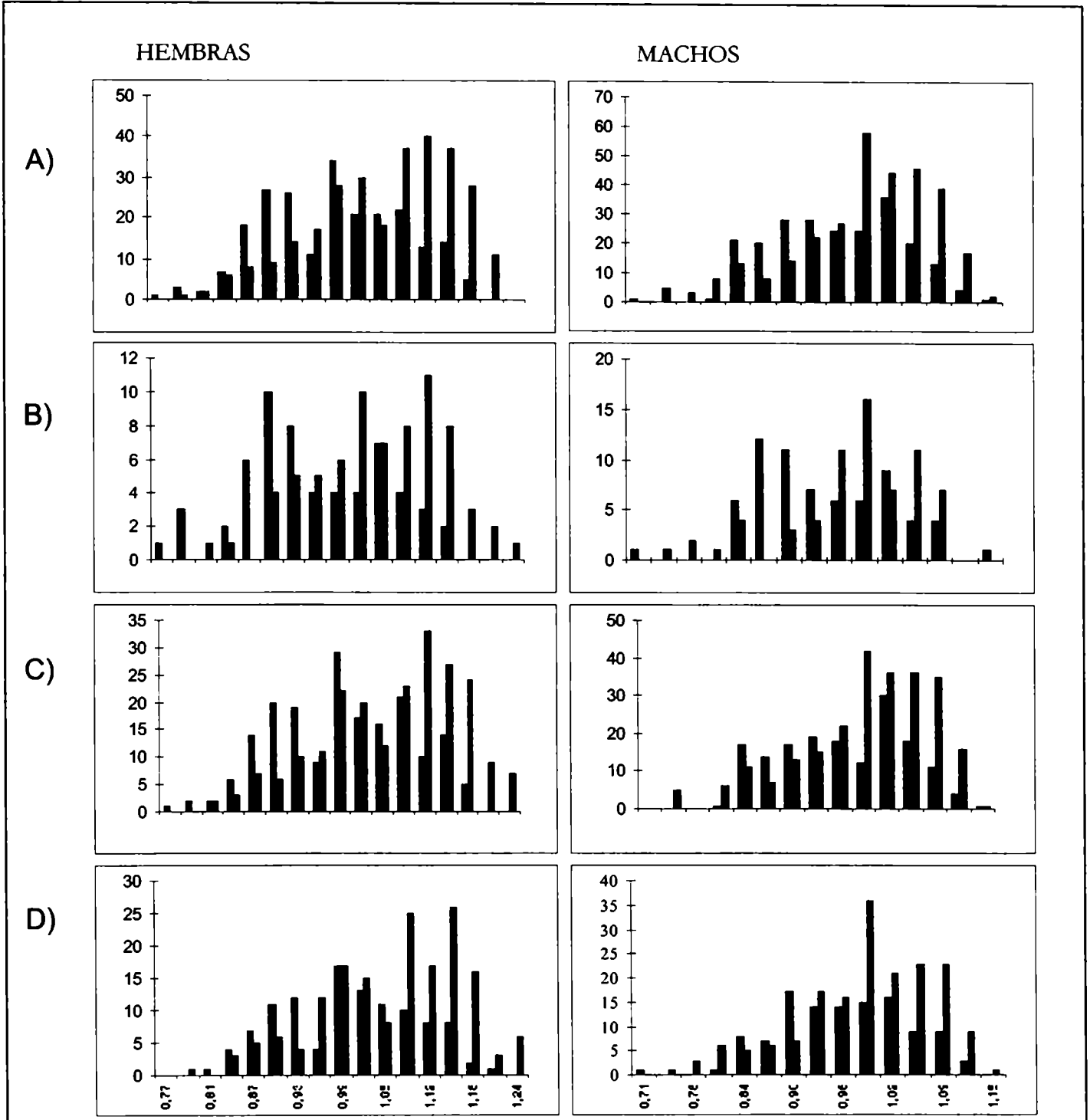
### **Tamaño corporal y selección cariotípica**

En las secciones previas hemos mostrado que las inversiones del cromosoma 2 tienen un efecto significativo sobre la longitud del tórax, que los individuos más grandes tienen un mayor tiempo de vida de adulto, y la existencia de longevidad diferencial entre las inversiones del cromosoma 2. En particular, la inversión 2JZ<sup>3</sup> tiene un efecto positivo tanto sobre el tamaño corporal como sobre la viabilidad de adulto. Esto nos llevó a preguntarnos si el efecto medio que las inversiones tienen sobre la longitud del tórax puede explicar las diferencias de longevidad observadas entre ordenaciones.

Una forma de abordar este tema es considerar una muestra pre-selectiva (HE y ME), formada por individuos de diferentes cariotipos. Cada clase cariotípica, formada por los individuos de un determinado cariotipo, presentará una cierta distribución para la longitud de tórax.

Como en la población total los individuos de mayor tamaño corporal son favorecidos por la selección (son más longevos), no hay motivos para pensar que dentro de cada clase cariotípica no ocurra lo mismo. En otras palabras, dentro de cada clase cariotípica los individuos de mayor tamaño estarán más representados en las muestras post-selectivas (HC y MC). Deberíamos poder analizar el componente de selección dentro de cada clase cariotípica, sin embargo algunas de ellas son poco frecuentes en la población natural, lo cual dificulta su análisis en forma aislada porque los tamaños de muestra resultarían muy pequeños. Para salvar esta dificultad planteamos esta cuestión a nivel de cada inversión individualmente, vale decir que las clases consideradas no están constituidas por los individuos de igual cariotipo sino por individuos portadores de una inversión determinada.

En la Fig. 2.2 se pueden observar las distribuciones de longitud de tórax en adultos emergidos y capturados para la muestra total y para cada ordenación. Las curvas de distribución para 2ST, 2J y 2JZ<sup>3</sup> en cada muestra son similares a la distribución en la muestra global respectiva. Más aún, todas las muestras de adultos emergidos son platicúrticas, mientras que las de adultos capturados son sesgadas hacia tamaños mayores (Tabla 2.9).



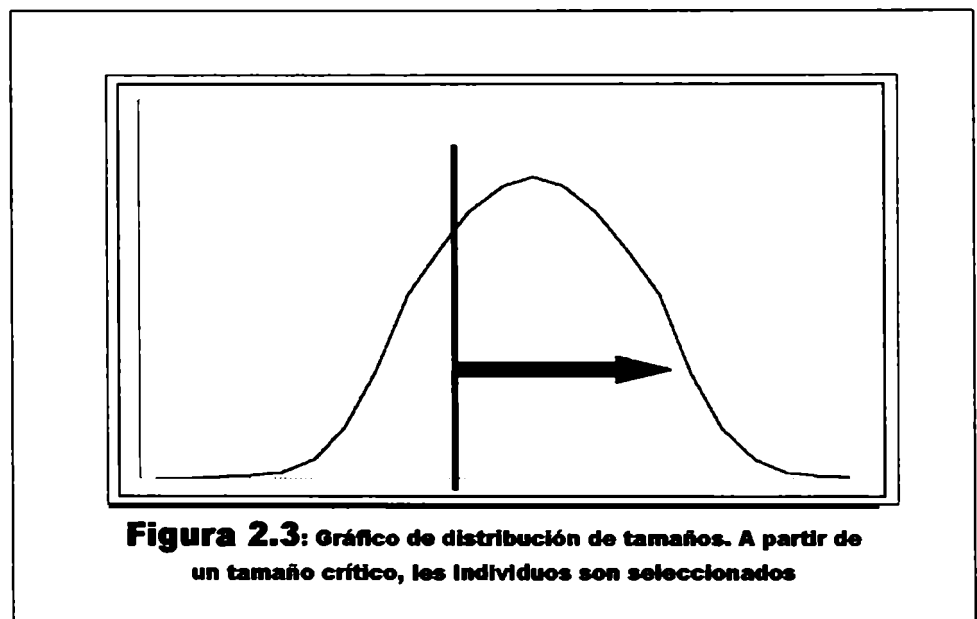
**Figura 2.2:** Distribución de la longitud de tórax en adultos de *D. buzzatii* emergidos (barras verdes) y capturados (barras rojas). Se incluyen hembras (izquierda) y machos (derecha) en las muestras globales (a) y en individuos portadores de las diferentes ordenaciones: b) ST, c) 2J y d) 2Jz<sup>3</sup> en la población natural de Arroyo Escobar.

Si consideramos un modelo de selección truncada, es posible estimar la intensidad de selección por longevidad ( $I$ ) para la longitud de tórax que actúa sobre los individuos portadores de cierta ordenación. De acuerdo a Falconer (1981):

$$I = (Y_{AC} - Y_{AE}) / \sigma_{AE},$$

donde  $Y_{AC}$  es la longitud de tórax promedio de los adultos capturados, y  $Y_{AE}$  es el promedio correspondiente para la muestra de adultos emergidos. La significación de  $I$  puede analizarse por medio de una prueba de  $t$  (Sokal y Rohlf 1981).

Por otra parte,  $I$  es la longitud de tórax promedio del grupo seleccionado a partir de una población con una distribución de carácter con media 0 y varianza 1. Si consideramos que el área debajo de la curva de distribución es 1, al restarle a 1 el valor de la integral entre  $-\infty$  y  $I(\rho_I)$ , podemos obtener la proporción de individuos seleccionados (Fig. 2.3).



$$P = 2(1 - \rho_I),$$

donde  $\rho_I = \int_{-\infty}^{\infty} F(z) \partial z$  (Falconer, 1981).

Mediante este cálculo, y asumiendo que la longitud del tórax sigue una distribución aproximadamente normal (Hasson et al. 1992; 1993), estimamos la intensidad de selección por longevidad (I) y la proporción de individuos seleccionados (P) para cada ordenación (Tabla 2.9).

		ST	J	JZ <sup>2</sup>	Global	N
<b>HE</b>	Y	0,959	0,997	1,004	0,991	226
	Var	9,8 10 <sup>-3</sup>	9,7 10 <sup>-3</sup>	8,7 10 <sup>-3</sup>	9,4 10 <sup>-3</sup>	
	G <sub>1</sub>	0,02	-0,40	-0,021	-0,039	
	G <sub>2</sub>	-1,01°	-2,01*	-1,782*	-2,173*	
<b>HC</b>	Y	1,050	1,069	1,065	1,063	294
	Var	8,5 10 <sup>-3</sup>	0,01	9,8 10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-3</sup>	
	G <sub>1</sub>	-1,21°	-3,02**	-2,61**	-3,46***	
	G <sub>2</sub>	-0,51	-1,33	-0,82	-1,27	
	I <sup>#</sup>	0,919***	0,731***	0,654***	0,734***	
	P	0,36 (21)	0,47 (87)	0,52 (57)		
<b>Frecuencia</b>	HC ESP	0,127	0,527	0,345		
	HC OBS	0,128	0,526	0,346		
	HE OBS	0,145	0,573	0,283		

G<sub>1</sub>: Sesgo estandarizado - G<sub>2</sub>: Kurtosis estandarizada - I: intensidad de selección - #: Significación de I (determinada por prueba de t) - P: proporción de individuos seleccionados (entre paréntesis, el número de hipotético sobrevivientes de la muestra HE).

°: 0,05 < p < 0,10    \*: p < 0,05    \*\*: p < 0,01    \*\*\*: p < 0,001

**TABLA 2.9 a. Análisis de la distribución de la longitud de tórax en hembras emergidas (HE) y capturadas (HC) para la muestra global y para cada ordenación cromosómica, junto con la estimación de la intensidad de selección fenotípica (I) y las frecuencias de inversión que se esperan en la muestra de capturadas de acuerdo al valor de I estimado**

A partir de la proporción de sobrevivientes, y considerando las muestras de adultos emergidos como representativas de la población

antes de la selección, es posible deducir la composición esperada en la población después de la selección por longevidad diferencial debida a las diferencias de tamaño corporal.

		ST	J	JZ <sup>3</sup>	Global	N
<b>ME</b>	Y	0,943	0,966	0,964	0,960	221
	Var	6,9 10 <sup>-3</sup>	6,6 10 <sup>-3</sup>	6,3 10 <sup>-3</sup>	6,3 10 <sup>-3</sup>	
	G <sub>1</sub>	0,50	-0,30	-0,86	-0,39	
	G <sub>2</sub>	-0,37	-2,71 <sup>*</sup>	-0,60	-2,08 <sup>*</sup>	
<b>MC</b>	Y	0,980	0,996	0,991	0,993	306
	Var	6,6 10 <sup>-3</sup>	7,5 10 <sup>-3</sup>	7,1 10 <sup>-3</sup>	7,4 10 <sup>-3</sup>	
	G <sub>1</sub>	-3,50 <sup>***</sup>	-5,49 <sup>***</sup>	-3,87 <sup>***</sup>	-6,07 <sup>***</sup>	
	G <sub>2</sub>	1,40	1,11	0,356	1,278	
	I <sup>#</sup>	0,445 <sup>*</sup>	0,369 <sup>***</sup>	0,340 <sup>**</sup>	0,417 <sup>***</sup>	
	P	0,66 (44)	0,71 (115)	0,73 (84)		
<b>Frecuencia</b>	MC ESP	0,181	0,473	0,346		
	MC OBS	0,109	0,558	0,332		
	ME OBS	0,168	0,512	0,316		

G<sub>1</sub>: Sesgo estandarizado - G<sub>2</sub>: Kurtosis estandarizada - I: intensidad de selección - #: Significación de I (determinada por prueba de t) - P: proporción de individuos seleccionados (entre paréntesis, el número de hipotético sobrevivientes de la muestra HE) - ∅: 0,05 < p < 0,10 \* : p < 0,05 \*\* : p < 0,01 \*\*\* : p < 0,001

**TABLA 2.9 b. Análisis de la distribución de la longitud de tórax en machos emergidos (ME) y capturados (MC) para la muestra global y para cada ordenación cromosómica, junto con la estimación de la Intensidad de selección fenotípica (I) y las frecuencias de inversión que se esperan en la muestra de capturados de acuerdo al valor de I estimado**

Para ilustrar este procedimiento, consideremos en detalle un caso particular. Por ejemplo las hembras portadoras de la ordenación 2JZ<sup>3</sup>, la longitud de tórax de estas hembras es en promedio de 1,004 mm (con un desvío standard: 0,093) para emergidas y 1,065 para capturadas (Tabla 2.9a). Estos valores dan una estimación de  $I = \{(1,065 - 1,004) / 0,093\}$

$I = 0,65$  y una proporción de adultos seleccionados de  $P = 2 (1 - \rho_{(0,65)})$   
 $P = 0,52$ . En otras palabras, a partir de nuestra muestra de 110 hembras  
 emergidas portadoras de  $2JZ^3$ , sólo 57 sobrevivirán para estar  
 representadas en la muestra post-selectiva. Usando el mismo  
 procedimiento para  $2J$  y  $2ST$ , calculamos que sólo 165 hembras de  
 nuestra muestra de emergidas sobrevivirían a la selección por tamaño,  
 por lo tanto es posible calcular las frecuencias esperadas después de la  
 selección. Estas frecuencias esperadas se presentan en las Tablas 2.9a y  
 2.9b, junto a las observadas en nuestra muestra de capturados. Puede  
 verse que para las hembras (Tabla 2.9a) hay una fuerte coincidencia entre  
 la distribución de frecuencias esperadas y observadas. En cambio en los  
 machos (Tabla 2.9b) la selección fenotípica debida al tamaño, daría una  
 distribución de frecuencias de inversión cualitativamente diferente a la  
 observada. A partir de las frecuencias en emergidos se esperaría un  
 incremento de  $ST$  y  $JZ^3$  ( $ST$ : 0,168 hasta 0,181 y  $JZ^3$ : 0,316 a 0,346) a  
 expensas de  $J$  que disminuiría (de 0,512 en emergidos a 0,473), sin  
 embargo lo que se observa es una disminución de  $ST$  y un incremento  
 de  $J$  y  $JZ^3$  (Tabla 2.9b).

## 2.5. Discusión

---

**SOBRE EL  
TAMAÑO**

---

Los resultados presentados aquí nos permiten asegurar que en esta  
 población los individuos de mayor tamaño son más longevos que los  
 más pequeños, lo cual es coincidente con estudios previos (Santos et al.  
 1992a; Hasson et al. 1993). Sin embargo cabría analizar la conveniencia  
 de elegir un carácter fenotípico como la longitud de tórax para este tipo

de análisis, ya que la selección por longevidad diferencial podría estar actuando sobre otros caracteres relacionados, lo cual resultaría en selección correlacional sobre la longitud del tórax. Como se mencionó en la introducción de este capítulo, Norry et al. (1995a) encontraron que el mayor éxito en el apareamiento que parecen tener los machos de *D. buzzatii* con mayor longitud de tórax, puede explicarse como el resultado de selección correlacional debida a un mayor ancho de cabeza. Si bien aquí no se utiliza un modelo multivariado para analizar la relación entre longevidad y caracteres cuantitativos, la elección del tamaño corporal, medido como longitud de tórax, puede ser acertada justamente por tratarse de un carácter fisiológica- y ecológicamente relevante, correlacionado con muchos caracteres fenotípicos (Roff, 1992). Si bien no podemos afirmar que sea el carácter blanco de la selección, podemos considerarlo un carácter en buena medida representativo del exofenotipo de los individuos.

---

HABRÁ  
MOSCAS CADA  
VEZ MÁS  
GRANDES?

---

Otra cuestión importante es lo concerniente a las consecuencias genéticas de la selección fenotípica favoreciendo a individuos de mayor tamaño. Dado que la selección es direccional, el conocimiento de la heredabilidad de la longitud de tórax podría permitirnos predecir la respuesta genética en tanto la selección no está actuando sobre caracteres correlacionados (Falconer 1981; Lande 1982). Prout y Barker (1989) y Ruiz et al. (1991) estimaron la heredabilidad para la longitud de tórax en dos poblaciones recientemente colonizadas de Australia y España respectivamente, y encontraron que es de un 6%. Del mismo modo, en Arroyo Escobar se obtuvieron estimaciones significativas de la heredabilidad para diferentes caracteres relacionados con el tamaño corporal, incluyendo la longitud de tórax (Norry et al. 1997). Por lo tanto



el carácter estudiado es heredable y está sufriendo selección direccional por longevidad. Estos datos sugieren dos posibilidades, o bien la población no está en equilibrio para el tamaño corporal, o existe algún proceso selectivo debido a otros componentes que se opone a la longevidad, estableciendo un sistema de retroalimentación negativa o situación de compromiso (*trade-off*). Aún cuando detectamos fuerte selección direccional favoreciendo a los individuos más grandes, el tamaño corporal permanece estable en el tiempo, en el corto plazo (Hasson et al. 1993) y en un período de tres años (período 1990-1993), dando sustento a la segunda interpretación. En este contexto, Santos et al. (1992a) encontraron que el tamaño corporal está positivamente correlacionado con tres componentes de la adecuación darwiniana, los tres de la fase adulta. Por lo tanto sería de esperar la existencia de una correlación negativa del tamaño corporal con algún componente temprano de la adecuación. Si bien tales correlaciones negativas entre componentes tempranos y tardíos no han sido demostradas en la naturaleza, estudios de laboratorio en *D. melanogaster* han mostrado que la selección a favor de individuos más grandes durante la fase adulta es compensada por la ventaja de desarrollos larvales más rápidos que producen individuos más pequeños (Wilkinson 1987) o por el incremento en la viabilidad larvaria de los individuos genéticamente más pequeños (Partridge y Fowler 1993; Santos et al. 1992b; 1994). Además, en *D. buzzatii* se ha observado que existe una correlación positiva entre el tamaño y el tiempo de desarrollo que implica un *trade-off*. Mientras que los portadores de la ordenación 2ST son más pequeños que los portadores de ordenaciones derivadas, los primeros desarrollan más rápidamente (Betrán et al., 1997; Fernandez Iriarte y Hasson, 1998) y/o

son más viables durante etapas inmaduras (Fernandez Iriarte y Hasson, 1998).

---

LOS GRANDES  
TIENEN  
INVERSIONES  
(COMO EN  
ECONOMÍA)

---

En individuos emergidos de cladodios de *O. vulgaris* se detectó un efecto significativo del cariotipo del cromosoma 2 sobre la longitud de tórax, pero no así en adultos capturados. Sin embargo, la tendencia observada en todas las muestras es concordante con observaciones previas tanto en Arroyo Escobar (Hasson et al. 1992a; Norry et al. 1995b), como en otras poblaciones (Ruiz et al. 1991; Fanara et al. 1997): individuos portadores de la ordenación 2S1 son en promedio más pequeños que los portadores de las ordenaciones 2J y 2JZ<sup>3</sup>

La muestra de adultos capturados, si bien se toma como aproximación a la muestra de adultos maduros, en realidad es una muestra de individuos de diferentes edades o cohortes, que crecieron en distintas condiciones ambientales y algunos no pertenecen a la muestra post-selectiva de longevidad asociada a longitud de tórax. Esto puede explicar la ausencia de un efecto significativo de las inversiones sobre la longitud de tórax en dichas muestras. Esta heterogeneidad de edades podría causar una disminución en la media del tamaño corporal y un incremento en la varianza, enmascarando las diferencias en longitud de tórax entre los diferentes cariotipos. Por otra parte, si consideramos que la población está compuesta por subpoblaciones de individuos portadores de diferentes ordenaciones cromosómicas, cada submuestra con su propia distribución del carácter, se esperaría que después de la selección por longevidad haya un incremento en las medias de las distribuciones para 2S1, 2J y 2JZ<sup>3</sup>. Las formas de las distribuciones para cada inversión son similares a la distribución global correspondiente, y en todos los casos las diferencias entre muestras antes y después de la

selección y entre ordenaciones son evidentes. En otras palabras, la selección por longevidad favorece individuos de mayor tamaño dentro de cada ordenación, llevando a una disminución de las diferencias entre ordenaciones.

---

SIEMPRE ES  
IGUAL,  
LOS ELLOS Y  
LAS ELLAS

---

Si bien detectamos un efecto significativo de las inversiones sobre la longitud del tórax en machos y hembras emergidos, es importante notar que los componentes de varianza son diferentes en ambos sexos. En machos, el único componente de la varianza cariotípica es el aditivo, mientras que en hembras también se detecta que el componente de dominancia es relativamente importante. Los valores de varianza cariotípica son significativamente mayores en individuos criados en laboratorio, pero las proporciones relativas de varianza aditiva y de dominancia en machos y hembras resultan consistentes con los resultados de campo. De hecho, en las hembras heterocarióticas  $J/JZ^3$  provenientes de la población natural hay indicios de sobredominancia (Tabla 2.1) como ya lo habían sugerido los resultados obtenidos en laboratorio por Hasson et al. (1992a).

Al tomar muestras de ambos sexos y analizar el componente selectivo sin suponer igualdad entre sexos, se pueden detectar aspectos sexo-específicos. Así, la ordenación  $2JZ^3$  parece incrementar la longevidad de las hembras mientras que la  $2S^1$  tiene el efecto contrario en los machos. En ambos sexos estos efectos son contrarrestados por cambios marginalmente significativos de  $2J$ .

Recientemente, Etges (1996) encontró un patrón de viabilidad sexo-específico similar en *D. robusta* asociada con el polimorfismo del cromosoma 2 de esta especie. Sin embargo, como en este caso, son precisos más estudios para poder esclarecer adecuadamente este aspecto.

No obstante, algunas de las observaciones presentadas aquí pueden proveer una posible explicación: la composición diferencial de la varianza cariotípica de la longitud de tórax en machos y hembras de *D. buzzatii* junto a la observación que en hembras la selección parece ser direccional, mientras que en machos habría algún tipo de ventaja del heterocigota, podrían resultar en patrones sexo-específicos.

Dado que las muestras de hembras y machos capturados resultan homogéneas, y no así las de emergidos, la longevidad diferencial en cada sexo parece estar compensando los efectos de patrones selectivos diferentes en estadios tempranos del ciclo de vida. En este sentido, Hasson et al. (1991) mostraron que la viabilidad pupal es un determinante de los cambios de frecuencia durante el ciclo de vida. Sin embargo, los efectos de 2ST y 2J, favorable y perjudicial respectivamente para la viabilidad pupal, fueron considerados en promedio entre los sexos, debido a las limitaciones del protocolo seguido para el análisis de los componentes de la selección natural (Ruiz et al. 1986; Hasson et al. 1991).

Tanto Ruiz et al. (1986) como Hasson et al. (1991) encontraron que la ordenación 2JZ<sup>3</sup> tiene efectos negativos sobre un componente temprano de la adecuación, la fecundidad. Nuestros resultados muestran que favorece un componente adulto, la longevidad, lo cual sugiere que esta ordenación tiene el potencial para una relación de *trade-off* sobre la adecuación. De acuerdo con Templeton y Johnston (1988), un carácter que resulta beneficioso en una etapa de la vida y perjudicial en otra, puede estar sujeta a lo que estos autores denominan adaptación demográfica. Dado que el efecto neto en la población de estos componentes antagónicos dependería de la estructura de edades de la

población, el régimen selectivo en una población dependerá de la composición demográfica de la misma. Como fue planteado para el síndrome abdomen abnormal en *D. mercatorum* (Templeton y Johnston 1988, Templeton et al. 1989; 1990), bajo condiciones de mayor temperatura y menor humedad, la probabilidad de supervivencia de adulto es menor, y la estructura de edades es joven. En estas condiciones el componente fecundidad resulta dominante frente a la viabilidad, mientras que será menos importante cuando la estructura de edades es más añosa. Resulta interesante que en Argentina donde la humedad está positivamente correlacionada con la latitud, la ordenación 2JZ<sup>3</sup> varía clinalmente mostrando mayores frecuencias en poblaciones meridionales (Hasson et al. 1995) donde, de acuerdo al enfoque de adaptación demográfica, sería de esperar que la longevidad fuera más importante. Más aún, la ordenación 2J, que presenta una relación de *trade-off* opuesta, muestra frecuencias mayores en poblaciones áridas de altura, en coincidencia con nuestras predicciones.

Por último, hemos mostrado que, a partir del efecto medio que las inversiones tienen sobre la longitud del tórax y la intensidad de la selección fenotípica, es posible predecir, al menos en las hembras, el cambio de frecuencias debido a longevidad diferencial. La metodología empleada para tal fin es básicamente idéntica al modelo de Kimura y Crow (1978), y descansa en dos supuestos, una distribución aproximadamente normal del carácter fenotípico y un efecto pequeño del genotipo sobre el fenotipo, los cuales, parecen razonables en nuestro caso; aún cuando en lo que concierne a la distribución del carácter se trata de una aproximación.

---

Y PODRÍA SER  
POR EL  
TAMAÑO,  
NO MÁS ...

---

Si bien no es fácil a partir de nuestros datos deducir las posibles causas de las diferencias entre sexos, los resultados presentados recientemente por Nuzhdin et al. (1997) sobre los efectos de loci de caracteres cuantitativos que afectan la longevidad en *D. melanogaster*, sugieren una posible explicación. Estos autores realizaron un análisis del efecto de loci cuantitativos (QTLs) sobre el tiempo máximo de vida, para lo cual se utilizaron líneas recombinantes híbridas para varios marcadores moleculares localizados, que les permitieron monitorear el genoma y mapear los QTLs localizados entre estos marcadores que afectan la longevidad. Los QTLs mostraron fuertes efectos sexo-específicos sobre la longevidad y mapearon en una región determinada del genoma.

Por otra parte, algunas de nuestras observaciones proveen evidencias a tener en cuenta. En las hembras, la correlación entre inversiones y longitud de tórax es más importante, y la selección fenotípica es mayor. Por otra parte, la selección es direccional en hembras mientras que en machos los heterocariotipos J/JZ<sup>3</sup> parecen ser los más favorecidos.

Estos resultados sugieren una línea de investigación que nos podría conducir a un mejor entendimiento de los procesos selectivos que modulan el polimorfismo de inversiones en *D. buzzatii*. La búsqueda de diferencias en su contenido genético, diferencias que existirían también en loci de caracteres cuantitativos asociados al sistema de inversiones, y que les confieren su valor adaptativo.



## **Contenido genético del cromosoma 2 de *D. buzzatii***

*Más allá de la apariencia, lo que importa está dentro de ti...*

Cuando encontramos que las inversiones del cromosoma 2 están involucradas en procesos selectivos, o que tienen efectos sobre el fenotipo, estamos viendo el resultado de diferencias genéticas entre ellas.

### **3.1. Resumen**

---

**EN POCAS  
PALABRAS...**

---

Ya sea por efectos de posición, o por diferencias en el contenido genético, las inversiones no son genéticamente equivalentes, ya que se traducen en diferencias fenotípicas, tanto morfológicas como funcionales, y adaptativas. Con el objeto de intentar aclarar las bases genéticas de las diferencias, realizamos un análisis de la variabilidad genética presente en las distintas ordenaciones del cromosoma 2 que segregan en las poblaciones naturales del área de origen de la especie (Sudamérica).

Mediante cruzamientos de machos salvajes capturados en poblaciones naturales, con hembras de cepas de composición genética conocida,

---



aislamos y pusimos en homocigosis cromosomas 2. El posterior análisis citológico y genético de los mismos nos permitió determinar los haplotipos presentes en muestras provenientes de poblaciones naturales, tanto en lo concerniente a la ordenación cromosómica como al genotipo de siete loci enzimáticos. El análisis de estos haplotipos permitió establecer cuán diferentes genéticamente son los cromosomas portadores de diferentes ordenaciones y detectar la existencia de desequilibrios gaméticos entre alelos de loci enzimáticos y las inversiones.

El análisis de los desequilibrios entre las inversiones y los loci enzimáticos y entre pares de loci, permitió además indagar las posibles causas de los desequilibrios detectados.

### 3.2. Introducción

---

DESDE EL  
PRINCIPIO

---

Una suposición básica en los estudios de polimorfismos de inversión es que éstas son eventos únicos, es decir que sólo ocurren una vez en la historia evolutiva. En consecuencia, los cromosomas portadores del mismo fenotipo citológico deberían ser monofiléticos. Así cuando surge una nueva inversión captura un conjunto determinado de alelos de los loci que comprende. Esta secuencia será el ancestro de todos los cromosomas con la misma ordenación presentes en la especie, y además estará protegida de la recombinación, ya que la misma está restringida en los heterocariotipos. Por lo tanto, en una primera etapa, todos los cromosomas con igual secuencia o inversión, tendrán la misma combinación alélica en los loci ubicados en la zona invertida (y en la región próxima a los sitios de rotura). En la medida en que ocurran dobles entrecruzamientos o conversión génica en los heterocigotas estructurales, y mutaciones que restablezcan la variabilidad dentro de la nueva inversión, este desequilibrio gamético entre loci e inversiones disminuirá con el tiempo, pero hasta tanto esto no ocurra persistirán las diferencias entre ordenaciones respecto del contenido genético. Estas diferencias podrían proveernos de una explicación causal de los efectos fenotípicos de las inversiones, tanto de aquellos relacionados con el valor adaptativo como los morfológicos.

---

EL  
MANTENIMIEN  
TO

---

Wasserman (1972) planteó tres hipótesis para explicar el mantenimiento selectivo de los polimorfismos cromosómicos. Este autor propone que la selección podría operar a tres niveles diferentes: cromosómico o cariotípico, a nivel génico y a nivel supergénico. La selección a nivel cromosómico tendría lugar cuando cada ordenación

está adaptada a condiciones ambientales o microambientales particulares. De este modo, el polimorfismo estaría 'protegido', ya que en cada parche de un ambiente heterogéneo se ve favorecido un homocariotipo diferente. La selección a nivel génico implica que el valor selectivo de la ordenación es explicado por la dominancia o sobredominancia de los alelos capturados por la inversión, sin que existan interacciones entre los loci ubicados dentro de ésta. La ordenación sólo actúa como vehículo de estos alelos y el polimorfismo cromosómico se mantiene por heterosis positiva del heterocariotipo debida a que es heterocigota para dichos alelos. Por último, la selección a nivel supergénico considera el orden y las interacciones epistáticas entre los loci como propiedades cruciales para generar coadaptación dentro de la inversión y esta coadaptación es la que confiere el valor adaptativo. En cada población podrían existir diferentes supergenes dentro de cada familia de ordenaciones y la recombinación en el homocariotipo de distintos supergenes de una misma familia destruiría los supergenes coadaptados. Esto tendría como consecuencia un régimen de selección dependiente de la frecuencia en contra del homocariotipo más común, el cual contribuiría al mantenimiento selectivo del polimorfismo.

---

LAS  
DIFERENCIAS  
SIEMPRE  
ESTÁN

---

Sin embargo, existe un aspecto en común para las tres hipótesis. Ya sea para que distintos homocariotipos sean aptos en distintos ambientes, para que el heterocariotipo tenga alguna ventaja adaptativa, o por selección de ciertos supergenes, se acepta que existen diferencias genéticas entre las distintas ordenaciones.

Una manera de estudiar el contenido genético de un cromosoma es obtener el genotipo para una muestra de loci localizados en él. En tal

sentido, los loci isoenzimáticos proveen de numerosos marcadores que potencialmente permiten este tipo de análisis (Lewontin, 1970).

En *Drosophila buzzatii*, más del 50 % de los loci isoenzimáticos polimórficos conocidos se han localizado en el cromosoma 2 (Sánchez, 1986), donde también se encontraron más del 50 % de los mutantes autosómicos visibles (Knibb et al., 1987; Schafer et al., 1993), y es este cromosoma prácticamente el único que presenta polimorfismo de inversiones (Knibb y Barker, 1988; Fontdevila et al., 1981; Ruiz et al. 1984; Barker et al., 1985; Hasson et al., 1995). Esta acumulación de variabilidad a distintos niveles en el cromosoma 2, plantea dos posibles explicaciones. La primera es que una proporción de la variabilidad genética podría ser consecuencia de la presencia del polimorfismo de inversiones, ya que si éste es mantenido por selección, cada ordenación consistiría de distintas secuencias de genes que están impedidos de recombinar. En este caso, la selección natural que opera sobre el polimorfismo cromosómico llevará al mantenimiento de la variabilidad genética, aún cuando ésta sea neutra (*hitchhiking*).

Otra posible explicación es que el polimorfismo de inversiones sea consecuencia del polimorfismo génico. Vale decir que la selección natural estaría jugando un papel preponderante en el mantenimiento de las inversiones en la población debido a las diferencias en su contenido. Así, una inversión que ocurra en un cromosoma genéticamente monomórfico, no será diferente en su contenido genético de la ordenación ancestral, resultando neutra, y no llegará a establecerse en la población. La única posibilidad de que un polimorfismo de inversiones sea mantenido en una población natural es que se trate de inversiones ocurridas en un cromosoma genéticamente polimórfico.

---

POLIMORFIS-  
MOS Y  
ADAPTACIÓN

---

En varios trabajos se ha mostrado que tanto el polimorfismo de inversiones del cromosoma 2 de *D. buzzatii* como la variabilidad en algunos loci enzimáticos localizados en este cromosoma tienen importancia adaptativa. En el caso del primero, se ha encontrado que las inversiones confieren diferencias en los valores adaptativos de sus portadores en distintas fases del ciclo de vida (Ruiz et al., 1986; Hasson et al., 1991; Barbadilla et al. 1994; Fanara et al., 1996; Rodríguez et al., 1998). En tanto que en los casos de los loci enzimáticos Esterasa-1, Esterasa-2 y Aldehídoxidasas, su importancia adaptativa se ha inferido tanto a partir de investigaciones de cambios temporales y espaciales de las frecuencias alélicas en la naturaleza (Mulley et al., 1979; Barker & East 1980; Barker et al., 1986a; Sokal et al., 1987), como a partir de experimentos de laboratorio (Barker et al., 1981; Barker et al., 1986b) o respuestas a "shocks" térmicos (Watt 1981). Sin embargo, se ha demostrado que estos loci, localizados dentro o próximos al segmento involucrado en las inversiones, están en desequilibrio gamético con las inversiones en varias poblaciones de Australia y Europa (Knibb et al., 1987; Quesada-Díaz, 1993; Betrán et al., 1994). Por lo tanto, las inversiones podrían ser el blanco primario de la selección, y los alelos enzimáticos en desequilibrio gamético con ellas, simplemente estar siendo arrastrados por las diferentes ordenaciones (*hitchhiking*).

---

LAS GEMETAS  
FUERA DEL  
EQUILIBRIO

---

Mayormente se acepta que el descenso del desequilibrio por dobles entrecruzamientos, mutación o conversión génica es extremadamente lento (Hedrick et al., 1978) y dada la restricción recombinacional en los heterocariotipos, el desequilibrio entre enzimas e inversiones puede ser explicado, también, por procesos históricos. Es decir que el desequilibrio gamético generado en el origen de la inversión no habría desaparecido

simplemente porque no ha transcurrido el tiempo suficiente. Estos desequilibrios entre alelos de loci isoenzimáticos e inversiones podría causar a su vez desequilibrio entre alelos de diferentes loci asociados a una misma inversión, sin que haya un proceso de coadaptación de los marcadores enzimáticos. Recíprocamente, un alelo asociado a una inversión que presente desequilibrio gamético con otro locus (por ejemplo por selección), podría causar una asociación entre este último locus y la inversión, aún cuando no haya asociación física entre ellos que lo justifique.

Dado el grado de complejidad que se plantea a partir de las asociaciones génicas, tanto para clarificar las causas del valor adaptativo de las inversiones, así como de los polimorfismos enzimáticos localizados en el cromosoma 2, es preciso abordar el análisis de los desequilibrios gaméticos y asociaciones de alelos enzimáticos con las ordenaciones cromosómicas en las poblaciones naturales.

---

LO QUE  
VIENE

---

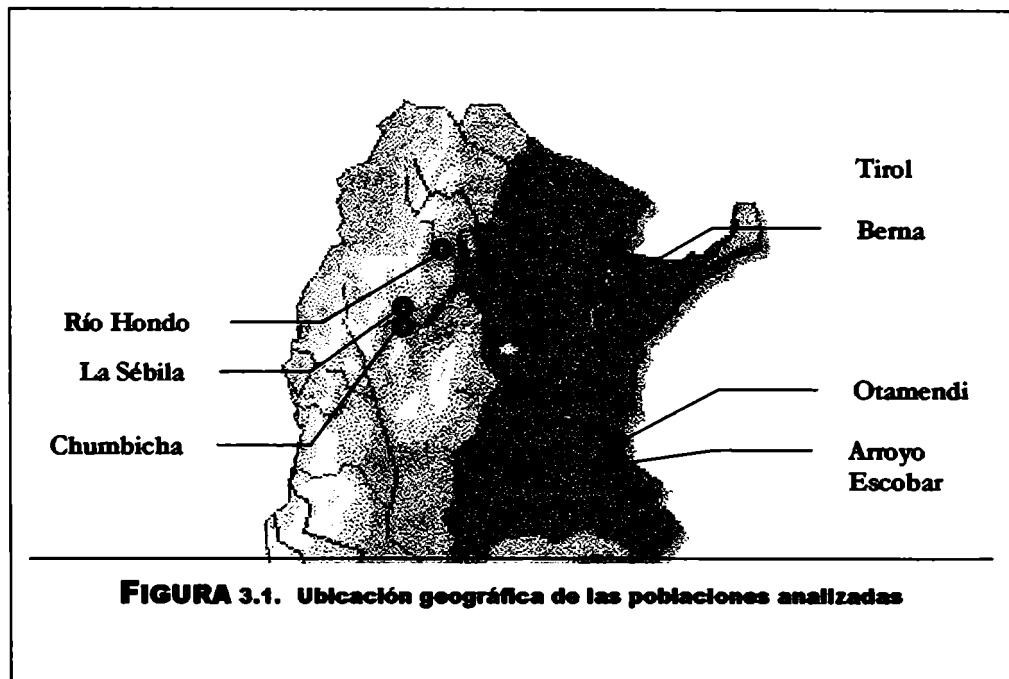
En este capítulo se presenta el análisis de muestras de haplotipos provenientes de diferentes poblaciones naturales de *D. buzzatii* ubicadas en distintas regiones fitogeográficas de su área de origen. El objetivo en este caso es detectar las posibles asociaciones entre alelos enzimáticos y ordenaciones cromosómicas, así como entre alelos de diferentes loci enzimáticos. La realización del análisis en distintas regiones de su área de origen permite analizar además, la constancia de dichas asociaciones, y comparar los resultados con los reportados en poblaciones colonizadoras de Australia y el Viejo Mundo (Knibb et al., 1987; Betrán et al., 1994), donde ocurrió un evento fundador más reciente. Las localidades que se muestrearon fueron escogidas de acuerdo a los

patrones de variación macrogeográficos descritos por Hasson et al. (1995).

### 3.3. Metodología

**LAS  
POBLACIONES**

Para este estudio tomamos muestras de adultos de siete poblaciones ubicadas en tres Provincias fitogeográficas diferentes: Chumbicha, La Sebila y Río Hondo en la región del Chaco Occidental; Berna y Tirol en el Chaco Oriental; Otamendi y Arroyo Escobar en La Pampa (Fig. 3.1), todas dentro del dominio Chaqueño (Cabrera, 1976).



**FIGURA 3.1. Ubicación geográfica de las poblaciones analizadas**

### Diseño experimental

**LA  
ESTRATEGIA...**

Nos interesa contar con una muestra de haplotipos de cada una de las poblaciones.

En los machos de *Drosophila* no ocurre entrecruzamiento, de modo que transmiten los cromosomas a sus descendientes tal como los

recibieron de sus progenitores. En la descendencia del cruzamiento de un macho de la población por hembras de una cepa de laboratorio, todos los individuos tienen un cromosoma proveniente de la población natural (del padre) y otro proveniente de la cepa endocriada (de la madre). Los machos de esta generación transmitirán al cincuenta por ciento de sus descendientes el cromosoma proveniente de la población natural con su composición genética intacta. Esta particularidad de la meiosis, permite aislar y amplificar cromosomas, a partir de cruzamientos con hembras de una cepa portadora de letales balanceados. El esquema de los cruzamientos necesarios para obtener individuos de *D. buzzatii* homocigotas para todo el cromosoma 2 se presenta en la Fig. 3.2. Brevemente, la descendencia  $F_1$  del cruzamiento entre un macho salvaje y una hembra de la cepa de letales balanceados tendrá un cromosoma proveniente de la población natural, y otro con el sistema de letales. Al cruzar un macho de esta generación con hembras de la misma cepa, el cincuenta por ciento de la descendencia  $F_2$  que hereda el cromosoma proveniente de la cepa muere por que son homocigotas para los letales, mientras que los restantes, que pueden ser reconocidos por la mutación somática visible asociada al sistema de letales, son todos portadores del mismo cromosoma proveniente de la población natural (Dobzhansky et al., 1980). Al tomar machos y hembras de la  $F_2$  de fenotipo salvaje se producirán descendientes homocigotas para uno de los cromosomas 2 que llevaba el macho capturado en la población natural. De este modo, mediante esta serie de cruzamientos es posible obtener una generación de individuos que tienen copias de un mismo cromosoma de la población natural.



En el caso de *D. buzzatii* contamos con una cepa de laboratorio gentilmente provista por el Profesor Dr. J. S. Barker, portadora de un sistema de letales balanceados asociados al cromosoma 2 y que lleva en cada uno de sus homólogos las mutaciones dominantes Antennapedia y  $\Delta^5$  (Barker, 1995). De manera que aplicando el procedimiento de cruzamientos descritos en la Fig. 3.2, pudimos obtener una muestra de haplotipos del cromosoma 2 presentes en varias poblaciones naturales.

### Obtención de las muestras

La muestra de Arroyo Escobar fue tomada en Marzo de 1995 por C. Rodríguez, E. Levy y E. Hasson. Las correspondientes a las poblaciones del Chaco Occidental fueron obtenidas en abril de 1995 por C.

Rodríguez y E. Levy. Las del Chaco Oriental en Octubre del mismo año por P. Fernandez-Iriarte, A. Fontdevila y E. Hasson. Por último, en Octubre de 1996 se obtuvo la muestra de la población de Otamendi. En esta captura participaron C. Rodríguez, Romina Piccinalli y E. Hasson.

En todos los casos, se colectaron adultos, utilizando como cebo trampas de banana fermentada y por medio de redes entomológicas. Los machos capturados fueron cruzados individualmente con hembras vírgenes de la cepa de letales balanceados Antennapedia/ $\Delta^5$ . Después de 48 horas los machos fueron congelados a  $-70^\circ\text{C}$  en un ultracongelador Kelvinator, y los tubos con la progenie se mantuvieron hasta el nacimiento de la descendencia.

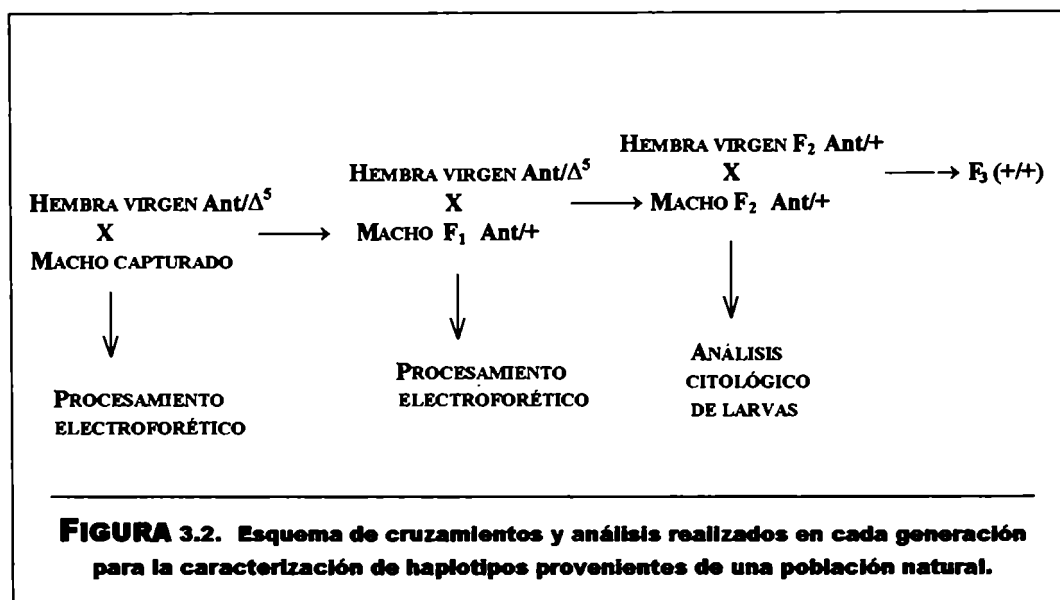
Un macho de la descendencia ( $F_1$ ) de cada individuo capturado en la población fue nuevamente cruzado individualmente con hembras vírgenes de la misma cepa, y 48 hs más tarde congelado a  $-70^\circ\text{C}$  (Fig. 3.2). El análisis citológico de cinco larvas de la descendencia de cada uno de estos cruzamientos, permitió detectar el ordenamiento del

---

AHORA  
PERSEGUIMOS  
MACHOS ...!!!

---

cromosoma proveniente de la población natural (uno de los dos del macho salvaje), que fue aislado en la F<sub>1</sub> al tomar un único individuo macho de la descendencia.



DESPANZU-  
RRANDO  
LARVAS Y  
ELECTRO-  
CUTANDO  
MOSCAS...

### El análisis de los sistemas genéticos

El análisis citológico de los cromosomas gigantes de las glándulas salivares se realizó siguiendo una metodología tradicional de aplastado en una solución de orceína 2 % en 6 partes de ácido acético : 4 partes de ácido láctico (Fontdevila et al., 1981). Mediante este análisis en la descendencia F<sub>2</sub> se pudo determinar la ordenación presente en la gameta proveniente del macho capturado en la población natural.

El análisis electroforético de los machos capturados permitió determinar su genotipo para cada uno de los loci enzimáticos analizados. El análisis electroforético simultáneo del macho F<sub>1</sub> que se escogió para continuar el procedimiento, permitió detectar, a su vez el haplotipo de

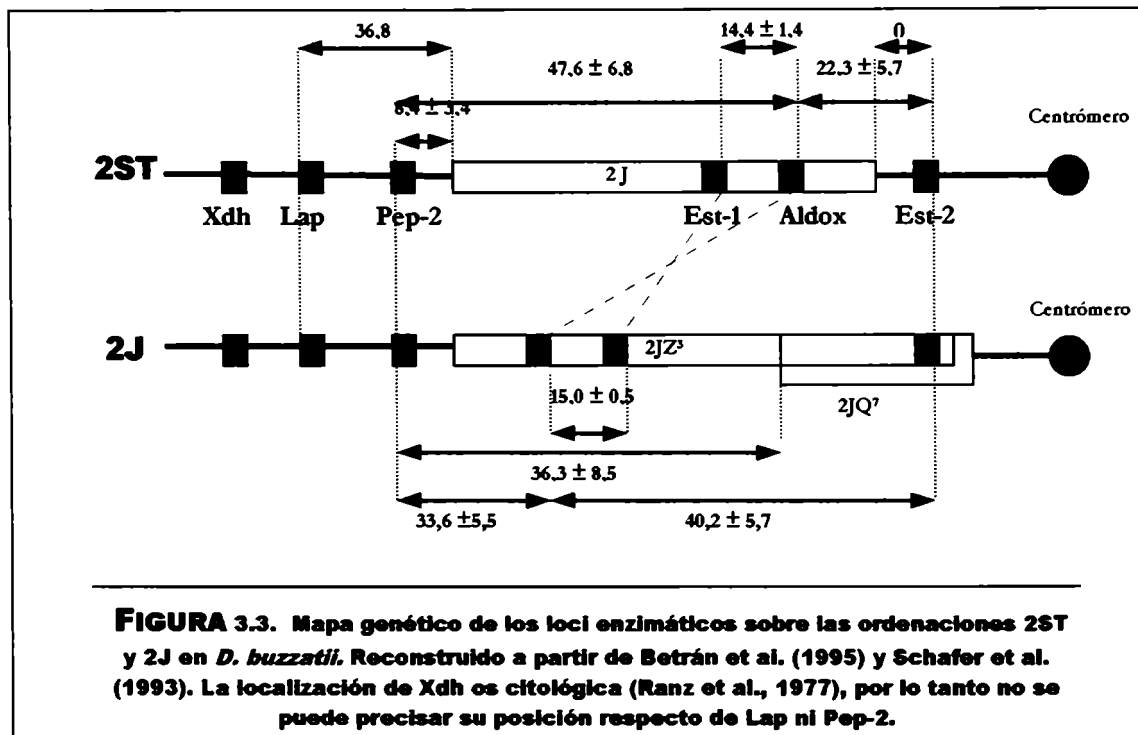
la gameta que cada individuo salvaje transmitió a la F<sub>1</sub> y por comparación con el genotipo del progenitor, se pudo deducir el otro haplotipo presente en el macho capturado. De este modo, de cada macho capturado se determinó la composición alélica de los sistemas enzimáticos en los dos haplotipos, y para uno de los haplotipos, el que dio origen al macho F<sub>1</sub> de cada línea, también se pudo conocer su ordenación cromosómica.

Fueron analizados siete loci isoenzimáticos que se sabe mapean en el cromosoma 2 (Schafer et al., 1993; Betrán et al., 1994). Seis de estos loci han sido mapeados respecto del sistema de inversiones (ver Fig. 3.3). Esterasa-1 (Est-1) y Aldehído oxidasa (Aldox) están localizados en los segmentos comprometidos por las inversiones; Esterasa-2 (Est-2) está ubicado en los segmentos que cambian de orientación por las inversiones 2JZ<sup>3</sup> y 2JQ<sup>7</sup>. Peptidasa-2 (Pep-2), Leucil-aminopeptidasa (Lap) y Xantin-deshidrogenasa (Xdh) están fuera de los segmentos involucrados por las inversiones y a diferentes distancias de los sitios de rotura. Respecto de Peptidasa-1 (Pep-1), sólo se sabe que mapea en el cromosoma 2 pero no se conoce su ubicación.

El análisis electroforético se realizó siguiendo los métodos descritos por Barker y Mulley (1976), Barker et al. (1986), y Sánchez (1986), sobre los cuales se introdujeron las modificaciones que se detallan en el Apéndice 3a.

Para la interpretación de los geles se contó con cepas control de genotipo conocido provistas gentilmente por los Drs. A. Fontdevila (Departamento de Genética y Microbiología, Universidad Autónoma de Barcelona, España) y J. S. F. Barker (Department of Animal Science,

University of New England, Australia). Estos controles permitieron reconocer los alelos enzimáticos respetando la nomenclatura utilizada por Barker y Mulley (1976), Sánchez (1986) y Betrán et al. (1994).



**CONTANDO  
HAPLOTIPOS ...**

**Análisis estadístico**

El desequilibrio de ligamiento puede ser definido como la diferencia entre las frecuencias de haplotipos observados y esperados bajo la hipótesis de combinación aleatoria de los alelos de cada locus. La hipótesis de que en promedio ninguna de las combinaciones de alelos de un par de loci se aparta de lo esperado, puede ser corroborada usando una prueba de  $\chi^2$  (Weir, 1996; pg. 94), que equivale a una tabla de contingencia ( $X^2_T$ ).

Para dos alelos de dos loci diferentes, digamos el alelo u del locus A y el alelo v del locus B, el desequilibrio gamético será

$$D_{uv} = p_{uv} - (p_u p_v)$$

siendo  $p_{uv}$  la frecuencia observada del haplotipo  $uv$ ;

$p_u$  y  $p_v$  las frecuencias alélicas de  $u$  y  $v$  respectivamente.

La hipótesis de ausencia de desequilibrio gamético entre los alelos  $u$  y  $v$  ( $H_0 : D_{ab} = 0$ ), puede ser puesta a prueba mediante el estadístico

$$X_{uv}^2 = 2 n D_{uv}^2 / p_u (1 - p_u) p_v (1 - p_v)$$

que sigue una distribución  $\chi^2$  con un grado de libertad (Weir, 1996; pg. 113) y donde  $n$  es el número de gametas analizadas.

---

MÁS DE DOS  
LOCI

---

Para describir el desequilibrio entre más de dos loci, de acuerdo a la formulación de Bennett (1954), el desequilibrio de ligamiento entre los alelos  $u$ ,  $v$  y  $z$  de los loci  $A$ ,  $B$  y  $C$  es

$$D_{uvz} = p_{uvz} - p_u D_{vz} - p_v D_{uz} - p_z D_{uv} - p_u p_v p_z$$

Para simplificar la expresión de la varianza de este estimador, se definen las cantidades  $\pi_u$  y  $\tau_u$  para el alelo  $u$  :

$$\pi_u = p_u (1 - p_u), \text{ y } \tau_u = (1 - 2 p_u),$$

siendo entonces:

$$\begin{aligned} \text{Var} (D_{uvz}) = 1/n [ & \pi_u \pi_v \pi_z + 6 D_{uv} D_{vz} D_{uz} + \pi_u (\tau_v \tau_z D_{vz} - D_{vz}^2) \\ & + \pi_v (\tau_u \tau_z D_{uz} - D_{uz}^2) + \pi_z (\tau_u \tau_v D_{uv} - D_{uv}^2) \\ & + D_{uvz} (\tau_u \tau_v \tau_z - 2 \tau_u D_{vz} - 2 \tau_v D_{uz} \\ & - 2 \tau_z D_{uv} - D_{uvz})], \end{aligned}$$

La hipótesis nula  $H_0 : D_{uvz} = 0$  puede ser puesta a prueba mediante el estadístico

$$X_{uvz}^2 = D_{uvz}^2 / \text{Var} (D_{uvz})$$

que sigue una distribución  $\chi^2$  con un grado de libertad.

Cuando en estas fórmulas se hace referencia a alelos de diferentes loci, pueden ser tanto alelos enzimáticos como “alelos” cromosómicos

(ordenaciones). De modo que ellas permiten estimar el desequilibrio tanto entre cada locus enzimático con las inversiones, como entre dos o tres loci enzimáticos.

---

TAMBIEN EN  
DESEQUILI-  
BRIOS HAY  
UN ENTRE Y  
UN DENTRO

---

Sin embargo, cuando dos loci están ligados a un polimorfismo de inversiones la situación es más compleja, ya que es preciso considerar además del desequilibrio de ligamiento entre ellos, qué porción de éste puede ser explicado por el desequilibrio de cada uno de ellos con las inversiones. En otras palabras, el desequilibrio total entre dos alelos, a y b, de diferentes loci, puede descomponerse en desequilibrio “dentro de inversiones” y desequilibrio “entre inversiones” (Ruiz et al., 1991; Betrán et al., 1994). En el caso que el polimorfismo de una población esté constituido principalmente por tres inversiones, como es el caso de las poblaciones analizadas, esta descomposición resultará en:

$$D_{uv} = p_1 D_{uv}(C_1) + p_2 D_{uv}(C_2) + p_3 D_{uv}(C_3) \\ + D_u(C_1) D_v(C_1)/p_1 + D_u(C_2) D_v(C_2)/p_2 + D_u(C_3) D_v(C_3)/p_3$$

donde,  $p_i$  ( $i = 1, 2, 3$ ) es la frecuencia de la ordenación  $C_i$ ;  $D_{uv}(C_i)$  es el coeficiente de desequilibrio entre los alelos u y v de los loci A y B respectivamente, dentro de la ordenación  $C_i$ ;  $D_u(C_i)$  y  $D_v(C_i)$  son los coeficientes de desequilibrio de los alelos u y v respectivamente, con la ordenación  $C_i$ .

---

HASTA EL  
DESEQUILI-  
BRIO PUEDE  
SER  
NORMALIZADO  
... I

---

En una población, la frecuencia de una gameta dada (por ejemplo la gameta uv), nunca puede ser mayor que las frecuencias de sus alelos (en este caso las frecuencias  $p_u$  y  $p_v$ ). Por lo tanto, gametas diferentes tendrán diferentes cotas superiores para el desequilibrio. Esto impide la comparación de los coeficientes de desequilibrio entre loci o entre poblaciones con diferentes frecuencias alélicas. Para salvar esta

dificultad, Lewontin (1974) definió el coeficiente de desequilibrio normalizado como :

$$D' = D / D_{\max},$$

Donde  $D_{\max}$  es el máximo valor de desequilibrio dadas las frecuencias alélicas de la población y el signo del desequilibrio (ver Weir, 1996, pg 120).

**LA SIMILITUD  
SE PUEDE  
CUANTIFICAR**

Además, dado que se cuenta con datos genéticos de los cromosomas portadores de diferentes ordenaciones en las distintas poblaciones, es posible analizar el grado de similitud entre ellos. Es decir, si en promedio cromosomas portadores de una misma inversión son genéticamente más similares entre sí, que cromosomas con ordenaciones diferentes. La medida más frecuentemente utilizada para este fin es la distancia genética propuesta por Nei (1978). De acuerdo a este autor, para dos poblaciones en las cuales las frecuencias de determinado alelo  $u$  de un locus  $A$  son  $p_{Au1}$  y  $p_{Au2}$ , la identidad genética  $I$  entre las dos poblaciones puede definirse como:

$$I = (2n-1) \sum_A \sum_u p_{Au1} p_{Au2} / \left[ \sum_A (2n \sum_u (p_{Au1})^2 - 1) \sum_A (2n \sum_u (p_{Au2})^2 - 1) \right]^{1/2}$$

donde  $n$  es el tamaño de las muestras de ambas poblaciones.

La distancia genética de Nei es

$$D = - \ln ( I )$$

Así una vez obtenida la matriz de distancia genética es posible elaborar una hipótesis de similitud entre las poblaciones y volcarlos en un fenograma. En nuestro caso, los cromosomas portadores de cada ordenación dentro de cada población, fueron considerados como subpoblaciones, y pudimos estimar las distancias genéticas entre ellos.

El análisis de datos fue realizado utilizando el programa para análisis estadístico de polimorfismos genéticos Arlequín (Excoffier et al., 1992), que permitió calcular las frecuencias alélicas y los coeficientes de desequilibrio gamético estándar y normalizados. Las distancias de Nei y los fenogramas correspondientes se obtuvieron mediante el programa Genetic Data Analysis (GDA), (Lewies y Zaykin, 1998).

### 3.4. Resultados

Un total de más de 650 individuos proveniente de las distintas poblaciones fue procesado siguiendo el esquema de cruzamientos y análisis genético descripto. Esto permitió obtener información de al menos una gameta transmitida a la descendencia y, en aquellos casos en los cuales se contó con el genotipo del progenitor para los sistemas enzimáticos, se pudo deducir la composición genética del otro haplotipo, si bien de éste no se determinó la ordenación correspondiente.

#### Frecuencias génicas

La tabla 3.1 muestra las frecuencias cromosómicas porcentuales detectadas en cada población analizada. Cinco de las poblaciones son polimórficas para tres ordenaciones: ST, J y JZ<sup>3</sup>. En Berna el polimorfismo está constituido fundamentalmente por las ordenaciones ST y J, y en Tirol éstas son las únicas ordenaciones detectadas, siendo en ambos casos 2ST la ordenación preponderante.

Las poblaciones del noroeste – Chumbicha, La Sébila y Río Hondo – 2ST y 2J son las más abundantes, mientras que 2JZ<sup>3</sup> es la menos frecuente. En las poblaciones de la Pampa, en cambio, prevalece la

---

POLIMORFIS-  
MO  
CROMOSÓMI-  
CO

---



ordenación 2J, en tanto que 2JZ<sup>3</sup> alcanza frecuencias mayores (18%), y 2ST es la ordenación menos frecuente. La ordenación 2JQ<sup>7</sup> sólo se detecta en estas poblaciones, y en una frecuencia cercana al 1% (Tabla 3.1).

CR - 2	ST	J	JZ <sup>3</sup>	JQ <sup>7</sup>	N
Chumbicha	34	49	17	--	86
La Sebila	55	39	6		33
Río Hondo	42	55	3		74
Berna	73	26	1		96
Tirol	94	6	--	--	47
Escobar	12	69	18	1	118
Otamendi	17	64	18	1	179
GLOBAL	37	51	12	0,3	633

**TABLA 3.1. Frecuencias cromosómicas estimadas de cada una de las poblaciones analizadas y de la muestra global. N : número de cromosomas determinados.**

**POLIMORFIS-  
MOS  
ENZIMÁTICOS  
Y  
FRECUENCIAS  
CONDICIONA-  
LES**

En las tablas 3.2 a 3.8 se muestran las frecuencias alélicas expresadas en porcentajes, de cada uno de los siete marcadores enzimáticos analizados. En cada tabla aparecen las frecuencias de la población (Total) y las frecuencias condicionales para cada ordenación en cada una de las poblaciones. Las frecuencias totales de cada locus fueron estimadas a partir de los genotipos determinados en los individuos provenientes de la población natural, y en aquellos casos en que éste no se obtuvo se consideró el alelo transmitido a la descendencia y determinado en el macho F<sub>1</sub>. Las frecuencias condicionales fueron estimadas a partir de la caracterización alélica de los haplotipos determinados en aquellos machos de la F<sub>1</sub> de los cuales se pudo establecer, también, la ordenación transmitida por vía paterna.

CONTENIDO GENÉTICO DEL CROMOSOMA 2

EST-1		a	b	c	d	a'	nulo	N
<b>Chumbicha</b>	Total	15	72	13	--	--	--	(157)
	2ST.	31	55	14	--	--	--	(29)
	2J .	12	86	2	--	--	--	(42)
	2JZ3	7	87	7	--	--	--	(15)
<b>La Sebila</b>	Total	14	65	21				(63)
	2ST.	29	47	24				(17)
	2J .	--	92	8				(12)
	2JZ3	--	100	--				(2)
<b>Río Hondo</b>	Total	20	55	24	1			(163)
	2ST.	35	52	13	--			(31)
	2J .	17	56	24	2			(41)
	2JZ3	--	100	--	--			(2)
<b>Berna</b>	Total	20	60	20	--			(213)
	2ST.	25	59	16	--			(68)
	2J .	8	75	17	--			(24)
	2JZ3	--	--	100	--			(1)
<b>Tirol</b>	Total	24	45	23	3	5		(75)
	2ST.	32	41	17	--	10		(41)
	2J .	50	50	--	--	--		(2)
<b>Escobar</b>	Total	6	64	29			1	(147)
	2ST.	--	75	25			--	(4)
	2J .	5	57	37			1	(73)
	2JZ3	--	57	43			--	(21)
	2JQ7	--	100	--			--	(1)
<b>Otamendi</b>	Total	10	81	8	--	--	--	(356)
	2ST.	31	62	7	--	--	--	(29)
	2J .	9	79	11	--	--	--	(106)
	2JZ3	6	87	6	--	--	--	(31)
	2JQ7	--	100	--	--	--	--	(1)
<b>GLOBAL</b>	Total	15	67	17	0,2	0,3	0,1	(1173)
	2ST.	29	54	15	--	2	--	(219)
	2J .	10	72	18	0,4	--	0,4	(300)
	2JZ3	4	78	18	--	--	--	(72)
	2JQ7	--	100	--	--	--	--	(2)

**TABLA 3.2. Frecuencias alélicas totales y condicionales expresadas en porcentaje, del locus Est-1 en las poblaciones de *D. buzzatii*. Las frecuencias están expresadas en porcentajes. N: tamaño de la muestra de gametas analizada**

CONTENIDO GENÉTICO DEL CROMOSOMA 2

EST2		a	b	c	d	c*	mb	N
<b>Chumbicha</b>	Total	42	47	8	3	--	--	(144)
	2ST.	32	56	8	4	--	--	(25)
	2J .	48	46	--	6	--	--	(35)
	2JZ3	50	43	7	--	--	--	(14)
<b>La Sebila</b>	Total	42	38	10	3	7		(60)
	2ST.	46	31	--	15	8		(13)
	2J .	20	50	10	--	20		(10)
	2JZ3	--	--	--	--	--		--
<b>Río Hondo</b>	Total	48	35	10	3	3	1	(159)
	2ST.	48	34	3	10	--	3	(29)
	2J .	45	39	3	5	8	--	(38)
	2JZ3	50	50	--	--	--	--	(2)
<b>Berna</b>	Total	26	57	9	4	4		(196)
	2ST.	31	55	5	2	8		(62)
	2J .	16	84	--	--	--		(19)
	2JZ3	--	100	--	--	--		(1)
<b>Tirol</b>	Total	24	45	23	3	5		(73)
	2ST.	32	45	5	--	17		(40)
	2J .	50	50	--	--	--		(2)
<b>Escobar</b>	Total	11	36	41	12	--		(147)
	2ST.	25	25	--	50	--		(4)
	2J .	12	30	49	9	--		(74)
	2JZ3	10	25	45	20	--		(20)
	2JQ7	--	100	--	--	--		(1)
<b>Otamendi</b>	Total	17	39	30	13	0,3	--	(348)
	2ST.	38	34	7	17	3	--	(29)
	2J .	7	45	37	10	--	--	(104)
	2JZ3	23	23	35	19	--	--	(31)
	2JQ7	--	100	--	--	--	--	(1)
<b>GLOBAL</b>	Total	27	43	20	7	2	0,09	(1126)
	2ST.	36	45	5	7	7	0,5	(202)
	2J .	20	43	27	8	2	--	(285)
	2JZ3	25	29	31	15	--	--	(68)
	2JQ7	--	100	--	--	--	--	(2)

**TABLA 3.3. Frecuencias alélicas totales y condicionales expresadas en porcentaje, del locus Est-2 en las poblaciones de *D. buzzatii*. Las frecuencias están expresadas en porcentajes. N: tamaño de la muestra de gametas analizada**

CONTENIDO GENÉTICO DEL CROMOSOMA 2

LAP		a	b	c	d	N
<b>Chumbicha</b>	Total	2	86	11	0,6	(177)
	2ST.	--	89	11	--	(28)
	2J .	2,5	90	7,5	--	(40)
	2JZ3	--	87	13	--	(15)
<b>La Sebila</b>	Total	5	91	5		(65)
	2ST.	--	100	--		(18)
	2J .	--	100	--		(13)
	2JZ3	--	100	--		(2)
<b>Río Hondo</b>	Total	5	87	8		(170)
	2ST.	3	90	6		(31)
	2J .	2	88	10		(41)
	2JZ3	--	100	--		(2)
<b>Berna</b>	Total	5	88	7		(226)
	2ST.	6	91	3		(70)
	2J .	4	84	12		(25)
	2JZ3	--	100	--		(1)
<b>Tirol</b>	Total	8	73	18		(82)
	2ST.	16	60	23		(43)
	2J .	--	100	--		(3)
<b>Escobar</b>	Total	--	96	4		(139)
	2ST.	--	100	--		(4)
	2J .	--	96	4		(75)
	2JZ3	--	90	10		(20)
	2JQ7	--	100	--		(1)
<b>Otamendi</b>	Total	6	89	5	--	(343)
	2ST.	4	93	4	--	(28)
	2J .	4	90	6	--	(104)
	2JZ3	6	88	6	--	(32)
	2JQ7	--	100	--	--	(1)
<b>GLOBAL</b>	Total	5	88	7	0,08	(1201)
	2ST.	6	86	8	--	(222)
	2J .	2	91	7	--	(294)
	2JZ3	3	89	8	--	(72)
	2JQ7	--	100	--	--	(2)

**TABLA 3.4. Frecuencias alélicas totales y condicionales expresadas en porcentaje, del locus Lap en las poblaciones de *D. buzzatii*. Las frecuencias están expresadas en porcentajes. N: tamaño de la muestra de gametas analizada**

CONTENIDO GENÉTICO DEL CROMOSOMA 2

ALDOX		a	b	c	a <sup>+</sup>	mb	N
<b>Chumbicha</b>	Total	71	26	1	3	--	(156)
	2ST.	63	26	4	7	--	(27)
	2J .	79	17	--	5	--	(42)
	2JZ3	87	13	--	--	--	(15)
<b>La Sebila</b>	Total	73	25	--	--	2	(64)
	2ST.	78	22	--	--	--	(18)
	2J .	69	23	--	--	8	(13)
	2JZ3	100	--	--	--	--	(2)
<b>Río Hondo</b>	Total	60	33	3	4	--	(168)
	2ST.	58	36	3	3	--	(31)
	2J .	66	24	--	10	--	(41)
	2JZ3	100	--	--	--	--	(2)
<b>Berna</b>	Total	69	29	1	1		(222)
	2ST.	73	26	--	1		(69)
	2J .	88	8	2	--		(25)
	2JZ3	100	--	--	--		(1)
<b>Tirol</b>	Total	53	30	2	14	1	(81)
	2ST.	39	35	5	19	2	(43)
	2J .	100	--	--	--	--	(3)
<b>Escobar</b>	Total	75	24	--	1	--	(132)
	2ST.	25	75	--	--	--	(4)
	2J .	76	24	--	--	--	(68)
	2JZ3	80	15	--	5	--	(20)
	2JQ7	100	--	--	--	--	(1)
<b>Otamendi</b>	Total	79	10	3	7	0,3	(307)
	2ST.	83	4	4	8	--	(30)
	2J .	82	9	1	7	1	(99)
	2JZ3	83	3	--	13	--	(30)
	2JQ7	100	--	--	--	--	(1)
<b>GLOBAL</b>	Total	70	24	2	4	0,3	(1129)
	2ST.	63	27	2	7	1	(216)
	2J .	78	16	1	5	1	(289)
	2JZ3	84	9	--	7	--	(70)
	2JQ7	100	--	--	--	--	(2)

**TABLA 3.5. Frecuencias alélicas totales y condicionales expresadas en porcentaje, del locus Aldox en las poblaciones de *D. buzzatii*. Las frecuencias están expresadas en porcentajes. N: tamaño de la muestra de gametas analizada**

CONTENIDO GENÉTICO DEL CROMOSOMA 2

PEP-1		a	b	c	d	mb	N
<b>Chumbicha</b>	Total	9	78	13	--	--	(175)
	2ST.	4	89	7	--	--	(28)
	2J .	13	85	3	--	--	(40)
	2JZ3	--	80	20	--	--	(15)
<b>La Sebila</b>	Total	6	92	2			(65)
	2ST.	--	100	--			(18)
	2J .	8	92	--			(13)
	2JZ3	--	100	--			(2)
<b>Río Hondo</b>	Total	6	88	6	1		(170)
	2ST.	6	77	16	--		(31)
	2J .	10	88	2	--		(41)
	2JZ3	--	50	50	--		(2)
<b>Berna</b>	Total	8	83	9	--		(228)
	2ST.	4	90	6	--		(70)
	2J .	4	84	12	--		(25)
	2JZ3	--	100	--	--		(1)
<b>Tirol</b>	Total	14	70	14	2		(81)
	2ST.	19	70	7	5		(43)
	2J .	--	100	--	--		(3)
<b>Escobar</b>	Total	--	86	14	--	--	(128)
	2ST.	--	100	--	--	--	(2)
	2J .	--	90	10	--	--	(61)
	2JZ3	--	71	29	--	--	(17)
	2JQ7	--	100	--	--	--	(1)
<b>Otamendi</b>	Total	9	82	9	--	0,3	(348)
	2ST.	15	81	4	--	--	(26)
	2J .	11	79	9	--	1	(108)
	2JZ3	16	71	13	--	--	(31)
	2JQ7	--	100	--	--	--	(1)
<b>GLOBAL</b>	Total	7	83	10	0,3	0,1	(1194)
	2ST.	8	84	7	1	--	(220)
	2J .	8	85	7	--	0,3	(291)
	2JZ3	7	73	19	--	--	(68)
	2JQ7	--	100	--	--	--	(2)

**TABLA 3.6.** Frecuencias alélicas totales y condicionales expresadas en porcentaje, del locus *Pep-1* en las poblaciones de *D. buzzatii*. Las frecuencias están expresadas en porcentajes. N: tamaño de la muestra de gametas analizada

CONTENIDO GENÉTICO DEL CROMOSOMA 2

PIP-2		a	b	c	a+	mó	N
<b>Chumbicha</b>	Total	48	47	5	--	--	(171)
	2ST.	43	54	4	--	--	(28)
	2J .	41	51	8	--	--	(39)
	2JZ3	73	27	--	--	--	(15)
<b>La Sebila</b>	Total	45	55	--	--	--	(65)
	2ST.	33	67	--	--	--	(18)
	2J .	31	69	--	--	--	(13)
	2JZ3	50	50	--	--	--	(2)
<b>Río Hondo</b>	Total	48	48	2	1		(169)
	2ST.	48	48	3	--	--	(31)
	2J .	54	41	2	2	--	(41)
	2JZ3	50	50	--	--	--	(2)
<b>Berna</b>	Total	36	59	3	2	0,5	(220)
	2ST.	38	57	2	2	2	(68)
	2J .	44	56	--	--	--	(25)
	2JZ3	--	100	--	--	--	(1)
<b>Tirol</b>	Total	41	50	6	3	--	(80)
	2ST.	42	51	2	5	--	(43)
	2J .	33	67	--	--	--	(3)
<b>Escobar</b>	Total	38	56	7	--	--	(122)
	2ST.	25	75	--	--	--	(4)
	2J .	43	48	9	--	--	(58)
	2JZ3	42	53	5	--	--	(19)
	2JQ7	--	100	--	--	--	(1)
<b>Otamendi</b>	Total	38	54	6	2	0,3	(365)
	2ST.	--	92	8	--	--	(26)
	2J .	47	46	5	1	1	(113)
	2JZ3	39	54	6	--	--	(33)
	2JQ7	100	--	--	--	--	(1)
<b>GLOBAL</b>	Total	41	53	4	1	0,2	(1191)
	2ST.	41	56	2	1	0,5	(221)
	2J .	45	49	5	1	0,3	(292)
	2JZ3	47	48	4	--	--	(72)
	2JQ7	50	50	--	--	--	(2)

**TABLA 3.7. Frecuencias alélicas totales y condicionales expresadas en porcentaje, del locus Pep-2 en las poblaciones de *D. buzzatii*. Las frecuencias están expresadas en porcentajes. N: tamaño de la muestra de gametas analizada**

CONTENIDO GENÉTICO DEL CROMOSOMA 2

NDH		a	b	c	d	mb	N
<b>Chumbicha</b>	Total	6	59	34	1	--	(152)
	2ST.	4	52	36	8	--	(25)
	2J .	14	62	24	--	--	(37)
	2JZ3	--	69	31	--	--	(13)
<b>La Sebila</b>	Total	3	49	48	--		(65)
	2ST.	12	35	53	--		(17)
	2J .	--	62	38	--		(13)
	2JZ3	--	100	--	--		(2)
<b>Río Hondo</b>	Total	7	53	36	5	--	(155)
	2ST.	13	29	52	6	--	(31)
	2J .	10	63	25	3	--	(40)
	2JZ3	50	50	--	--	--	(2)
<b>Berna</b>	Total	6	52	40	1	1	(212)
	2ST.	7	49	41	2	2	(68)
	2J .	13	58	21	--	8	(24)
	2JZ3	--	100	--	--	--	(1)
<b>Tirol</b>	Total	11	45	41	3		(64)
	2ST.	11	41	43	5		(37)
	2J .	--	50	50	--		(2)
<b>Escobar</b>	Total	--	80	20	--		(15)
	2ST.	--	--	100	--		(1)
	2J .	--	80	20	--		(5)
	2JZ3	--	100	--	--		(2)
	2JQ7	--	--	--	--		--
<b>Otamendi</b>	Total	4	81	15	--	--	(321)
	2ST.	--	92	8	--	--	(26)
	2J .	2	83	15	--	--	(104)
	2JZ3	7	67	26	--	--	(27)
	2JQ7	--	100	--	--	--	(1)
<b>GLOBAL</b>	Total	6	62	30	1	0,3	(983)
	2ST.	8	49	40	3	0,5	(205)
	2J .	6	72	21	0,4	1	(225)
	2JZ3	6	70	23	--	--	(47)
	2JQ7	--	100	--	--	--	(1)

**TABLA 3.8. Frecuencias alélicas totales y condicionales expresadas en porcentaje, del locus XDH en las poblaciones de *D. buzzatii*. Las frecuencias están expresadas en porcentajes. N: tamaño de la muestra de gametas analizada**



Del análisis de estas tablas se pueden inferir ciertas asociaciones entre alelos enzimáticos y las inversiones, y se puede cuantificar el desequilibrio total entre cada locus y las inversiones mediante una tabla de contingencia ( $\chi^2$ ). Realizamos esta cuantificación para cada locus y las inversiones en la muestra global.

Al analizar el desequilibrio global se detecta una asociación altamente significativa entre Est-1 y las inversiones ( $\chi^2 = 46,46$  ; g.l.: 4 ;  $P = 0,000$ ). El alelo Est-1<sup>a</sup> aparece preferentemente asociado a la ordenación 2ST en todas las poblaciones analizadas, mientras que el alelo Est-1<sup>b</sup> lo está con las ordenaciones derivadas 2J y 2JZ<sup>3</sup>. El alelo Est-1<sup>c</sup>, en cambio, presenta diferentes asociaciones sólo en Chumbicha, La Sébila y Escobar (Tabla 3.2).

El desequilibrio total entre Est-2 y las inversiones resulta altamente significativo ( $\chi^2 = 69,00$  ; g.l.: 8 ;  $P = 0,000$ ). Los alelos de Est-2 presentan también diferentes asociaciones (Tabla 3.3). Mientras que en las poblaciones del noroeste no aparecen asociaciones consistentes, en Berna y Tirol el alelo Est-2<sup>a</sup> aparece asociado a 2ST en tanto que el alelo Est-2<sup>b</sup> lo está con 2J. En Escobar y Otamendi los alelos Est-2<sup>a</sup> y Est-2<sup>d</sup> aparecen con mayor frecuencia en la ordenación 2ST y el alelo Est-2<sup>c</sup> en 2J y 2JZ<sup>3</sup>. En el global, prevalecen las asociaciones Est-2<sup>a</sup> – 2ST y Est-2<sup>c</sup> – 2J/2JZ<sup>3</sup>.

Lap no exhibe, en general, asociaciones con las ordenaciones (Tabla 3.4), sin embargo el desequilibrio total resultó significativo ( $\chi^2 = 11,58$  ; g.l.: 4 ;  $P = 0,021$ ).

En cambio, Aldox presenta un desequilibrio total altamente significativo ( $\chi^2 = 25,10$  ; g.l.: 6 ;  $P = 0,000$ ) y mientras Aldox<sup>a</sup> muestra

una tendencia a estar asociada con 2J y 2JZ<sup>3</sup>, Aldox<sup>b</sup> lo hace con 2ST en varias poblaciones y en el global (Tabla 3.5).

En el locus Pep-1 (Tabla 3.6) solo se observa una tendencia del alelo Pep-1<sup>c</sup> a aparecer asociado preferentemente con 2JZ<sup>3</sup> en aquellas poblaciones donde ésta está presente en frecuencias considerables, y esto se refleja en el desequilibrio total ( $\chi^2 = 10,63$  ; g.l.: 4 ; P = 0,03).

El desequilibrio total entre Pep-2 y las inversiones en la muestra global no resulta significativo ( $\chi^2 = 7,24$  ; g.l.: 4 ; P = 0,12). Sin embargo, presenta asociaciones significativas entre Pep-2<sup>b</sup> y 2ST y entre Pep-2<sup>a</sup> y J ó JZ<sup>3</sup>, particularmente en las poblaciones de Escobar y Otamendi (región de la Pampa) (Tabla 3.7).

Finalmente, el desequilibrio total de Xdh altamente significativo ( $\chi^2 = 32,65$  g.l.: 6 ; P = 0,000) refleja las asociaciones que muestra en todas las poblaciones: el alelo Xdh<sup>c</sup> aparece más frecuentemente en cromosomas 2ST, y Xdh<sup>b</sup> lo hace en J y JZ<sup>3</sup>.

### **Desequilibrio gamético de los marcadores con las ordenaciones.**

---

CUANTIFICAN-  
DO  
ASOCIACIONES ...

---

Para cuantificar el desequilibrio entre los alelos de cada locus y las inversiones, y poder evaluar la significación de estas asociaciones se calcularon los coeficientes de desequilibrio gamético D y D' entre cada locus enzimático y las ordenaciones cromosómicas en cada población y en la muestra global.

En la tabla 3.9 se presentan únicamente los valores de D' entre alelos enzimáticos e inversiones cromosómicas sólo en aquellos casos en los cuales se verifica algún desequilibrio significativo entre alguno de los alelos y el sistema de inversiones.

D'x100	Est-1 <sup>c</sup>	Est-1 <sup>b</sup>	Est-2 <sup>c</sup>	Est-2 <sup>b</sup>	Est-2 <sup>a</sup>	Est-2 <sup>d</sup>	Akk-1 <sup>c</sup>	Akk-1 <sup>b</sup>	Xdh <sup>c</sup>	Xdh <sup>b</sup>	Xdh <sup>d</sup>
<b>Chumbic</b>											
ha											
2ST	+ 40	- 27									
2J		+ 41									
2JZ <sup>3</sup>											
<b>La Sebila</b>											
2ST	+100	- 31									
2J		+ 74									
2JZ <sup>3</sup>											
<b>Río Hondo</b>											
2ST											
2J											
2JZ <sup>3</sup>											
<b>Berna</b>											
2ST					- 12			+ 63			
2J					+ 58						
2JZ <sup>3</sup>											
<b>Tirol</b>											
2ST								- 9			
2J								+10			
								0			
<b>Escobar</b>											
2ST					+ 36	- 67		- 47	+ 47		+100
2J											
2JZ <sup>3</sup>											
<b>Otamendi</b>											
2ST	+ 31	- 20	+ 30	- 78							
2J			- 52	+ 25	+ 32						
2JZ <sup>3</sup>				- 43							
<b>Global</b>											
2ST	+ 48	- 18	+ 18		- 72	+ 12	- 14	+ 27	- 21	+ 29	+ 78
2J	- 41	+ 18	- 22		+ 41		+ 19	- 19	+ 27	- 30	- 74
2JZ <sup>3</sup>	- 74	+ 35		- 33	+ 14		+ 42	- 57			

**TABLA 3.9. Coeficientes de disequilibrio normalizados expresados en porcentajes (D' x 100) entre alelos de loci enzimáticos e Inversiones en las poblaciones de *D. buzzatii*.**

Además de los loci enzimáticos que figuran en la tabla 3.9 (Est-1, Est-2, Aldox y Xdh), Pep-1 y Lap también muestran disequilibrios significativos. En el caso de Pep-1 se observa una asociación positiva significativa entre el alelo Pep-1<sup>c</sup> y la ordenación 2JZ<sup>3</sup>, en Chumbicha (D = + 0,02 ; P = 0,03 ; D' = + 0,39), en Río Hondo (D = + 0,01 ; P = 0,05 ; D' = + 0,45), y en Arroyo Escobar (D = + 0,03 ; P = 0,03 ; D' = + 0,28), así como en la muestra global (D = + 0,01 ; P = 0,00 ; D' = +

0,16), en tanto que el alelo Pep-1<sup>b</sup> está negativamente asociado con la misma inversión (en el global  $D = -0,01$  ;  $P = 0,03$  ;  $D' = -0,11$ ). Sin embargo, Pep-1<sup>b</sup> no aparece significativamente asociado a ninguna inversión en ninguna de las poblaciones ni en la muestra global.

Lap sólo presenta un desequilibrio significativo, en la muestra global, entre el alelo Lap<sup>a</sup> y la ordenación 2ST ( $D = +0,01$  ;  $P = 0,04$  ;  $D' = +0,34$ ). Lo mismo ocurre con Pep-2, ya que al considerar la muestra global se detecta una asociación significativa entre Pep-2<sup>c</sup> y 2J ( $D = +0,01$  ;  $P = 0,05$  ;  $D' = +0,40$ ). En ambos casos –Lap y Pep-2– es importante notar que los alelos involucrados en las asociaciones observadas son raros (Lap<sup>a</sup> = 0,05 ; Pep-2<sup>c</sup> = 0,04), lo cual sugiere que las asociaciones detectadas podrían ser explicadas por azar.

En la tabla 3.10 se presentan los valores de los coeficientes de desequilibrio  $D$ , y  $D'$  con su probabilidad asociada ( $P$ ), para los sistemas considerados en la tabla 3.9 para la muestra global.

CONTENIDO GENÉTICO DEL CROMOSOMA 2

		Global			Global sin AI		
		SI	J	JZ <sup>2</sup>	SI	J	JZ <sup>2</sup>
<b>Est1<sup>a</sup></b>	<b>D:</b>	0,05	-0,03	-0,01	0,05	-0,03	-0,01
	<b>D'</b>	0,48	-0,41	-0,74	0,46	-0,46	-0,68
	<b>P:</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
<b>Est1<sup>b</sup></b>	<b>D:</b>	-0,05	0,03	0,01	-0,06	0,04	0,02
	<b>D'</b>	-0,18	0,18	0,35	-0,21	0,27	0,58
	<b>P:</b>	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,02
<b>Est2<sup>a</sup></b>	<b>D:</b>	0,03	-0,03		0,03	-0,03	
	<b>D'</b>	0,18	-0,22		0,16	-0,21	
	<b>P:</b>	0,00	0,00		0,01	0,00	
<b>Est2<sup>b</sup></b>	<b>D:</b>			-0,02			-0,02
	<b>D'</b>			-0,33			-0,33
	<b>P:</b>			0,01			0,01
<b>Est2</b>	<b>D:</b>	-0,05	0,04	0,01	-0,04	0,03	0,01
	<b>D'</b>	-0,72	0,41	0,14	-0,65	0,38	0,12
	<b>P:</b>	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,02
<b>Est2<sup>d</sup></b>	<b>D:</b>			0,01			
	<b>D'</b>			0,12			
	<b>P:</b>			0,02			
<b>Aldox<sup>a</sup></b>	<b>D:</b>	-0,04	0,03	0,01	-0,04	0,03	0,01
	<b>D'</b>	-0,14	0,19	0,42	-0,12	0,20	0,48
	<b>P:</b>	0,00	0,01	0,02	0,00	0,01	0,03
<b>Aldox<sup>b</sup></b>	<b>D:</b>	0,03	-0,02	-0,01	0,04	-0,02	-0,01
	<b>D'</b>	0,27	-0,19	-0,57	0,33	-0,20	-0,68
	<b>P:</b>	0,00	0,02	0,01	0,00	0,01	0,02
<b>Xdh<sup>b</sup></b>	<b>D:</b>	-0,06	0,05		-0,05	0,05	
	<b>D'</b>	-0,21	0,27		-0,20	0,26	
	<b>P:</b>	0,00	0,00		0,00	0,00	
<b>Xdh<sup>c</sup></b>	<b>D:</b>	0,05	-0,04		0,04	-0,04	
	<b>D'</b>	0,29	-0,30		0,27	-0,29	
	<b>P:</b>	0,00	0,00		0,00	0,00	
<b>Xdh<sup>d</sup></b>	<b>D:</b>	0,01	-0,01		0,01	-0,01	
	<b>D'</b>	0,78	-0,74		0,78	-0,73	
	<b>P:</b>	0,01	0,05		0,01	0,05	

**TABLA 3.10. Coeficientes de desequilibrio gamético absoluto (D) y relativo (D') con su significación estadística entre los loci enzimáticos Est-1, Est-2, Aldox y Xdh y las Inversiones en las poblaciones de *D. buzzatii*.**

Puede observarse que las ordenaciones 2J y 2JZ<sup>3</sup> coinciden en el signo del coeficiente, cuando éste es significativo, y se diferencian de 2ST, es decir que las asociaciones con los diferentes alelos de estos loci isoenzimáticos diferenciarían la ordenación ancestral de las derivadas (Tabla 3.10). Además, debido al alto grado de divergencia que –como veremos más adelante– mostró la población de Arroyo Escobar respecto de las demás, repetimos los cálculos de los coeficientes de desequilibrio en la muestra global excluyendo a los individuos provenientes de esta población. En general, no hay diferencias cualitativas; salvo en los casos de Lap y Pep-2 mencionados, en los cuales al excluir Arroyo Escobar dejan de presentar desequilibrios significativos, los resultados son equivalentes.

### **Distancias genéticas entre ordenaciones.**

---

AHORA LAS  
ORDENACIONES SON  
OTUS ...

---

Una manera alternativa de plantear la problemática del contenido genético de las inversiones es analizar la distancia genética entre los diferentes cromosomas de cada población. ¿Son genéticamente más similares los cromosomas que presentan el mismo ordenamiento, aún cuando provengan de distintas poblaciones (en distintas regiones geográficas), o los cromosomas de una misma población son genéticamente más cercanos entre sí? Para responder esta pregunta se calcularon las distancias de Nei tomando a cada ordenación de cada una de las poblaciones como nuestras unidades taxonómicas operativas (OTUs).

CONTENIDO GENÉTICO DEL CROMOSOMA 2

	ST <sub>OH</sub>	ST <sub>OH</sub> J <sub>OH</sub>	JZ <sub>OH</sub> ST <sub>OH</sub>	ST <sub>S</sub>	J <sub>S</sub>	JZ <sub>S</sub> ST <sub>S</sub>	ST <sub>OH</sub> J <sub>OH</sub>	JZ <sub>OH</sub> ST <sub>OH</sub>	ST <sub>J</sub>	J <sub>J</sub>	JZ <sub>J</sub> ST <sub>J</sub>	ST <sub>OH</sub> J <sub>OH</sub>	JZ <sub>OH</sub> ST <sub>OH</sub>	ST <sub>OH</sub> J <sub>OH</sub>	JZ <sub>OH</sub> ST <sub>OH</sub>	ST <sub>OH</sub> J <sub>OH</sub>	JZ <sub>OH</sub> ST <sub>OH</sub>		
ST <sub>OH</sub>	0,021	0,043	0,017	0,024	0,060	0,013	0,007	0,069	-0,004	0,022	0,028	0,026	-0,033	0,070	0,151	0,244	0,040	0,053	0,063
J <sub>OH</sub>	0,042	0,017	0,047	0,017	0,009	0,049	0,014	0,002	0,022	0,031	0,080	-0,009	0,106	0,155	0,236	0,027	0,043	0,031	0,031
JZ <sub>OH</sub>	0,053	-0,004	0,088	0,053	0,017	0,065	0,022	0,003	0,050	0,047	0,110	0,023	0,158	0,195	0,283	0,050	0,045	0,044	0,044
ST <sub>S</sub>	-0,004	0,071	0,064	0,046	0,110	0,009	0,030	0,103	0,011	0,083	0,061	-0,042	0,135	0,146	0,220	0,072	0,114	0,089	0,089
J <sub>S</sub>	0,071	0,003	0,003	0,108	0,025	0,027	0,070	0,036	0,052	0,015	0,031	0,081	0,008	0,072	0,164	0,256	0,052	0,037	0,034
JZ <sub>S</sub>	0,110	0,015	0,003	0,119	0,025	0,139	0,038	0,026	0,062	0,010	0,174	0,042	0,101	0,169	0,281	0,010	-0,003	0,009	0,099
ST <sub>OH</sub>	-0,013	0,082	0,099	0,109	0,176	0,030	0,082	0,022	0,019	0,095	0,032	0,014	0,149	0,161	0,232	0,094	0,124	0,099	0,099
J <sub>OH</sub>	0,000	0,041	0,040	0,052	0,092	0,024	0,053	0,015	0,015	0,046	0,043	-0,005	0,082	0,142	0,236	0,029	0,052	0,056	0,056
JZ <sub>OH</sub>	0,110	0,015	0,003	0,119	0,025	0,176	0,092	0,062	0,016	0,162	0,162	0,035	0,180	0,080	0,087	0,051	0,048	0,023	0,023
ST <sub>B</sub>	-0,007	0,034	0,035	-0,005	0,085	0,008	0,000	0,085	0,062	0,016	0,038	-0,033	0,086	0,145	0,230	0,050	0,060	0,064	0,064
J <sub>B</sub>	0,048	0,012	-0,001	0,038	0,026	0,014	0,100	0,028	0,014	0,029	0,098	0,011	0,105	0,154	0,220	0,060	0,043	0,067	0,067
ST <sub>T</sub>	0,032	0,172	0,207	0,084	0,194	0,310	0,018	0,064	0,310	0,076	0,205	0,035	0,120	0,217	0,302	0,111	0,134	0,132	0,132
J <sub>T</sub>	0,015	0,066	0,063	-0,010	0,157	0,085	0,050	0,063	0,085	0,020	0,040	0,169	0,118	0,160	0,251	-0,003	0,048	0,037	0,037
ST <sub>AS</sub>	0,108	0,205	0,225	0,156	0,347	0,071	0,100	0,347	0,120	0,244	0,068	0,398	0,220	0,345	0,083	0,089	0,132	0,132	0,132
J <sub>AS</sub>	0,052	0,072	0,054	0,022	0,101	0,082	0,009	0,101	0,030	0,031	0,150	0,115	0,126	0,008	0,203	0,148	0,139	0,139	0,139
JZ <sub>AS</sub>	0,081	0,081	0,057	0,078	0,091	0,130	0,020	0,091	0,053	0,026	0,199	0,125	0,194	-0,003	0,305	0,240	0,206	0,206	0,206
ST <sub>ORA</sub>	0,020	0,033	0,032	0,020	0,085	0,063	0,039	0,053	0,024	0,021	0,150	-0,037	0,305	0,083	0,085	0,031	0,034	0,034	0,034
J <sub>ORA</sub>	0,050	0,003	-0,003	0,056	0,016	0,012	0,098	0,031	0,012	0,034	-0,000	0,187	0,054	0,238	0,050	0,046	0,024	0,024	0,024
JZ <sub>ORA</sub>	0,072	0,005	0,001	0,092	0,019	0,007	0,135	0,055	0,007	0,061	0,009	0,222	0,074	0,292	0,080	0,070	0,034	0,000	0,000

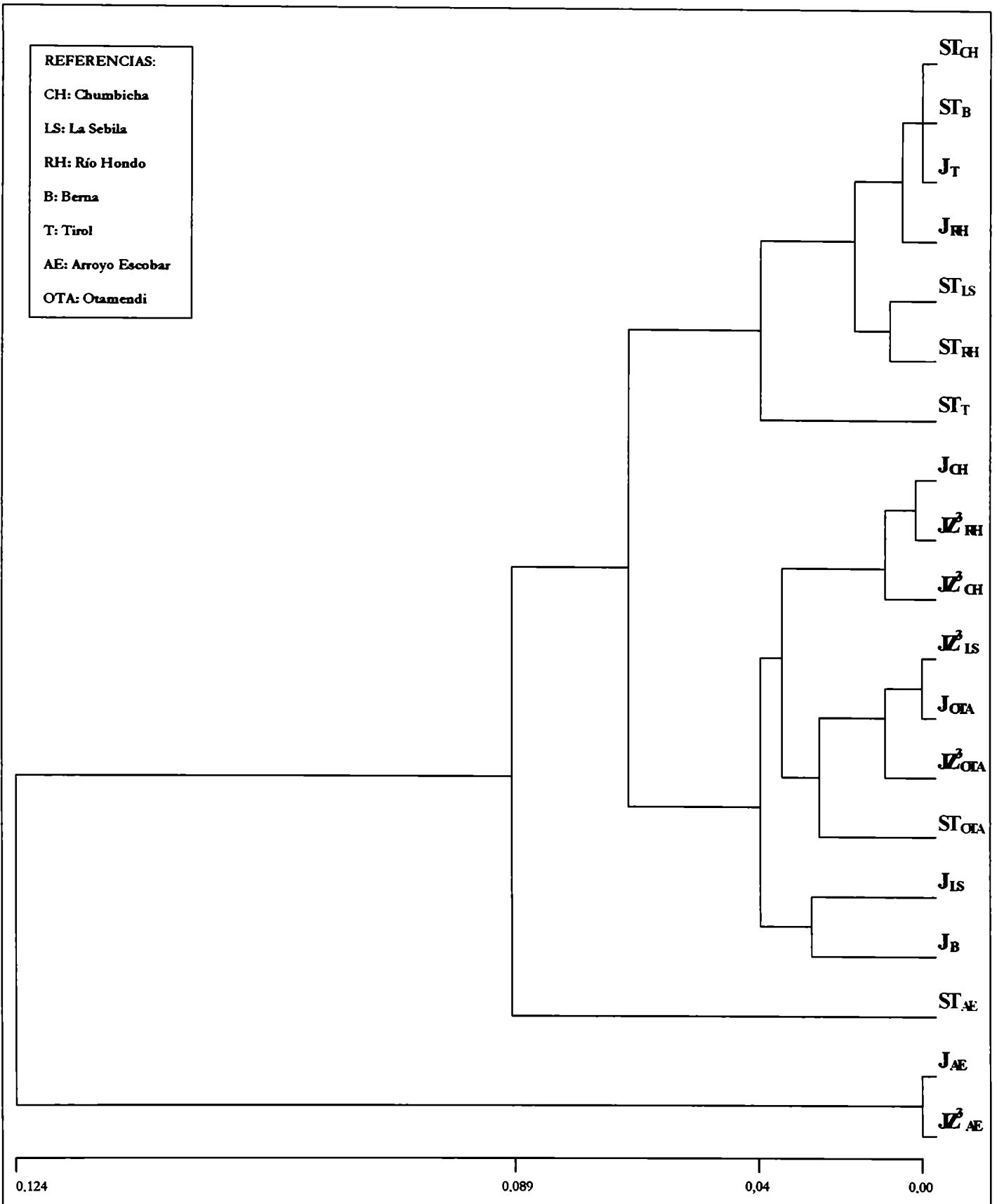
TABLA 3.11. Distancias de Nei entre las distintas ordenaciones presentes en las poblaciones de *D. buzzatii*. En mitad superior de la tabla las distancias considerando los siete loci enzimáticos analizados, y en la mitad inferior las distancias cuando se consideran únicamente los loci Est-1 y Aldox.

En la Tabla 3.11 se presentan las distancias entre los cromosomas de las distintas poblaciones. En la parte superior-derecha de la tabla constan las distancias cuando se consideran todos los loci analizados, y en la mitad inferior-izquierda parecen las distancias que resultan de considerar sólo los marcadores Est-1 y Aldox que mostraron asociaciones consistentes con las ordenaciones. En las Fig. 3.4.a y 3.4.b se muestran los fenogramas correspondientes obtenidos utilizando el algoritmo de Nei y el método de agrupamiento UPGMA. En ellos puede observarse la similitud en los contenidos genéticos de los cromosomas que portan las diferentes ordenaciones. Cuando se consideran los siete loci analizados (Fig. 3.4a), aparecen dos agrupaciones que se separan a una distancia de 0,040; una donde prevalecen los cromosomas portadores de la ordenación ancestral (2ST) –más allá de la población de la cual provengan– y otra donde prevalecen los cromosomas portadores de ordenaciones derivadas (2J y 2JZ<sup>3</sup>). Además puede verse que todos los cromosomas de la población de Arroyo Escobar aparecen diferenciados del resto: 2ST a una distancia de 0,056 y 2Jy 2JZ<sup>3</sup> a 0,124.

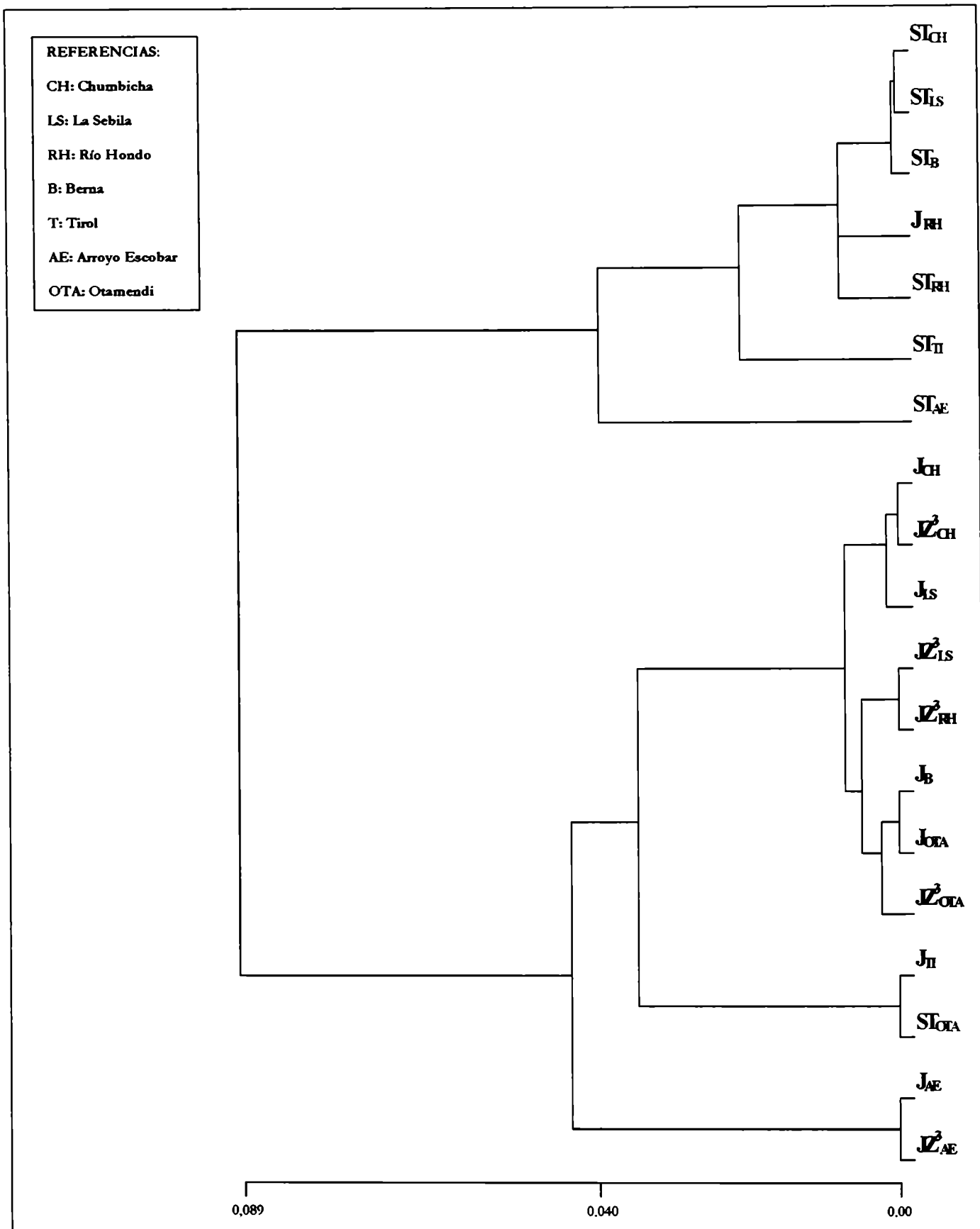
Al considerar solamente los loci Est-1 y Aldox (Fig. 3.4b), las distancias en general son menores, y puede observarse que los cromosomas 2ST se diferencian claramente de los portadores de las ordenaciones derivadas 2J y 2JZ<sup>3</sup>. Si bien en este caso los cromosomas de Arroyo Escobar se agrupan de acuerdo a la ordenación, puede observarse que, tanto ST<sub>AE</sub> como J<sub>AE</sub> y JZ<sup>3</sup><sub>AE</sub>, son los que más se diferencian del resto en sus respectivos grupos.

Así podemos concluir que Arroyo Escobar es la población que más se diferencia del resto.





**FIGURA 3.4.A** Fenograma de distancias genéticas entre cromosomas portadores de distintas ordenaciones en distintas poblaciones naturales de *D. buzzatii*, correspondiente a distancias genéticas en base a siete loci enzimáticos.



**FIGURA 3.4.B Fenograma de distancias genéticas entre cromosomas portadores de distintas ordenaciones en distintas poblaciones naturales de *D. buzzatii*, correspondiente a distancias genéticas en base a los loci enzimáticos Est-1 y Aldox.**

Sin embargo, es importante señalar que estos fenogramas no son los únicos posibles, y en la matriz de distancia, salvo el caso particular de AE, es difícil llegar a ver que la similitud entre las ordenaciones es efectivamente como lo muestran los fenogramas. Para mostrar estas relaciones de similitud en forma numérica pero más simple que la matriz de distancias, se calcularon las distancias medias entre ordenaciones, sin considerar la población de la cual provienen, excluyendo la divergente población de Arroyo Escobar (Tabla 3.11). Estas distancias medias se presentan en la Tabla 3.12; considerando tanto los siete loci (sector superior de la tabla), como considerando sólo Est-1 y Aldox (sector inferior de la tabla).

	ST	J	JZ <sup>3</sup>
ST	0,039 (0,032)	0,043 (0,041)	0,082 (0,040)
ST	0,042 (0,078)		
J		0,027 (0,019)	0,032 (0,019)
J	0,063 (0,060)	0,039 (0,039)	
JZ <sup>3</sup>			0,020 (0,014)
JZ <sup>3</sup>	0,117 (0,079)	0,031 (0,033)	0,004 (0,003)

**TABLA 3.12.** Distancias genéticas medias entre la ordenaciones provenientes de seis poblaciones de *D. buzzatii*, considerando los loci enzimáticos Est-1, Est-2, Lap, Aldox, Pep-1, Pep-2 y Xdh (mitad superior derecha) y considerando solo Est-1 y Aldox. Entre paréntesis, los desvíos standard.

Las distancias medias entre cromosomas con la misma ordenación, en general, varían entre 0,02 y 0,04; y esto sólo en el caso de JZ<sup>3</sup> se ve afectado por los loci que se consideran, ya que al considerar los loci Est-1 y Aldox la distancia media disminuye considerablemente (Tabla 3.12). J y JZ<sup>3</sup> presentan distancias entre sí que son menores que con respecto a

las verificadas entre cualquiera de ellas y ST. Estas diferencias entre ST y J ó JZ<sup>3</sup> se incrementan al considerar sólo los loci Est-1 y Aldox (Tabla 3.12).

### **Desequillbrió gamético entre loci isoenzimáticos.**

#### **Desequillbrió total**

---

AHORA LOCUS  
CONTRA  
LOCUS,  
ALELO  
CONTRA  
ALELO

---

A partir del análisis electroforético de cada macho y de uno de sus descendientes, se pudo obtener la composición genotípica y conocer la fase gamética para el conjunto de loci isoenzimáticos analizados. Con esta información fue posible abordar el análisis del desequilibrio gamético entre loci enzimáticos ( $\chi^2$ ) y calcular los coeficientes de desequilibrio gamético (D) y los coeficientes normalizados (D') para los alelos de distintos loci tomados de a pares. En las Tablas 3.13 a 3.16 se presentan los valores de  $\chi^2$  para cada par de loci, así como las asociaciones que mostraron desvíos del equilibrio significativos (cuantificados por D y D'), y por lo tanto las clases causantes de la significación de la prueba de contingencia. Además, se muestran los casos de asociaciones significativas entre alelos de loci enzimáticos en cada una de las ordenaciones

Est-1		Est-2	Lap	Aldox	Pep-1	Pep-2	Xdh
$X_r^2$		13,64	11,11*	5,66	6,48	3,19	10,23
g.l.		8	4	6	4	6	6
Asociaciones	Global	+ c-c	+ b-b / - b-c + c-c		- c-b / c-c		+ b-b / - b-c - c-b / + c-c
	2ST			+ c-b		+ c-c	+ c-c
	2J	- c-b / - b- c + c-c	+ c-c				
	2JZ <sup>3</sup>			- a-b / +		+ a-c	

**TABLA 3.13.** Desequilibrio gamético y asociaciones alélicas con D significativamente distinto de cero del locus Est-1, con los loci Est-2, Lap, Aldox, Pep-1, Pep-2 y Xdh. En las asociaciones se indica el signo del coeficiente de desequilibrio D y el alelo de Est-1 en primer término. (\*: P<0,05)

Est-2		Lap	Aldox	Pep-1	Pep-2	Xdh
$X_r^2$		2,70	10,5	16,00*	8,61	28,19*
g.l.		8	12	8	12	12
Asociaciones	Global			- a-c / - c-b +b-b / + c-c		+ c-b / - c-c
	2ST.		+ a-c			+ a-c / - b-c + b-a
	2J					+ c-b
	2JZ <sup>3</sup>				+ c-c	- c-b

**TABLA 3.14.** Desequilibrio gamético y asociaciones alélicas con D significativamente distinto de cero del locus Est-2, con los loci Lap, Aldox, Pep-1, Pep-2 y Xdh. En las asociaciones se indica el signo del coeficiente de desequilibrio D y el alelo de Est-2 en primer término. (\*: P<0,05)

Lap		Aldox	Pep-1	Pep-2	Xdh
$X_r^2$		24,37*	10,83*	16,40*	8,87
g.l.		6	4	6	6
Asociaciones	Global	+ b-a / - b-b + c-b / - c-a	+ a-c / + c-c - c-b	+ a-a / + b-b - a-b / - b-a	+ b-b / - b-c - c-b
	2ST.	+ b-a / + c-c - c-a	+ a-a / - b-a	+ a-a	+ b-b / - b-c - c-b / + c-d
	2J	+ c-b			
	2JZ <sup>3</sup>				

**TABLA 3.15.** Desequilibrio gamético y asociaciones alélicas con D significativamente distinto de cero del locus Lap con los loci Aldox, Pep-1, Pep-2 y Xdh. En las asociaciones se indica el signo del coeficiente de disequilibrio D y el alelo de Lap en primer término. (\*: P<0,05)

Aldox		Pep-1	Pep-2	Xdh
$X_r^2$		5,96	9,6	90,65*
g.l.		6	9	9
Asociaciones	Global		+ a-b / - a-a	+ a-b / - a-c + b-c / - b-b
	2ST.		+ b-c	+ a-b / + b-d
	2J			+ b-c / - a-c
	2JZ <sup>3</sup>		+ a-b / - a-a	+ b-c / - a-c

**TABLA 3.16.** Desequilibrio gamético y asociaciones alélicas con D significativamente distinto de cero del locus Aldox con los loci Pep-1, Pep-2 y Xdh. En las asociaciones se indica el signo del coeficiente de disequilibrio D y el alelo de Aldox en primer término. (\*: P<0,05)

Pep-1		Pep-2	Xdh	Pep-2	Xdh	
$X_r^2$		33,88*	13,7*	$X_r^2$	15,09	
g.l.		6	6	g.l.	9	
Asociaciones	Global	+ b-b / - b-c		Asociaciones	Global	+ a-c / - a-b + c-b / - c-c
	2ST.				2ST.	- a-b
	2J	+ c-c / - c-a - b-c	+ a-a / - b-a		2J	
	2JZ <sup>3</sup>	+ b-a / + c-c c - c-a	+ c-a		2JZ <sup>3</sup>	

**TABLA 3.17.** Desequilibrio gamético y asociaciones alélicas con D significativamente distinto de cero del locus Pep-1 con los loci Pep-2 y Xdh, y del locus Pep-2 con el locus Xdh. En las asociaciones se indica el signo del coeficiente de disequilibrio D y el alelo de Pep-1 ó Pep-2 en primer término. (\*: P<0,05)

Este análisis global muestra asociaciones significativas entre el locus Lap tanto con Est-1 (Tabla 3.13), como Aldox, Pep-1 y Pep-2 (Tabla 3.15). Asimismo, la asociación entre Pep-1 y Lap, así como entre aquel y Est-2, Pep-2 y Xdh (Tabla 3.14 y 3.15) son también significativas. Por último, Xdh muestra asociaciones con Est-2 y Aldox, además de Pep-1.

Sin embargo, como era de esperar, no todos los pares de alelos de cada locus aportan al desequilibrio total (asociaciones en Tablas 3.13 a 3.17). Para cada par de loci hay asociaciones alélicas en equilibrio mientras que otras muestran desequilibrios gaméticos significativos.

#### **Coefficientes de desequilibrio gamético**

En la Tabla 3.18 se presentan los coeficientes D y D' en los casos en los cuales el coeficiente de desequilibrio entre alelos resulta significativo en la muestra global. Se excluyen, para simplicidad de la tabla, aquellos casos que involucran alelos poco frecuentes (menos del 5 %). En esta tabla, de doble entrada, aparecen los coeficientes D en la mitad triangular superior (por encima de la diagonal) y los coeficientes D' en la mitad triangular inferior (por debajo de la diagonal).

**CONTENIDO GENÉTICO DEL CROMOSOMA 2**

D'	Est-1			Est-2			Lap			Aldox			Pep-1			Pep-2			Xdh			
	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	
Est-1 a	b																					
	c					0,01																
Est-2 a	b																					
	c					0,08																
Lap a	b																					
	c					0,18																
						-0,23	0,11															
Aldox a	b																					
	c					-0,06																
						0,16	-0,10															
Pep-1 a	b																					
	c					0,11																
						-0,33	0,18															
Pep-2 a	b																					
	c																					
Xdh	b																					
	c					0,10	-0,12															
						-0,10	0,10															

**TABLA 3.18.** Coeficientes de desequilibrio (D), en mitad superior de la tabla, y los coeficientes normalizados D', en la mitad inferior, de alelos cuya frecuencia es superior al 5% de los loci enzimáticos tomados de a pares en una muestra global que incluye siete poblaciones de *D. buzzatii*.



En general, en todos los casos en los cuales el valor de  $\chi^2$  resulta significativo, se detectan asociaciones alélicas significativas, cuando al menos algún valor de  $D'$  es superior a 0,20. La única excepción es el par Pep-1/Xdh, donde si bien el  $\chi^2$  resulta significativo (Tabla 3.17), el único coeficiente de disequilibrio gamético entre alelos significativo corresponde a Pep-1<sup>a</sup>/Xdh<sup>a</sup> ( $D=0,01$   $D'=0,13$   $P=0,00$ ) que no figura en la tabla por ser Xdh<sup>a</sup> un alelo poco frecuente o ausente en varias de las poblaciones (Tabla 3.8). Por otra parte, aún cuando el  $\chi^2$  no resulta significativo, también se detectan coeficientes de disequilibrio significativos entre alelos de los pares de loci Est-1/Est-2 ; Est-1/Pep-1 ; Aldox/Pep-2 ; Lap-Xdh ; y Pep-2/Xdh. En estos casos  $D'$  resulta menor de 0,20 salvo en los coeficientes que involucran a Pep-2<sup>c</sup> (Tabla 3.13), que es un alelo relativamente raro (0,04) (Tabla 3.7). Estas diferencias sugieren que las pruebas estadísticas empleadas tienen diferente sensibilidad.

Hasta aquí, realizamos el análisis de asociaciones entre loci enzimáticos en la muestra global. Sin embargo, cabe preguntarse acerca de los disequilibrios gaméticos en cada una de las poblaciones.

#### **Análisis del disequilibrio gamético Intrapoblacional**

Dado que en esta muestra se incluyen distintas poblaciones, incluso de diferentes regiones, el disequilibrio gamético podría ser diferente en cada población. Para abordar este aspecto, analizamos las asociaciones gaméticas que resultan significativas y sus signos, tanto en la muestra global como en cada población. Estos resultados se presentan en las tablas 3.19 a 3.22. En cada caso consideramos primero todas las gametas analizadas de cada población (total), y luego discriminamos los cromosomas con diferentes ordenaciones (los valores de  $D$ ,  $D'$  y  $P$  de

---

MIRANDO  
POBLACIÓN  
POR  
POBLACIÓN

---

cada asociación se presentan en el apéndice 3b). En todos los casos se respetó el orden de los alelos de cada par, de modo que el primero corresponde al locus común a toda la tabla y el segundo al locus correspondiente a la columna.

En la Tabla 3.19 puede observarse que el alelo Est-1<sup>c</sup> está significativamente asociado con el alelo Est-2<sup>c</sup>. Esta asociación se detecta en la ordenación 2J y en la muestra global ( $D' = 0,08$  en Tabla 3.13) y si bien sólo resultó significativa en dos poblaciones, La Sebila y Río Hondo, la significación de esta asociación en el global indica que la tendencia en las otras poblaciones sería concordante. Algo parecido ocurre con las asociaciones Est-1<sup>b</sup>–Lap<sup>b</sup> y Est-1<sup>c</sup>–Lap<sup>c</sup>, que se detectan en el total de la muestra y también aparecen asociadas a la ordenación 2J en Chumbicha y Escobar. También en este caso la significación de estas asociaciones en la muestra global sugiere que la tendencia sería similar en las demás poblaciones.

Est-1 y Aldox son dos de los marcadores que presentan desequilibrio gamético con las inversiones (Tablas 3.2; 3.5 y 3.10), sin embargo prácticamente no muestran asociaciones alélicas globales significativas entre ellas. La única asociación significativa detectada en Chumbicha, Est-1<sup>c</sup> – Aldox<sup>b</sup>, ocurre en la ordenación 2J, cuando en el total de la muestra esta asociación resultó significativa en la ordenación 2ST (Tabla 3.19).

CONTENIDO GENÉTICO DEL CROMOSOMA 2

Est-1		Est-2	Lap	Aldox	Pep-1	Pep-2	Ndh
<b>Cumbicha</b>	Total			+cb			
	2ST.	+cb				+cc	
	2J.		+cc	+cb			
	2Z <sup>3</sup>						
<b>LaSaña</b>	Total	+cc					
	2ST.						
	2J.	+cc					
	2Z <sup>3</sup>						
<b>Río Hondo</b>	Total					+aa/-ab	
							-ba/+bb
	2ST.		+ac			+aa/-ba	
						+ b-b / + c-c	
	2J.	+cc					-bc
<b>Berna</b>	Total					-aa/+ba	
						- b-b	
	2ST.				-ab/+ac	+ b-a / - b-b	-ab
		+ c-a / - c-b			+ b-b		
	2J.						

**TABLA 3.19.** Asociaciones alélicas en desequilibrio (con D significativamente distinto de cero) del locus Est-1, con los loci Est-2, Lap, Aldox Pep-1, Pep-2 y Xdh en poblaciones de *D. buzzatii*.

CONTENIDO GENÉTICO DEL CROMOSOMA 2

Est-1	Est-2	Lap	Aldx	Pep-1	Pep-2	Xdh
<b>Tol</b>	Total	+ba				
	2ST.	-aa				
	2J.					
<b>Esobar</b>	Total		+bb/-bc -c-b / +c- c			
	2ST.	+ca				
	2J.		+b-b / + c-c			
	2J <sup>2</sup>					
<b>Ozamendi</b>	Total					+cc -c-b / +c-c
	2ST.	+aa/-ba +b-b / +b- d				
	2J.					
	2J <sup>2</sup>	+a-c / +c- d	+aa/+ac +b-b		+ac	+bb/-bc +c-c
	<b>GLOBAL</b>	Total	+cc	+bb/-bc +c-c		-c-b / +c- c
	2ST.			+cb	+cc	+cc
	2J.	-cb/-bc +c-c	+cc			
	2J <sup>2</sup>			-ab/+aa	+ac	

**TABLA 3.19 (CONTINUACIÓN). Asociaciones alélicas en desequilibrio (con D significativamente distinto de cero) del locus Est-1, con los loci Est-2, Lap, Aldox Pep-1, Pep-2 y Xdh en poblaciones de *D. buzzatii*.**

Tampoco aparecen asociaciones alélicas entre Est-1 y Pep-1 o Pep-2 que resulten consistentes en las diferentes poblaciones, pero Est-1<sup>c</sup> – Pep-1<sup>c</sup> aparecen en desequilibrio gamético positivo y significativo en la muestra global. Por último Est-1 y Xdh presentan asociaciones alélicas en desequilibrio que alcanza la significación sólo en Otamendi y en el global. Sin embargo, la asociación Est-1<sup>b</sup> – Xdh<sup>b</sup> es consistente con el desequilibrio de ambos alelos con la ordenación 2J (Tabla 3.19).

En general, el alelo de Est-1 más involucrado en asociaciones es el Est-1<sup>c</sup> (Tabla 3.19), que no presenta asociación con las inversiones (Tabla 3.2).

Est-2 muestra, además, desequilibrio significativo con Pep-1 y Xdh (Tabla 3.18). Las asociaciones Est-2<sup>c</sup> – Pep-1<sup>c</sup> y Est-2<sup>c</sup> – Xdh<sup>b</sup> nuevamente involucran a los alelos que muestran desequilibrio con la ordenación 2J, y en el caso de Xdh dicha asociación aparece en esta ordenación (Tabla 3.20).

Si bien en la muestra global no aparecen otras asociaciones significativas, se observan otras entre alelos de los loci Lap y Aldox en algunas poblaciones, pero que no son consistentes; por ejemplo los alelos Est-2<sup>b</sup> – Aldox<sup>a</sup> que están positivamente asociados en Río Hondo se encuentran en repulsión en Berna (ver Tabla 3.20).

CONTENIDO GENÉTICO DEL CROMOSOMA 2

Est-2		Lap	Aldox	Pep-1	Pep-2	Xdh
<b>Chumbicha</b>	Total	-ab		-db		
	2ST.	- a-b / a-c				
	2J.			+dc		
	2Z <sup>3</sup>			+cc	+aa	
<b>LaSelva</b>	Total				+ d-a	
	2ST.					
	2J.					
	2Z <sup>3</sup>					
<b>NoHondo</b>	Total		+ba/-bb			
	2ST.		- d-a			-bc
	2J.		-bb			
	2Z <sup>3</sup>		-bb			
<b>Berna</b>	Total		+ a-a / - a-b		+ d-c	
	2ST.	-bb				
	2J.					
	2Z <sup>3</sup>					

**TABLA 3.20.** Asociaciones alélicas en desequilibrio (con D significativamente distinto de cero) del locus Est-2, con los loci Lap, Aldox Pep-1, Pep-2 y Xdh en poblaciones de *D. buzzatii*.

CONTENIDO GENÉTICO DEL CROMOSOMA 2

	Est-2	Lap	Aldx	Pep-1	Pep-2	Xdh
<b>Trial</b>	Total					
	2ST.		+cb			
	2J.					
<b>Escobar</b>	Total					
	2ST.				+ba	
	2J.		- b-a / + b-b			
	2Z <sup>2</sup>	- d-b / + d-c	+db	+ac		
<b>Ocamendi</b>	Total	-cb	-cb	+aa		
	2ST.	+dc	+db			
	2J.	-cb		+aa		+dc
	2Z <sup>2</sup>		+bb	-cb		+ a-b / +c-b
<b>GLOBAL</b>	Total			-ac/-cb		+ c-b / - c-c
				+b-b / + c-c		
	2ST.		+ac			+ a-c / - b-c + b-a
	2J.					+ c-b
	2Z <sup>2</sup>			+cc		- c-b

**TABLA 3.20 (CONTINUACIÓN).** Asociaciones alélicas en desequilibrio (con D significativamente distinto de cero) del locus Est-2, con los loci Lap, Aldox Pep-1, Pep-2 y Xdh en poblaciones de *D. buzzatii*.

CONTENIDO GENÉTICO DEL CROMOSOMA 2

Lap	Aldox	Pep-1	Pep-2	Xdh	
<b>Chumbicha</b>	Total	-c-a / +c-b	-ba/+bb +c-a / -c-b	-b-b / +c-b	+bb
	2ST.		+ca		+bb
	2J.	-bb/-ca +c-b	-ba/+bb +c-a / -c-b		
	2J <sup>2</sup>				
<b>LaSaña</b>	Total				
	2ST.				
	2J.				
	2J <sup>2</sup>				
<b>Río Hondo</b>	Total			-b-a / +b-b	
	2ST.				
	2J.			+bb	-bc
	2J <sup>2</sup>				
<b>Berna</b>	Total	-c-a / +c-b		+a-a	+ac
	2ST.				+ac/+bb -b-c
	2J.	+b-a / -c-a +c-b			
	2J <sup>2</sup>				

**TABLA 3.21.** Asociaciones alélicas en desequilibrio (con D significativamente distinto de cero) del locus Lap, con los loci Aldox, Pep-1, Pep-2 y Xdh en poblaciones de *D. buzzatii*.



CONTENIDO GENÉTICO DEL CROMOSOMA 2

	Lap	Aldx	Pep-1	Pep-2	Xdh
<b>Tol</b>	Total		+aa/-ab -b-a		
	2ST.		+aa		
	2J.				
<b>Esobar</b>	Total				
	2ST.				
	2J.				
	2J <sup>2</sup>				
<b>Ozamentí</b>	Total		+cc		
	2ST.				+ a-c / + b-b - b-c
	2J.		+cc		
	2J <sup>2</sup>			+cc	
<b>GLOBAL</b>	Total	+ba/-bb + c-b / - c-a	+ac/+cc - c-b	+aa/+bb - a-b / - b-a	+ b-b / - b-c - c-b
	2ST.	+ba/+cc - c-a	+aa/-ba	+aa	+ b-b / - b-c - c-b / + c-d
	2J.	+cb			
	2J <sup>2</sup>				

**TABLA 3.21 (CONTINUACIÓN).** Asociaciones alélicas en desequilibrio (cen D significativamente distinto de cero) del locus Lap, con los loci Aldox, Pep-1, Pep-2 y Xdh en poblaciones de *D. buzzatii*.

Lap presenta desequilibrio con Est-1, Aldox, Pep-1, Pep-2 y Xdh (Tabla 3.18), y en general las asociaciones son consistentes en diferentes poblaciones (Tablas 3.17; 3.18 y 3.19), lo que hace que resulten significativas en la muestra global, con excepción de Lap<sup>b</sup> – Pep-2<sup>b</sup> que si bien aparece en exceso en la muestra global ( $D > 0$ ), está en defecto en la población de Chumbicha (Tabla 3.21).

En el global de la Tabla 3.22 pueden observarse asociaciones alélicas entre Aldox y Xdh, que nuevamente resultan consistentes con los desequilibrios detectados entre estos marcadores y las inversiones: Aldox<sup>a</sup> – Xdh<sup>b</sup>, en desequilibrio con la ordenación 2J (Tabla 3.10); y Aldox<sup>b</sup> – Xdh<sup>c</sup>, en desequilibrio con 2ST (Tabla 3.10). Sin embargo en este caso, la primera asociación resulta significativa en 2ST y la segunda lo es en 2J y 2JZ<sup>3</sup>.

Pep-1 muestra desequilibrio con Est-1; Est-2; Lap; y Pep-2 (Tabla 3.18). Las asociaciones Pep-1–Pep-2 en las poblaciones totales (Tabla 3.23) resultan consistentes con las observadas en el global, sin embargo, en cada población estas asociaciones resultan significativas en distintas inversiones (Tabla 3.23).

Por último, las asociaciones Pep-2<sup>a</sup> - Xdh<sup>c</sup> y Pep-2<sup>c</sup> – Xdh<sup>b</sup> resultan significativas a expensas de Pep-2<sup>a</sup> - Xdh<sup>b</sup> y Pep-2<sup>c</sup> – Xdh<sup>c</sup> (coeficientes de desequilibrio  $D$  y  $D' < 0$ ), y aunque estas asociaciones sólo resultan significativas en la muestra de la población total de Berna (Tabla 3.24), la significación también en el global (Tabla 3.24) estaría evidenciando una tendencia consistente en todas las poblaciones.

CONTENIDO GENÉTICO DEL CROMOSOMA 2

Ahx	Pep-1	Pep-2	Xdh
<b>Chumbicha</b>	Total		+ab/-ac - b-b / + b-c
	2ST.		
	2J.		+bc
	2Z <sup>3</sup>		+ab/+bc - a-c
<b>LaSola</b>	Total		-ac
	2ST.		
	2J.		
	2Z <sup>3</sup>		
<b>NoHondo</b>	Total		+ab/-bb + b-c
	2ST.		+ab
	2J.		+bc
	2Z <sup>3</sup>		
<b>Bera</b>	Total		
	2ST.		
	2J.		
	2Z <sup>3</sup>		

**TABLA 3.22.** Asociaciones alélicas en desequilibrio (con D significativamente distinto de cero) del locus Aldox, con los loci Pep-1, Pep-2 y Xdh en poblaciones de *D. buzzatii*.

CONTENIDO GENÉTICO DEL CROMOSOMA 2

Aldox	Pep-1	Pep-2	Xdh
<b>Tard</b>	Total	-bb	
	2ST.		
	2J.		
<b>Escobar</b>	Total		
	2ST.		
	2J.		
	2J <sup>2</sup>	+ a-b / + b-a	
<b>Ozamendi</b>	Total		
	2ST.		
	2J.		
	2J <sup>2</sup>	- a-a / + a-b	
<b>GLOBAL</b>	Total	+ab/-aa	+ a-b / -a-c +b-c / - b-b
	2ST.	+bc	+ a-b / + b-d
	2J.		+ b-c / - a-c
	2J <sup>2</sup>	+ab/-aa	+ b-c / - a-c

**TABLA 3.22 (CONTINUACIÓN).** Asociaciones alélicas en desequilibrio (con D significativamente distinto de cero) del locus Aldox, con los loci Pep-1, Pep-2 y Xdh en poblaciones de *D. buzzatii*.

Pep-1	Pep-2	Xdh
<b>Chumbicha</b>	Total	
	2ST.	+bb/+cc - b-c
	2J.	
	2Z <sup>3</sup>	
<b>LaSaña</b>	Total	
	2ST.	
	2J.	
	2Z <sup>3</sup>	
<b>RíoHondo</b>	Total	
	2ST.	
	2J.	
	2Z <sup>3</sup>	
<b>Berna</b>	Total	
	2ST.	
	2J.	+ b-a / - b-b
	2Z <sup>3</sup>	

**TABLA 3.23.** Asociaciones alélicas en desequilibrio (con D significativamente distinto de cero) del locus Pep-1, con los loci Pep-2 y Xdh en poblaciones de *D. buzzatii*.

	Pep-1	Pep-2	Xdh
<b>Tad</b>	Total	+bb/-ba + c-c	
	2ST.	+aa/-ba + b-b / + c-c	
	2J.		
	2J <sup>2</sup>		
<b>Esobar</b>	Total		
	2ST.		
	2J.	- b-c / + c-c	
	2J <sup>2</sup>		
<b>Oamendi</b>	Total	- b-c / + c-c	
	2ST.		
	2J.	+cc	
	2J <sup>2</sup>	+cc	
<b>GLOBAL</b>	Total	+bb/-bc	
	2ST.		
	2J.	+cc/-ca - b-c	+ a-a / - b-a
	2J <sup>2</sup>	+ba/+cc - c-a	+ c-a

**TABLA 3.23 (CONTINUACIÓN).** Asociaciones alélicas en desequilibrio (con D significativamente distinto de cero) del locus Pep-1, con los loci Pep-2 y Xdh en poblaciones de *D. buzzatii*.

CONTENIDO GENÉTICO DEL CROMOSOMA 2

Pep-2		Xdh		Pep-2		Xdh	
<b>Onubicha</b>	Total			<b>Tirol</b>	Total		
	2ST.				2ST.		
	2J.				2J.		
	2J <sup>2</sup>				2J <sup>2</sup>		
<b>LaSelva</b>	Total			<b>Escoibar</b>	Total		
	2ST.				2ST.		
	2J.				2J.		
	2J <sup>2</sup>				2J <sup>2</sup>		
<b>RíoHondo</b>	Total			<b>Ozamendi</b>	Total		
	2ST.				2ST.		
	2J.				2J.		
	2J <sup>2</sup>				2J <sup>2</sup>	+ a-c	
<b>Berna</b>	Total	- a-b / +b-b		<b>GLOBAL</b>	Total	+ a-c / - a-b	
	2ST.	-ab			2ST.	- a-b	
	2J.				2J.		
	2J <sup>2</sup>				2J <sup>2</sup>		

**TABLA 3.24.** Asociaciones alélicas en desequilibrio (con D significativamente distinto de cero) del locus Pep-2, con el locus Xdh en poblaciones de *D. buzzatii*.

**TABLA 3.24 (CONTINUACIÓN).** Asociaciones alélicas en desequilibrio (con D significativamente distinto de cero) del locus Pep-2, con el locus Xdh en poblaciones de *D. buzzatii*.

**Desequilibrios gaméticos entre alelos de loci asociados a las ordenaciones cromosómicas.**

**EL DESE-  
QUILIBRIO  
PUEDE SER  
TRANSITORIO,  
PERO SERÁ  
TRANSITIVO?**

Hay casos en los cuales detectamos coeficientes de desequilibrio gamético significativo entre alelos de loci que a su vez presentan desequilibrio gamético significativo con alguna de las ordenaciones. En estos casos, el desequilibrio gamético de los loci con las inversiones, podría estar relacionado con las asociaciones alélicas detectadas entre loci enzimáticos. Para analizar estos aspectos, se consideró el desequilibrio ‘dentro’ y ‘entre’ ordenaciones En la tabla 3.25 se presentan estos resultados.

Coeficientes D				
	Total	ST	J	JZ <sup>2</sup>
<b>Est1<sup>c</sup> – Est2<sup>c</sup></b>	0,01*	---	0,03*	- 0,01
<b>Est1<sup>c</sup> – C</b>		-0,01	0,01	0,00
<b>Est2<sup>c</sup> – C</b>		-0,05*	0,04*	0,01
<b>Est1<sup>c</sup> – Est2<sup>c</sup> – C</b>		0,006*	0,004	-0,002
<b>Est1<sup>c</sup> – Pep1<sup>c</sup></b>	0,01*	0,00	0,01	0,03
<b>Est1<sup>c</sup> – C</b>		-0,01	0,01	0,00
<b>Pep1<sup>c</sup> – C</b>		-0,01	-0,01	0,01*
<b>Est1<sup>c</sup> – Pep1<sup>c</sup> – C</b>		-0,000	-0,002	0,000
<b>Est2<sup>b</sup> – Pep1<sup>b</sup></b>	0,01*	0,01	0,00	0,03
<b>Est2<sup>b</sup> – C</b>		-0,05*	0,04*	0,01*
<b>Pep1<sup>b</sup> – C</b>		0,00	0,01	-0,01*
<b>Est2<sup>b</sup> – Pep1<sup>b</sup> – C</b>		0,06*	0,00	-0,02*
<b>Est2<sup>c</sup> – Pep1<sup>c</sup></b>	0,04*	---	0,01	0,01
<b>Est2<sup>c</sup> – C</b>		-0,05*	0,04*	0,01*
<b>Pep1<sup>c</sup> – C</b>		-0,01	-0,01	0,01*
<b>Est2<sup>c</sup> – Pep1<sup>c</sup> – C</b>		-0,004*	0,001	0,001

**TABLA 3.25.** Coeficientes de desequilibrio gamético de alelos de los loci Est1, Est-2 Aldox y Pep-1 dentro , entre y con Inversiones ( – C ) en la muestra global de poblaciones de *D. buzzatii*.



Los alelos Est-1<sup>c</sup> – Est-2<sup>c</sup>, que aparecen asociados en la muestra global, muestran desequilibrio gamético significativo dentro de la ordenación 2J, y ambos marcadores estarían asociados a esta ordenación, ya que el signo de los coeficientes es positivo, pero en Est-1<sup>c</sup> la asociación no fue significativa. En los demás casos, (Est-1<sup>c</sup> - Pep1<sup>c</sup> ; Est-2<sup>b</sup> – Pep1<sup>b</sup> y Est-2<sup>c</sup> – Pep1<sup>c</sup>) las asociaciones alélicas significativas en el global, no presentaron desequilibrio significativo dentro de las ordenaciones, aún cuando en algunos casos uno de los marcadores, o ambos como en el caso de Est-2<sup>c</sup> y Pep-1<sup>c</sup> con 2JZ<sup>3</sup>, están en desequilibrio con la ordenación (Tabla 3.25).

En la Tabla 3.25 se incluyen en cada caso los coeficientes de desequilibrio gamético para los dos marcadores y la ordenación. Sólo dos asociaciones resultaron significativas: 2ST – Est-1<sup>c</sup> – Est-2<sup>c</sup> ; y 2ST – Est-2<sup>b</sup> – Pep1<sup>b</sup> y en ambos casos, los alelos de Est-2 están en repulsión con la ordenación ST (coeficiente de desequilibrio negativo y significativo).

### Desequilibrios gaméticos de Xdh

---

QUE UNE A  
XDH CON LAS  
INVERSIONES,  
¿SERÁN SÓLO  
AMIGAS?

---

De los cuatro loci, Est-1; Est-2; Aldox y Xdh, que presentaron fuerte desequilibrio gamético con las ordenaciones (Tablas 3.2 a 3.8), Xdh es el único que no está físicamente relacionado con ellas. Sin embargo, este locus presenta además desequilibrio gamético con los loci enzimáticos Est-1, Est-2 y Aldox, los cuales se localizan en el segmento comprometido en las inversiones. Por lo tanto, los desequilibrios gaméticos que presenta el locus Xdh con estos loci, podrían explicar, al menos en parte, las asociaciones de alelos de Xdh con las inversiones.

Para estudiar este aspecto, analizamos los componentes de los desequilibrios gaméticos ‘dentro’ y ‘entre’ inversiones en aquellos casos en que los alelos de Xdh muestran desequilibrio positivo con alelos de Est-1, Est-2 o Aldox, y las inversiones. En la Tabla 3.26 se presentan dichos componentes y, en cada caso, los coeficientes de desequilibrio D para los tres alelos involucrados.

Coeficientes D				
	Total	ST	J	JZ <sup>2</sup>
<b>Est1<sup>b</sup> - Xdh<sup>b</sup></b>	0,02*	0,01	0,01	0,03
<b>Est1<sup>b</sup> - C</b>		-0,05*	0,03*	0,01*
<b>Xdh<sup>b</sup> - C</b>		-0,06*	0,05*	0,01
<b>Est1<sup>b</sup> - Xdh<sup>b</sup> - C</b>		0,03*	-0,06*	-0,01
<b>Est1<sup>c</sup> - Xdh<sup>c</sup></b>	0,01	0,01	0,02	0,01
<b>Est1<sup>c</sup> - C</b>		-0,05	0,03	0,00
<b>Xdh<sup>c</sup> - C</b>		0,05*	-0,04*	-0,01
<b>Est1<sup>c</sup> - Xdh<sup>c</sup> - C</b>		0,005	-0,01*	0,00
<b>Est2<sup>c</sup> - Xdh<sup>b</sup></b>	0,02	0,01	0,03*	-0,07*
<b>Est2<sup>c</sup> - C</b>		-0,05*	0,04*	0,01*
<b>Xdh<sup>b</sup> - C</b>		-0,06*	0,05	0,01
<b>Est2<sup>c</sup> - Xdh<sup>b</sup> - C</b>		0,00	-0,04*	-0,01*
<b>Aldox<sup>a</sup> - Xdh<sup>b</sup></b>	0,04*	0,04*	0,02	0,03
<b>Aldox<sup>a</sup> - C</b>		-0,04*	0,03*	0,01*
<b>Xdh<sup>b</sup> - C</b>		-0,06*	0,05*	0,01
<b>Aldox<sup>a</sup> - Xdh<sup>b</sup> - C</b>		0,04*	-0,05*	-0,01*
<b>Aldox<sup>b</sup> - Xdh<sup>c</sup></b>	0,04*	0,03	0,03*	0,03*
<b>Aldox<sup>b</sup> - C</b>		0,03*	-0,02*	-0,01
<b>Xdh<sup>c</sup> - C</b>		0,05*	-0,04*	-0,01
<b>Aldox<sup>b</sup> - Xdh<sup>c</sup> - C</b>		-0,002	-0,02*	-0,02*

**TABLA 3.26.** Coeficientes de desequilibrio gamético de alelos del locus Xdh con Est-1, Est-2 y Aldox dentro , entre y con inversiones ( - C ) en la muestra global de poblaciones de *D. buzzatii*.

Los alelos Est-1<sup>b</sup> – Xdh<sup>b</sup>, que en general aparecen asociados con mayor frecuencia de lo esperado por azar, muestran la misma tendencia dentro de cada ordenación, ya que si bien los coeficientes no resultan significativos, sus signos son positivos. Sin embargo, la asociación de cada uno de ellos con la ordenación 2ST es significativamente negativa (Tabla 3.26). Lo mismo puede decirse respecto de las asociaciones entre los alelos Est-2<sup>c</sup> – Xdh<sup>b</sup> dentro de 2ST y Aldox<sup>b</sup> - Xdh<sup>c</sup> dentro de 2J. La asociación entre Est-1<sup>c</sup> y Xdh<sup>c</sup>, no resulta significativa dentro de ninguna de las ordenaciones, pero en este caso considerando los signos de los coeficientes, las asociaciones de ambos alelos con las ordenaciones serían antagónicas. Por último, Aldox<sup>a</sup> y Xdh<sup>b</sup> aparecen asociados con mayor frecuencia de lo esperado por azar dentro de la ordenación 2ST, cuando Aldox<sup>a</sup> está en repulsión con esta ordenación. Mientras tanto, en la ordenación 2J, con la cual ambos alelos están en acoplamiento, la asociación no resulta significativa.

Los coeficientes de desequilibrio gamético para cada par de loci con cada inversión (asociaciones triples en Tabla 3.26), muestran sólo dos asociaciones significativas: ST – Est-1<sup>b</sup> – Xdh<sup>b</sup> y ST – Aldox<sup>a</sup> - Xdh<sup>b</sup>; sin embargo en ambas se verifica que los alelos involucrados aparecen asociados con mayor frecuencia de lo esperado con 2J (coeficiente de desequilibrio positivo y significativo), a expensas de su frecuencia dentro de 2ST (coeficiente de desequilibrio negativo y significativo).

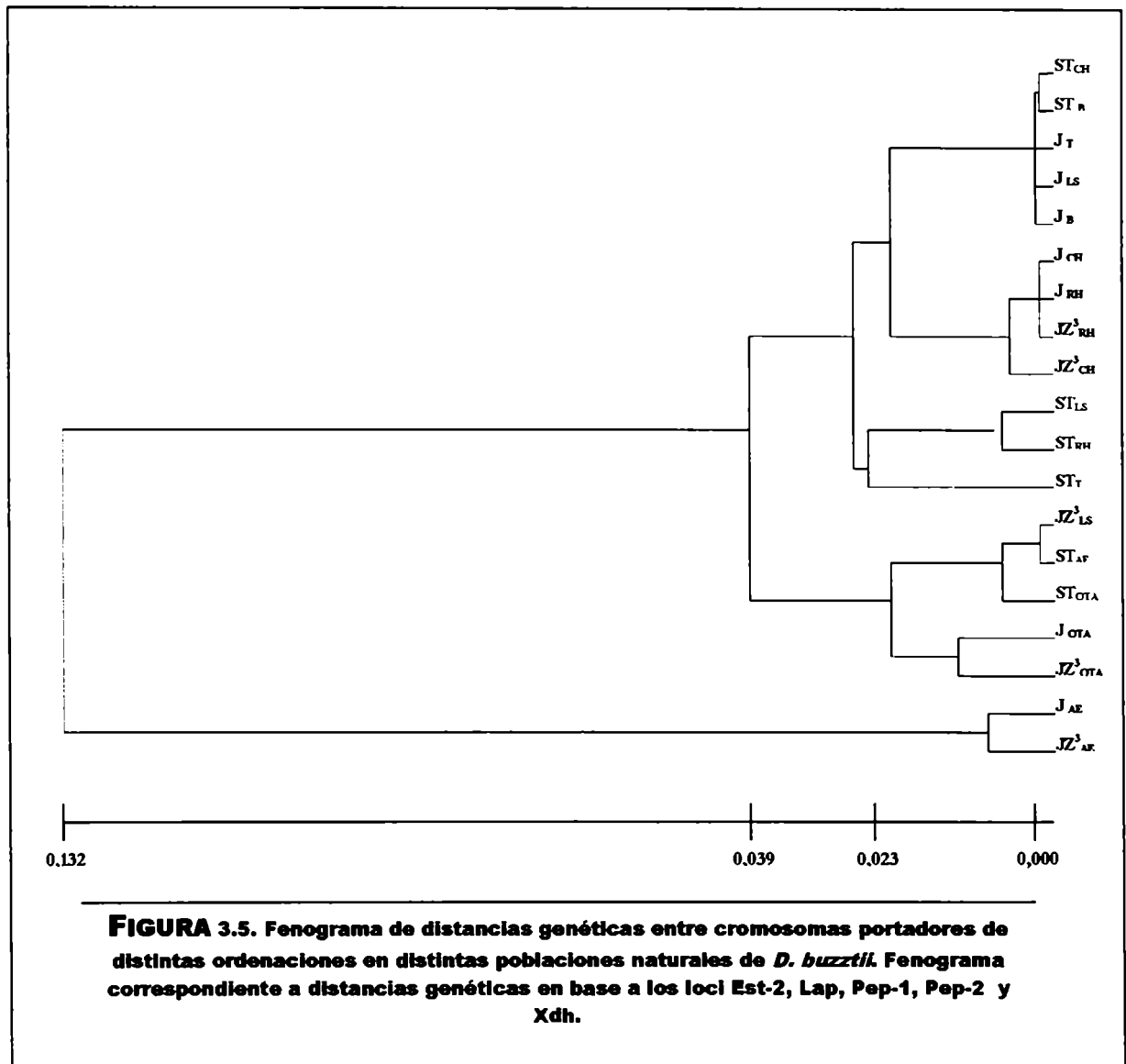
### 3.5. Discusión

Las poblaciones estudiadas son genéticamente heterogéneas, tanto en lo que respecta a las frecuencias de las ordenaciones como en cuanto a los loci enzimáticos (ver cap.4). Las ordenaciones muestran un alto grado de diferenciación regional (tabla 3.1), concordante con los resultados publicados por Hasson et. al (1995) en otro conjunto de poblaciones. Los loci enzimáticos, en cambio, no muestran el mismo patrón de estructuración poblacional, sino que más bien plantean diferentes situaciones (frecuencias poblacionales totales en Tablas 3.2 a 3.8).

No obstante, cuando se analizan las frecuencias condicionales en cada población prevalecen las mismas asociaciones entre alelos enzimáticos y ordenaciones en todas las poblaciones. Esto tiene como consecuencia un patrón de estructuración intrapoblacional en el cual la ordenación ancestral 2ST se diferencia de las derivadas 2J y 2JZ<sup>3</sup>. Esta constancia en las asociaciones de distintos alelos con las ordenaciones, se ve reflejada en la topología observada en los fenogramas.

Éstos ponen de manifiesto la mayor semejanza que en general existe en el contenido genético de los cromosomas portadores de una ordenación ancestral (o derivada), provenientes de distintas poblaciones, frente a cromosomas portadores de otras ordenaciones, aún cuando provengan de la misma población. Esta semejanza parece ser debida, principalmente, a las asociaciones entre las ordenaciones y los alelos de los loci Est-1 y Aldox, que están ubicados dentro de la región comprometida en las inversiones más frecuentes (2ST y 2JZ<sup>3</sup>). Asimismo, esto puede verse claramente si se compara el fenograma de la

Fig. 3.4B con el que se obtiene al considerar los otros cinco marcadores (Fig. 3.5). Al excluir los loci Est-1 y Aldox del análisis, se pierden los agrupamientos de cromosomas ST por un lado y portadores de ordenaciones derivadas por otro.



Estos resultados muestran que hay una clara diferenciación entre los cromosomas portadores de la ordenación ancestral 2ST y 2J / 2JZ<sup>3</sup>, pero son los marcadores que mapean en los segmentos involucrados en

los reordenamientos los que más claramente permiten diferenciar las ordenaciones.

---

MUY LINDO,  
PERO ... Y DE  
LAS CAUSAS  
QUÉ?

---

Estas diferencias entre la ordenación ancestral y las derivadas podrían interpretarse como evidencia de la poca oportunidad que la recombinación, ya sea por dobles entrecruzamientos o conversión génica, habría tenido para homogeneizar la variabilidad entre las ordenaciones desde su origen. Esto plantea dos explicaciones posibles:

- 1) El polimorfismo tiene un origen reciente y por lo tanto los desequilibrios observados son el resultado de las asociaciones generadas por los eventos de inversiones.
- 2) La selección natural tiende a preservar las asociaciones porque las ordenaciones constituyen complejos de genes coadaptados.

Ohta (1982) propone un análisis de componentes de la varianza del desequilibrio que permite discriminar si el desequilibrio gamético observado es debido a selección natural epistática o a diferenciación local. A partir de un modelo de alelos infinitos, y considerando una población o especie consistente de un número  $n$  de subpoblaciones o colonias, se puede deducir cómo varían los componentes de la varianza del desequilibrio, según que éste sea debido a selección epistática o a diferenciación aleatoria. Tomando dos loci con infinitos alelos y una tasa  $c$  de recombinación entre ellos, bajo el supuesto de neutralidad selectiva, los valores esperados de los coeficientes de desequilibrio entre alelos de estos loci en la población total, son todos ceros en el equilibrio, por lo que es preciso considerar la varianza de estos coeficientes. Por analogía con los estadísticos de Wright (1978), Ohta define  $D_{IS}^2$  como la varianza del desequilibrio gamético esperada dentro de una colonia,  $D_{ST}^2$  la varianza de la correlación de genes de dos loci de diferentes gametas en

una colonia respecto de la correlación en la población total,  $D'_{IS}{}^2$  la varianza de la correlación de dos alelos de diferentes loci de una gameta en una colonia respecto de la correlación en la población total,  $D'_{ST}{}^2$  la varianza de desequilibrio de la población total, y  $D_{IT}{}^2$  es la varianza total del desequilibrio, siendo  $D_{IT}{}^2 = D'_{IS}{}^2 + D'_{ST}{}^2$ .

A partir de este modelo, Ohta puede generar los componentes de la varianza del desequilibrio de ligamiento esperado a partir de un estado inicial, y analizar cómo afectan las condiciones del proceso a dichos componentes. Cuando se limita la migración, incrementa la diferenciación de tipos de gametas entre las colonias por deriva genética aleatoria, lo cual resulta en las relaciones  $D'_{IS}{}^2 > D'_{ST}{}^2$  y  $D_{ST}{}^2 > D_{IS}{}^2$ . En cambio, cuando la selección natural epistática es la responsable del desequilibrio gamético, las gametas con combinaciones favorables de alelos incrementarían su frecuencia en todas las colonias, la predicción en ese caso es que  $D_{ST}{}^2 < D_{IS}{}^2$  y  $D'_{IS}{}^2 < D'_{ST}{}^2$ .

En nuestro caso, el análisis de varianza del desequilibrio mostró que el componente  $D'_{IS}$  es más de diez veces mayor que  $D'_{ST}$  en todos los casos, y lo mismo ocurre con  $D_{IS}$  y  $D_{ST}$  (valores en el apéndice 3b). Esto indica que no habría un proceso selectivo epistático involucrado en el desequilibrio de los marcadores con las ordenaciones. Es decir que las asociaciones detectadas entre los loci isoenzimáticos y las inversiones pueden ser explicadas simplemente por un origen relativamente reciente del polimorfismo, o por un cuello de botella reciente que haya afectado a toda la especie previa a su expansión a otros continentes.

---

**Y QUÉ PASA  
CON ARROYO  
ESCOBAR?**

---

Los fenogramas (Fig. 3.4 A; Fig. 3.4 B y Fig. 3.5) muestran otro dato llamativo, que también puede verse cuando se observa detenidamente la matriz de distancias entre cromosomas (Tabla 3.11). La población de Arroyo Escobar es la que más se diferencia tanto cuando se consideran todos los loci enzimáticos (Fig. 3.4 A), como al excluir Est-1 y Aldox (Fig. 3.5). Además, los OTUs más diferenciados siguen siendo 2J y 2JZ<sup>3</sup> de la población mencionada. Por otra parte, aún cuando se consideran únicamente Est-1 y Aldox (Fig. 3.4 B), dentro de cada agrupamiento principal, son los cromosomas provenientes de esta población los que primero se separan del resto. Parece difícil aventurar una explicación, ya que los datos presentados en este trabajo no aportan mayor información al respecto, y sin duda será preciso realizar otros estudios para dilucidar este punto. Sin embargo, a partir de nuestra observación directa de las poblaciones naturales, pudimos notar que Arroyo Escobar se diferencia de las demás por su cercanía con poblaciones humanas, y por estar más expuesta a perturbaciones provocadas por la actividad humana, tales como quemas y desmontes. Esta mayor exposición a perturbaciones ambientales podría estar relacionada con su diferenciación del resto. Asimismo, parece plausible considerar a Arroyo Escobar como una población con características marginales, expuesta a un ambiente impredecible, donde perturbaciones relativamente frecuentes podrían causar variaciones aleatorias en las frecuencias alélicas, o cuellos de botella que habrían acelerado su diferenciación genética respecto del resto de las poblaciones. Cabe destacar que Fanara et al. (1996), a partir de la comparación de los componentes de selección en Arroyo Escobar y Río Hondo, plantearon que Arroyo Escobar podría ser una población que habría sufrido perturbaciones que la habrían apartado del equilibrio.



No obstante, más allá de estas consideraciones, los desequilibrios gaméticos entre los loci enzimáticos y las inversiones muestran la misma tendencia en todas las poblaciones, incluyendo Arroyo Escobar, tal como se infiere a partir de las frecuencias condicionales, y como se observa en los coeficientes de desequilibrio globales (Tabla 3.10), que en general no muestran diferencias significativas cuando se excluye a esta población. De hecho, la única diferencia significativa consiste en que el desequilibrio gamético entre el alelo Est-2<sup>d</sup> y 2JZ<sup>3</sup> no fue significativo, pero los valores detectados fueron consistentes en signo ( $D = 0,01$ ;  $D' = 0,11$ ;  $P = 0,08$ ) y esta diferencia puede explicarse por el efecto que la exclusión de Arroyo Escobar tiene sobre los tamaños de las muestras, y particularmente sobre el tamaño muestral de esta ordenación.

---

DIME QUE  
ORDENACIÓN  
ERES Y TE  
DIRÉ QUE  
ALELO  
TIENES...

---

Los alelos Est-1<sup>a</sup>, Est-2<sup>a</sup>, Aldox<sup>b</sup>, y Xdh<sup>c</sup>/Xdh<sup>d</sup> aparecen preferentemente en 2ST, mientras que los alelos Est-1<sup>b</sup>, Est-2<sup>c</sup>, Aldox<sup>a</sup>, y Xdh<sup>b</sup> están asociados a 2J y 2JZ<sup>3</sup>. Esto sugiere que la inversión 2J se habría originado en un cromosoma con esta composición, y la inversión 2JZ<sup>3</sup> sobre este cromosoma 2J.

Asimismo, algunas de las asociaciones observadas parecen ser útiles en cuanto a la posibilidad de localizar algunos loci cuya posición en el mapa del cromosoma 2 de *D. buzzatii* se desconoce. Así el desequilibrio observado entre 2JZ<sup>3</sup> y Pep-1<sup>c</sup> parece indicar por un lado que esta inversión se habría originado sobre un cromosoma 2J con este alelo, por otra parte la ausencia de desequilibrio entre este locus y 2J, hace que parezca razonable interpretar estas observaciones como un indicio de que el locus Pep-1 podría estar localizado en el segmento involucrado en esta inversión que no coincide con 2J. Sin embargo las asociaciones detectadas con otros marcadores no aportan evidencias que apoyen esta

interpretación, ya que si bien Pep-1 presenta asociación significativa con Est-2 (localizado en el segmento de 2JZ<sup>3</sup> no coincidente con 2J), también muestra asociaciones con Lap, Pep-2 y Xdh.

---

TRATANDO DE  
MIRAR TODA  
LA  
INVERSIÓN...

---

Los desequilibrios detectados entre alozimas e inversiones pueden resumirse del siguiente modo:

2ST: Est-1<sup>a</sup> - Est-2<sup>a</sup> - Aldox<sup>b</sup> - Xdh<sup>c/d</sup>

2J: Est-1<sup>b</sup> - Est-2<sup>c</sup> - Aldox<sup>a</sup> - Xdh<sup>b</sup>

2JZ<sup>3</sup>: Est-1<sup>b</sup> - Est-2<sup>c/d</sup> - Aldox<sup>a</sup> - Xdh<sup>b</sup> - Pep-1<sup>c</sup>

Esto plantea la posibilidad de que estos haplotipos estén en frecuencias superiores a las esperadas por segregación independiente de cada marcador. Este exceso podría causar que los loci enzimáticos involucrados presentaran desequilibrio gamético entre ellos, en el sentido de mostrar asociaciones de los alelos que están en desequilibrio con la misma ordenación. Más aún, si dichas asociaciones no fueran detectadas en la población, deberían manifestarse claramente al considerar los desequilibrios gaméticos entre loci enzimáticos dentro de cada ordenación.

Sin embargo, como puede notarse en las Tablas 3.16 a 3.21, no es esto lo que se observa. Los alelos *a* y *b* de Est-1 no muestran desequilibrio gamético con otros alelos enzimáticos (el alelo Est-1<sup>c</sup>, involucrado en los desequilibrios con otros alelos enzimáticos no mostró desequilibrio con las inversiones) (Tabla 3.16). Las asociaciones Est-2<sup>a</sup> - Xdh<sup>b</sup> y Est-2<sup>b</sup> - Xdh<sup>a</sup> resultan significativas en el global, pero no dentro de las ordenaciones 2ST<sup>1</sup> y 2J respectivamente (Tabla 3.17), y Aldox con Xdh presenta las asociaciones esperadas pero en las ordenaciones contrarias: Aldox<sup>b</sup> - Xdh<sup>c</sup> en 2J y Aldox<sup>a</sup> - Xdh<sup>b</sup> en 2ST<sup>1</sup> (Tabla 3.18). Por último, Pep-1<sup>c</sup> en 2JZ<sup>3</sup> se asocia preferentemente con Xdh<sup>a</sup>. Estos

resultados indicarían que no hay un efecto de arrastre que pueda explicar las asociaciones entre los loci enzimáticos que se detectan en estas poblaciones.

Consistente con estas observaciones, el análisis de componentes de las asociaciones entre los loci enzimáticos (Tablas 3.25 y 3.26), muestran que dos alelos de diferentes loci que aparecen significativamente asociados a una inversión, en general no presentan asociación significativa entre sí dentro de dicha ordenación. Esto nuevamente indica que el desequilibrio entre estos marcadores no es explicable por arrastre de las inversiones.

Por otra parte, las asociaciones de cada par de loci con los distintos cromosomas (coeficientes de desequilibrio triples en las mismas tablas), contradice las composiciones haplotípicas hipotéticas planteadas más arriba. Para comprender estos resultados es preciso recordar que el desequilibrio de ligamiento entre cada marcador y una ordenación, nunca fue absoluto, vale decir que dentro de cada ordenación existen variantes alélicas para los diferentes loci, y por lo tanto cada alelo cromosómico es en realidad una familia de supergenes que incluye diferentes combinaciones alélicas. La recombinación entre estos supergenes no está restringida en el homocariotipo, por lo que la recombinación total entre marcadores localizados en la inversión es proporcional a la frecuencia de la ordenación. De tal modo, a medida que aumenta la frecuencia de una inversión, aumenta la recombinación entre los marcadores localizados dentro de ella, y disminuye el desequilibrio de ligamiento entre ellos.

Los desequilibrios entre cada locus y las inversiones, en cambio, provienen del evento mutacional que dio origen a la nueva ordenación, y

para que disminuya por recombinación, es preciso que haya intercambio genético entre cromosomas con distintas ordenaciones, es decir que deben ocurrir dobles entrecruzamientos dentro del segmento invertido en el heterocariotipo. Estos eventos son muy poco frecuentes aún cuando los heterocariotipos resulten frecuentes en la población (en la inversión In (3L)<sup>1</sup> de *D. melanogaster*, Payne (1924) estimó la frecuencia de dobles entrecruzamientos entre los sitios de rotura y un marcador localizado en el medio del segmento invertido en  $10^{-4}$ )

De lo anterior, puede concluirse que en estas poblaciones los desequilibrios de los marcadores con las ordenaciones no causan un efecto de arrastre que pueda explicar las asociaciones entre los marcadores enzimáticos.

---

ENTONCES,  
¿POR QUÉ  
XDH ESTÁ  
LIGADA A LAS  
INVERSIONES  
?

---

Las asociaciones detectadas entre alelos de marcadores enzimáticos tampoco explican el desequilibrio de Xdh con las ordenaciones, a pesar de las correlaciones consistentes entre este locus y Aldox. Sin embargo, es importante señalar que O'Brien y MacIntyre, (1978) encontraron que distintos mutantes que afectan a Xdh muestran efectos pleiotrópicos sobre Aldox, lo que sugiere la existencia de interacciones genéticas entre estos marcadores. Tanto Aldox, como Pyridoxal oxidasa (PO) son enzimas cuya expresión genética está de algún modo relacionada con la de Xdh, y si bien la localización de PO no está confirmada, podría tratarse de un marcador ubicado cerca de Aldox en el cromosoma 3R de *D. melanogaster* (O'Brien y MacIntyre, 1978, pag.490-504).

El desequilibrio gamético entre Xdh y las ordenaciones podría estar relacionado con estas interacciones genéticas, entre Xdh y Aldox, sumadas al ligamiento físico de Aldox con las inversiones. Sin embargo, existe una explicación alternativa, que consiste en que Xdh pueda estar

en desequilibrio con algún otro locus localizado dentro de las inversiones.

---

¿ Y EL  
DESEQUILI-  
BRIO ENTRE  
LOS ALELOS  
DE LOCI  
ENZIMÁTICOS  
?

---

Cabe preguntarse acerca de la causa de las asociaciones entre marcadores enzimáticos. También en este caso realizamos el análisis de componentes de varianza del desequilibrio y los estadísticos propuesto por Ohta (1982), nuevamente resultaron  $D'_{ST} < D'_{IS}$ . Vale decir que la varianza de desequilibrio de la población total es menor que la varianza de desequilibrio relativa que se espera en cada población, de lo que puede concluirse que nuevamente, no hay evidencias de selección epistática. El desequilibrio observado puede ser explicado estocásticamente, por deriva genética de gametas en cada población, resultado que es coincidente con lo observado para los loci Aldox, Est-2 y Pep-2 en la población española de Carboneras (Quesada-Díaz, 1993).

Por lo tanto, de este trabajo puede concluirse que existe diferenciación entre las ordenaciones respecto de los marcadores localizados dentro del segmento involucrado en las inversiones y que ésta diferenciación estaría reflejando un origen reciente de las inversiones, pero en los desequilibrios entre los marcadores no habría efectos de arrastre, sino más bien procesos de deriva genética dentro de las poblaciones.

---

ALLENDE LOS  
MARES...

---

Por último, cabe destacar que las asociaciones de Est-1<sup>a</sup>, Est-2<sup>a</sup> y Aldox<sup>b</sup> con 2ST, así como la asociación de Est-1<sup>b</sup> con 2J fueron detectadas por Betrán et al. (1994) en poblaciones colonizadas de España (Est-2<sup>a</sup> – ST y Aldox<sup>b</sup> – ST) y por Knibb et al. (1987) en Australia (Est-1<sup>a</sup> – ST y Est-1<sup>b</sup> – J). En estos trabajos, se discute la posibilidad de que estos desequilibrios de ligamiento se hayan producido como consecuencia del evento fundador durante la colonización. Si las

poblaciones originales fueran polimórficas para inversiones cromosómicas pero no presentaran desequilibrio de ligamiento con los loci enzimáticos localizados en ellas, podría plantearse que el evento fundador de la nueva región habría tenido lugar a partir de un conjunto reducido de individuos, de modo que sólo llegaron inversiones portando ciertos alelos. Si este fuera el caso, en las nuevas poblaciones se establecería un desequilibrio gamético entre las inversiones y los loci enzimáticos, que sólo disminuirá por dobles entrecruzamientos en los heterocariotipos. Como los propios autores destacan en sus trabajos, esta hipótesis no podía ser evaluada sin contar con datos de desequilibrio de ligamiento en las poblaciones de la región original. Nuestros resultados indican que estas asociaciones están presentes también en estas poblaciones, por lo tanto no se deberían a un efecto fundador durante la colonización. Las poblaciones de origen ya habrían estado en desequilibrio gamético, y los componentes de varianza del desequilibrio sugieren que las inversiones tendrían un origen relativamente reciente, o bien la especie habría sufrido un cuello de botella previo a la colonización de otros continentes.



## Variación geográfica de los polimorfismos de *D. buzzatii*

*Un origen común; luego la distancia, historias diferentes, ambientes diferentes... y las frecuencias alélicas protagonistas...*

**E**n este capítulo analizamos la estructura poblacional en una amplia zona de distribución de la especie. Realizamos el mismo análisis con diferentes marcadores enzimáticos e inversiones, a fin de poder realizar un estudio comparativo con los diferentes marcadores genéticos.

### 4.1. Resumen

---

EN POCAS  
PALABRAS...

---

La diferenciación de las poblaciones puede ser producto tanto de procesos adaptativos como no adaptativos (deriva genética). Sin embargo, la diferenciación que provoca un proceso de deriva depende del tiempo y de los tamaños de las poblaciones, que son los mismos para todos los loci y para todos los alelos, y por lo tanto, el grado de diferenciación será el mismo. En este capítulo se presenta un análisis de la variación geográfica de las frecuencias alélicas para diferentes sistemas genéticos: el polimorfismo de las inversiones del cromosoma 2 y siete loci isoenzimáticos localizados en el mismo grupo de ligamiento.

---



La comparación de los patrones de variación entre los distintos loci enzimáticos y entre éstos y las inversiones sugieren que la estructuración poblacional observada para éstas es adaptativa. Entre los loci enzimáticos se detectan diferentes patrones de variación que sugieren regímenes selectivos de distinta intensidad en algunos casos, y/o deriva en otros. Se analiza también la relación de estos patrones con variables geográficas y climáticas mediante análisis de regresión múltiple, y se discuten posibles factores causales responsables de los patrones observados.

## 4.2. Introducción

El proceso de diferenciación de las poblaciones es un tópico relevante en la historia evolutiva de las especies, tanto por sus consecuencias como por los mecanismos involucrados en su origen (selección natural, deriva genética, flujo génico). En tal sentido, si bien no es difícil determinar la existencia de diferencias genéticas entre poblaciones, muchas veces al preguntarnos cómo se originaron estas diferencias, por qué se conservan, y qué consecuencias pueden tener, sólo podemos plantear hipótesis, que hasta no ser puestas a prueba no dejan de ser especulativas.

La especie *D. buzzatii*, también nos ofrece la oportunidad de abordar esta problemática: es una especie originaria de Sudamérica y ha alcanzado una distribución subcosmopolita siguiendo a su sustrato natural. Esta expansión estuvo acompañada de cambios en las frecuencias de su polimorfismo de inversiones (Fontdevila, 1989). Hasson et al. (1995) ya han planteado que la diferenciación en las frecuencias de inversión entre poblaciones de su área original, sería el resultado de la adaptación a diferentes condiciones ecológicas. En aquella oportunidad el análisis de 26 poblaciones sudamericanas, mostró que el polimorfismo de inversiones del cromosoma 2 presenta un patrón macrogeográfico de variación que es coincidente con las regiones fitogeográficas, lo cual sugiere que la selección natural estaría contribuyendo a la diferenciación cromosómica interpoblacional (Hasson et al., 1995).

Distintos estudios realizados, tanto en poblaciones originales como colonizadas, han dado sustento al papel adaptativo del polimorfismo de inversión, al mostrar que las frecuencias de inversión presentan variación clinal altitudinal y latitudinal (Knibb et al., 1987; Ruiz, 1992; Hasson et al., 1995). También fue demostrada la existencia de correlaciones consistentes entre los cariotipos del cromosoma 2 con distintos componentes del valor adaptativo a lo largo del ciclo de vida: viabilidad (Ruiz et al., 1986; Santos et al., 1989; Hasson et al., 1991); fecundidad (Ruiz et al., 1986; Hasson et al., 1991); y caracteres morfométricos relacionados al tamaño corporal (Ruiz et al., 1991; Hasson et al., 1992; Norry et al., 1995b; capítulo 2 de esta tesis).

Asimismo, los estudios que han abordado la variación enzimática en poblaciones de las áreas de reciente colonización, Australia y España, han sugerido que la selección natural podría afectar las frecuencias alélicas de los loci Est-1, Est-2, y Aldox (Barker & East, 1980; Barker et al., 1986; Quesada-Díaz, 1993). Estos loci muestran diferentes grados de asociación física con las ordenaciones del cromosoma 2 que segregan en las poblaciones naturales (Schaffer et al., 1993; Betrán y col, 1994; Quesada-Díaz, 1993).

La presencia de una variante favorecida selectivamente puede afectar la variabilidad en regiones cercanas (hitchhiking) y la magnitud de este efecto será consecuencia de la baja tasa de recombinación entre el blanco de la selección y el locus en cuestión (Kojima y Schaffer, 1967). Por lo tanto, cuando se trata de loci ligados a inversiones cromosómicas, que restringen la recombinación, es plausible que se muestren afectados por la selección natural sólo por estar asociados a regiones dentro de la

inversión que están siendo seleccionadas, y que son las que confieren su valor adaptativo a las inversiones. Si este fuera el caso, sería de esperar que los loci enzimáticos, por estar siendo 'arrastrados' por las inversiones, presenten el mismo patrón de diferenciación que éstas.

Que las variaciones geográficas en las frecuencias de un polimorfismo sigan ciertos patrones no prueba que se hayan originado por un proceso selectivo. Si bien los procesos aleatorios no responden a patrones, muchas veces la historia de las poblaciones está asociada a eventos de colonización y expansión del área de distribución de una especie, y ciertos patrones pueden responder a razones históricas. Sin embargo, la observación de patrones correlacionados con variaciones ambientales, se puede tomar como una fuerte sugerencia que la diferenciación, surge como respuesta al ambiente. En este sentido, si bien una fuerte diferenciación, no implica necesariamente una clina (Endler, 1977), el estudio de las correlaciones entre las frecuencias alélicas y las variables ambientales podría permitir determinar si la variación es clinal, y comparar las clinas detectadas con las reportadas para esta misma especie en otros continentes por otros autores (Knibb et al., 1987 en Australia; y Betrán et al., 1994; en España)

En este capítulo presentamos un análisis comparativo de la estructura de las poblaciones de *D. buzzatii* utilizando simultáneamente el polimorfismo de inversión y siete loci enzimáticos localizados en el cromosoma 2. Las poblaciones que se incluyen en este análisis están localizadas en diferentes regiones fitogeográficas, lo cual nos permite, además, realizar un análisis jerárquico de estructura poblacional y comparar los patrones de estructuración observados con cada uno de los

diferentes marcadores genéticos estudiados. También se analiza y se discute la posible relación de estos patrones con variables ambientales, tanto geográficas como climáticas. Dado que los loci enzimáticos incluidos en el estudio muestran diferentes grados de asociación con el sistema de inversiones, es posible realizar un análisis comparativo entre los patrones de variación detectados para cada uno de ellos.

### 4.3. Metodología

Para este estudio contamos con muestras de adultos de siete poblaciones ubicadas en tres regiones fitogeográficas diferentes: 1) Las poblaciones de Chumbicha, La Sebila y Río Hondo en la región de Chaco Occidental; 2) Berna y Tirol en la región de Chaco Oriental y 3) Otamendi y Arroyo Escobar en La Pampa (Fig. 3.1), todas dentro del dominio Chaqueño (Cabrera, 1976).

La región del Chaco Occidental comprende zonas de sierras, en las cuales las diferencias de altitud tienen como consecuencia variaciones locales muy marcadas. En esta región, por tratarse de un área de mayor complejidad fitogeográfica, a diferencia de las otras regiones, se muestrearon tres localidades. Chumbicha (Fig. 4.1.a), se encuentra al pie de las laderas orientales de las Sierras de Ambato, las cuales pueden atravesarse transitando por la Quebrada de La Sebila. El inicio de la quebrada, en Chumbicha, se encuentra a 421 m sobre el nivel del mar y finaliza a una altitud de 1300 m. El sitio de muestreo que denominamos La Sebila (Fig. 4.1.a) se encuentra en el medio de la quebrada, a 31 Km. de Chumbicha y una altitud aproximada de 850 m. Río Hondo (Fig.

---

EL PAÍS QUE  
MIRAMOS ...  
( CUANDO  
MIRAMOS )

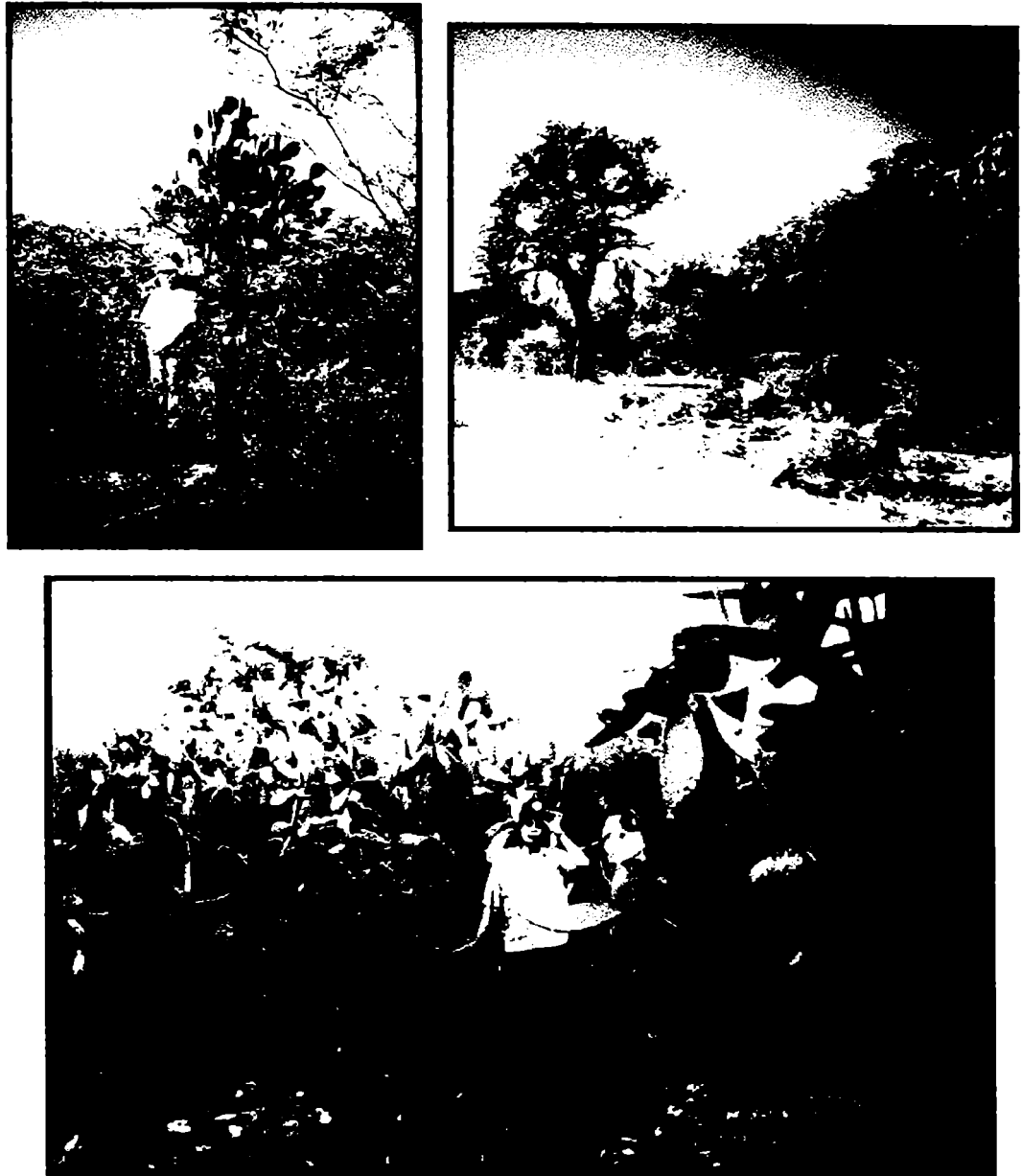
---

4.1a), está ubicada en una zona de llanura a 290 m de altitud. Estas tres poblaciones se encuentran en zonas donde la composición, abundancia y diversidad de cactáceas varía significativamente (Tabla 4.1).

Localidad	Provincia	Región	Latitud	Longitud	Altitud	Cactus
<b>Chumbicha</b>	Catamarca	Chaco central	28.8	66.3	421	T.t, S.c, C.v, O.q, O.s
<b>La Sebila</b>	Catamarca	Chaco-Monte	28.8	66,3	850	T.t, O.s, O.q
<b>Termas</b>	Sgo Estero	Chaco central	27.5	65.9	290	S.c, C.v, O.q, O.f-i, O.p
<b>Berna</b>	Santa Fe	Chaco oriental	29.3	59.9	48	S.c, O.q, T.t
<b>Pto Tirol</b>	Chaco	Chaco oriental	27.4	59.1	53	O.f, S.c
<b>A. Escobar</b>	Bs. As.	Pampa	34.4	58.7	5	O.v
<b>Otamendi</b>	Bs. As.	Pampa	34.3	58.8	10	O.v

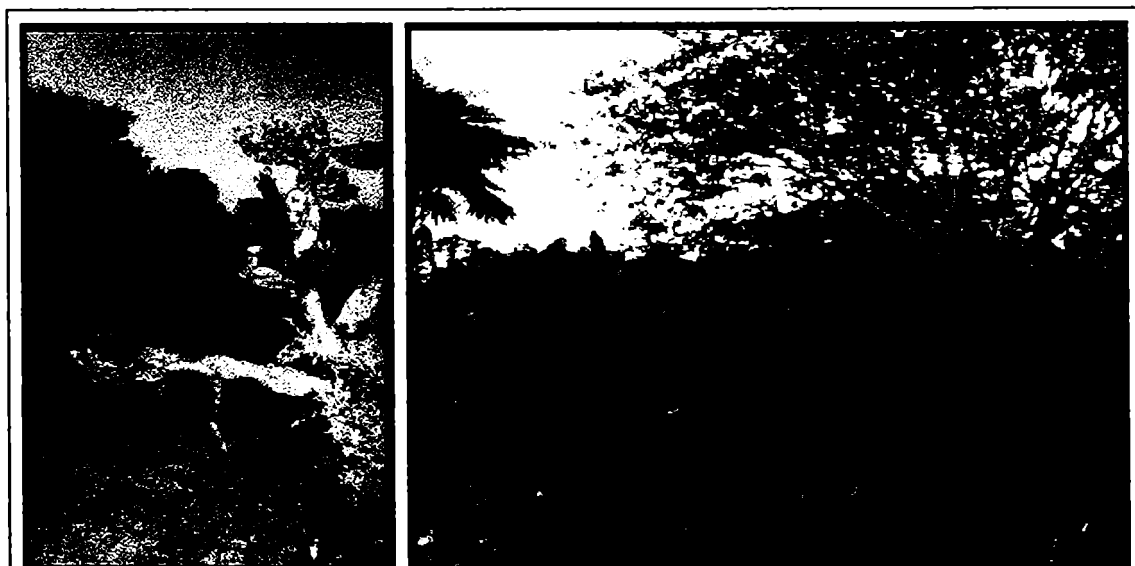
T.t: *Trichocereus terchekii*, S.c: *Stetsonia corymbosa*, C.v: *Cereus validus*, O.q: *Opuntia quimilo*, O.s: *Opuntia sulfurea*, O.f-i: *Opuntia ficus indica*, O.v: *Opuntia vulgaris* O.p: *Opuntia pampeana*,

**TABLA 4.1. Características de las poblaciones naturales de *D. buzzatii* analizadas. Latitud y longitud expresadas en grados, altitud expresada en metros.**



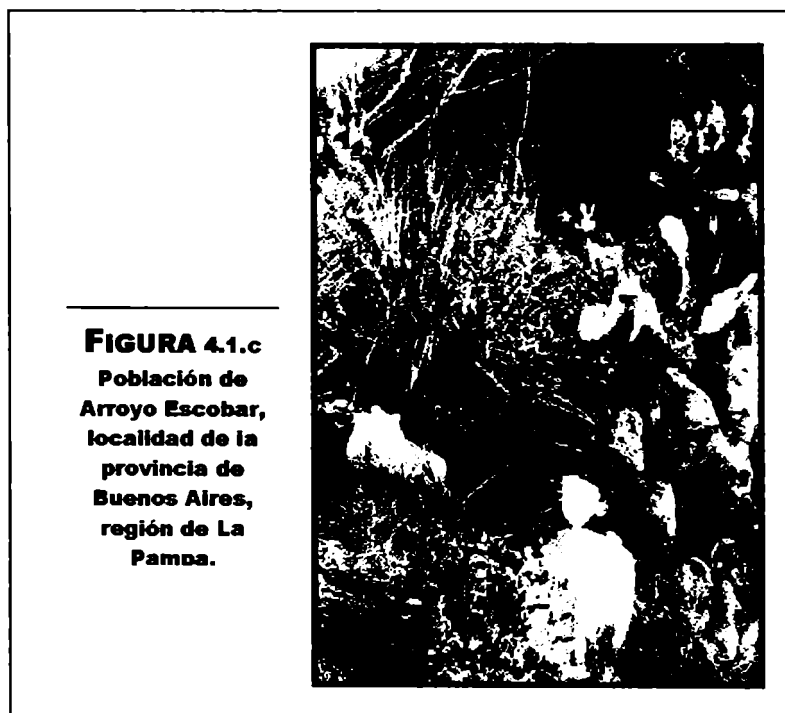
**FIGURA 4.1.a** Poblaciones de la región del Chaco Occidental. Arriba: a la izquierda la población de Chumbicha, a la derecha La Sébila, localidades de la provincia de Catamarca; Abajo: la población de Río Hondo, localidad de la provincia de Santiago del Estero.

Las poblaciones de la región del Chaco Oriental (Fig. 4.1.b), son poblaciones de llanura (50 m de altitud), en ambientes típicamente chaqueños (Tabla 4.1).



**FIGURA 4.1.b** Poblaciones de la región del Chaco Oriental. A la izquierda, la población de Berna, localidad de la provincia de Santa Fe; a la derecha la población de Puerto Tirol, localidad de la provincia de Chaco.

Mientras que en las dos poblaciones muestreadas pertenecientes a la región de La Pampa la vegetación es menos xerófila (Fig. 4.1 c), y la disponibilidad de recursos para *D. buzzatii* se reduce a una única especie (Tabla 4.1).





### **Diseño experimental**

Nos interesa contar con información de los marcadores genéticos elegidos en las distintas poblaciones. Para analizar los polimorfismos enzimáticos, basta con tomar muestras de adultos de la población y procesarlos por la técnica de electroforesis, de modo de poder revelar todos las enzimas que nos interesan. Este procedimiento nos permite, además, determinar el genotipo de cada individuo para todos los loci, de modo que pueden estimarse tanto las frecuencias genotípicas como alélicas en cada población.

En cambio, el análisis de las frecuencias cromosómicas se basa en la disección de las glándulas salivales de larvas de tercer estadio, en las cuales se observan los cromosomas politénicos. Por lo tanto, las frecuencias cromosómicas se pueden estimar a partir del análisis de la descendencia de los individuos provenientes de la población obtenida en laboratorio.

### **Muestras**

En el capítulo 3, a partir de una muestra de machos capturados en cada población, se pudo determinar el genotipo y un cromosoma de cada individuo analizado. Por lo tanto es posible estimar las frecuencias genotípicas de los loci enzimáticos analizados y las frecuencias cromosómicas de cada población analizada.

### **Los sistemas genéticos analizados**

El análisis electroforético de los machos capturados permitió estimar las frecuencias genotípicas en las poblaciones analizadas, y el análisis

simultáneo de su descendencia  $F_1$  permitió detectar la posible presencia de alelos nulos.

### **Análisis estadístico**

---

CON LO QUE  
NOS GUSTA  
HACER  
CUENTITAS ...

---

Se realizó un análisis jerárquico de la estructura poblacional, en el que consideramos a las poblaciones dentro de las regiones como el nivel basal y las regiones dentro del total como nivel de agrupamiento superior.

Sin embargo, dadas las propiedades de las inversiones, que pueden restringir la recombinación efectiva en individuos heterocigotas para distintas ordenaciones, es posible considerar a las diferentes ordenaciones dentro de cada población como subpoblaciones semiaisladas. En esta analogía con una estructura poblacional wrightiana la limitada recombinación en los heterocariotipos hace las veces de flujo génico limitado bajo esta estructura de demos semiaislados. Es así que el grado de diferenciación genética actual entre ordenaciones sería, bajo un modelo neutro el resultado del grado de restricción de la recombinación y del tiempo transcurrido desde el origen de la inversión.

La forma en que fueron procesados los individuos, nos permite conocer los genotipos enzimáticos, pero sólo uno de los cromosomas 2 de cada macho salvaje capturado en la población. Por lo tanto, es posible considerar a cada una de las ordenaciones que están segregando en frecuencias significativas en cada una de las poblaciones como un nivel sub-poblacional. Es así que los estadísticos  $F$  para esta clase de individuos portadores de una determinada ordenación dentro de la población (o demo) se definen como  $F_{CD}$ , y permiten estimar el grado de diferenciación entre ordenaciones dentro de cada población.

La diferenciación genética entre poblaciones sin considerar otro nivel jerárquico se estima mediante el coeficiente  $F_{DT}$ . A su vez, la diferenciación total puede descomponerse de la siguiente manera: entre poblaciones dentro de regiones ( $F_{DR}$ ), y entre regiones dentro del total ( $F_{RT}$ ), de modo que según Wright (1978)

$$(1 - F_{DT}) = (1 - F_{DR}) (1 - F_{RT})$$

El análisis de las frecuencias alélicas y la estimación de los estadísticos  $F$  se realizó utilizando los métodos de Weir y Cockerham (1984), los cuales fueron calculados mediante el programa estadístico GDA (Lewis y Zaykin, 1997).

---

**BOOSTRAPEAN  
DO ...  
(SHHHHI, QUE  
NO SE  
ENTEREN ...)**

---

Un inconveniente importante es que no se conoce con certeza la distribución estadística de los coeficientes  $F$ , de modo que una de las dificultades es cómo determinar si un dado valor es significativamente diferente de cero. Además, dados los objetivos reseñados anteriormente, nos interesa comparar los valores de los estadísticos  $F$  obtenidos para distintos loci enzimáticos. Para esto es preciso estimar la distribución de los estadísticos y generar intervalos de confianza mediante métodos que no asuman “a priori” ningún tipo de distribución.

Los métodos de remuestreo han revolucionado en los últimos tiempos la estadística y su uso ha ido creciendo en forma desmesurada a pesar de sus manifiestas limitaciones (Raymond y Rousset, 1995). En nuestro caso, dado que nuestras unidades de observación son los genotipos individuales, es posible generar distribuciones de determinados estadísticos a partir del remuestreo de los genotipos de nuestras muestras originales, mediante métodos de simulación. Esto permite generar un intervalo de confianza y así estimar la distribución

del índice de fijación para los diferentes loci. Los intervalos de confianza y la significación de los estadísticos F fueron estimados mediante el método “bootstrap”, que es un método de simulación que efectúa reemplazos en la muestra de genotipos, de modo que obtiene una nueva muestra consistente en un conjunto de genotipos con algunos de ellos duplicados o triplicados y otros ausentes (Van Dongen, 1995). Este método permite determinar la significación de los coeficientes, y tomando pares de coeficientes es posible determinar la significación estadística de la diferencia entre ellos. La simulación se realizó utilizando el programa Fstboot, cedido gentilmente por el Dr. Mauro Santos de la Universidad Autónoma de Barcelona, para lo cual fue preciso ajustar los tamaños de las muestras a un máximo de 100 individuos, dadas las limitaciones del programa.

---

REGRESIONES  
MÚLTIPLES,  
BUSCANDO  
CLINAS

---

No obstante, los estadísticos F sólo cuantifican el grado de diferenciación entre regiones, poblaciones o subpoblaciones, y la comparación de los coeficientes, si bien puede resultar sugerente, no es suficiente para discernir las causas de la diferenciación, es decir si es selectiva o es sólo producto del aislamiento y la deriva génica. En este sentido, la existencia de clinas respecto de variables ambientales podría aportar indicios para la búsqueda de los factores que operan sobre los distintos polimorfismos.

Cada población fue caracterizada sobre la base de las variables latitud, longitud, altitud y número de especies de cactus presentes (potenciales recursos de *D. buzzatii*) (Tabla 4.1). Además se consideraron los promedios anuales de variables climáticas registradas en las estaciones climatológicas más cercanas a las localidades de muestreo. Las variables climatológicas consideradas fueron las medias anuales de presión,

temperatura, humedad y precipitaciones, de la última década. Estos datos fueron obtenidos de los registros del Servicio Meteorológico Argentino. Es así que las distancias entre las localidades de muestreo y las correspondientes estaciones meteorológicas fueron: 60 Km. entre la estación Catamarca y Chumbicha; 75 Km. entre esta estación y La Sebila; 50 Km. entre Santiago del Estero y Río Hondo, 20 Km. entre Reconquista y Berna; 15 Km. entre Resistencia y Puerto Tirol; 10 Km. entre Don Torcuato y Arroyo Escobar; y 35 Km. entre esta estación y Otamendi.

La búsqueda de patrones clinales de variación se realizó mediante análisis de regresión múltiple de las frecuencias alélicas de cada sistema genético sobre las variables geográficas o las climáticas. Previamente a los análisis estadísticos se transformaron las frecuencias alélicas mediante la función  $\text{arc. sen } (p^{1/2})$ . Estos análisis se realizaron con el programa Statistica.

## **4.4. Resultados**

### **Análisis de la diferenciación interpoblacional**

Todos los loci analizados son polimórficos para 2, 3 o 4 alelos, si bien en todos los casos hay alelos raros presentes en muy baja frecuencia en las poblaciones (menor al 5 %). Los alelos nulos detectados en ningún caso representan más del 3 %. Esta información se resume en las tablas 4.2.a y 4.2.b, en las cuales se muestran las frecuencias alélicas de cada locus en cada población.

VARIACIÓN GEOGRÁFICA EN LOS POLIMORFISMOS

	CAJALMÉR	LA SIERRA	RIOJONDO	BIERNA	TIROL	LAGOBUER	QUILMÁN	TOT.
<b>CROM</b>	N	86	35	79	96	49	79	171
	ST	0.337	0.514	0.418	0.729	0.939	0.114	0.170
	J	0.500	0.429	0.544	0.260	0.061	0.709	0.626
	JZ <sup>3</sup>	0.163	0.057	0.038	0.010	---	0.171	0.199
JQ <sup>7</sup>	---	---	---	---	---	0.006	0.006	
<b>EST-1</b>	N	86	39	99	111	28	84	178
	a <sup>2*</sup>	---	---	0.005	---	0.036	---	0.002
	a	0.157	0.128	0.172	0.216	0.179	0.089	0.098
	b	0.715	0.641	0.596	0.604	0.589	0.661	0.829
	c	0.128	0.218	0.222	0.176	0.196	0.244	0.070
<b>EST-2</b>	d	---	0.013	0.005	0.005	---	---	0.03
	nulo	---	---	---	---	---	0.006	---
	N	84	37	97	101	29	80	176
	a	0.399	0.405	0.490	0.322	0.328	0.100	0.168
	b	0.500	0.419	0.366	0.550	0.483	0.388	0.412
<b>LAP</b>	c	0.071	0.095	0.108	0.099	0.172	0.394	0.278
	d	0.018	0.054	0.031	0.030	0.017	0.119	0.142
	c <sup>2*</sup>	0.012	0.014	---	---	---	---	---
	nulo	---	0.014	0.005	---	---	---	---
	N	108	42	106	120	33	79	166
<b>LAP</b>	a	0.028	0.060	0.047	0.054	0.015	---	0.063
	b	0.870	0.881	0.868	0.875	0.848	0.956	0.892
	c	0.097	0.060	0.085	0.071	0.136	0.044	0.045
nulo	0.005	---	---	---	---	---	---	

**TABLA 4.2.a** Frecuencias de Inversiones y alélicas de los loci Est-1, Est-2 y Lap en poblaciones naturales de *D. buzzatii*

VARIACIÓN GEOGRÁFICA EN LOS POLIMORFISMOS

	CHUMB	J. V. S. B. L. V.	R. HONDO	BERN	TIROL	ESGORAR	OTMIEN	TOI
<b>ALDX</b>	N	80	41	104	117	32	72	141
	a*	0.013	---	0.043	0.009	0.047	---	0.053
	a	0.719	0.695	0.591	0.675	0.594	0.778	0.809
	b	0.256	0.293	0.337	0.303	0.359	0.222	0.103
c	0.013	---	0.029	0.013	---	---	0.032	
nulo	---	0.012	---	---	---	---	0.004	
<b>PEP-1</b>	N	108	44	107	122	32	74	173
	a	0.069	0.045	0.070	0.070	0.125	---	0.078
	b	0.806	0.909	0.879	0.836	0.703	0.872	0.818
	c	0.125	0.045	0.047	0.094	0.172	0.128	0.101
d	---	---	0.005	---	---	---	---	
nulo	---	---	---	---	---	---	0.003	
<b>PEP-2</b>	N	103	42	104	117	31	69	180
	a*	---	---	0.014	0.021	0.016	---	0.017
	a	0.471	0.488	0.442	0.372	0.387	0.384	0.367
	b	0.476	0.512	0.519	0.577	0.516	0.551	0.547
c	0.053	---	0.024	0.026	0.081	0.051	0.067	
nulo	---	---	---	---	---	0.014	0.003	
<b>XDH</b>	N	90	41	89	106	23	12	153
	a	0.050	0.012	0.045	0.057	0.043	0.042	0.042
	b	0.606	0.549	0.579	0.514	0.587	0.875	0.810
	c	0.328	0.439	0.320	0.396	0.370	0.083	0.147
d	0.017	---	0.056	0.019	---	---	---	
nulo	---	---	---	0.014	---	---	---	

**TABLA 4.2.b** Frecuencias alélicas de los loci Aldox, Pep-1, Pep-2 y Xdh en poblaciones naturales de *D. buzzatii*

En la Tabla 4.3 se presentan los valores de los estadísticos F calculados para cada locus enzimático y para el polimorfismo cromosómico.

	F <sub>CD</sub>	F <sub>DR</sub>	F <sub>RT</sub>	F <sub>DT</sub>
Lap	+0.008	+0.006	+0.000	+0.005 (0,004)
Pep-2	+0.006	-0.004	+0.009	+0.002 (0,003)
Est-1	+0.043	+0.025	-0.004	+0.022 (0.021)
Pep-1	+0.013	+0.018	-0.013	+0.010 (0.010)
Aldox	-0.048	+0.014	+0.014	+0.040 (0.032)
Est2	+0.073	+0.004	+0.077	+0.069 (0.062)
Xdh	+0.075	-0.014	+0.072	+0.064 (0.048)
Enzimas (promedio)	+0.008	+0.009	+0.039	+0.038
Cromosomas		+0.042	+0.230	+0.247

**TABLA 4.3.** Análisis jerárquico de diferenciación entre las poblaciones de *D. buzzatii* analizadas. Se muestran los estadísticos F de diferenciación global entre poblaciones (F<sub>DT</sub>) para cada sistema analizado y a tres niveles distintos de la jerarquización: entre individuos portadores de una dada ordenación dentro de cada población (F<sub>CD</sub>), poblaciones dentro de regiones (F<sub>DR</sub>), entre regiones dentro del área total (F<sub>RT</sub>). Entre paréntesis, se dan los valores estimados por bootstrap

QUÉ TAN  
DISTINTAS  
SON LAS  
DISTINTAS  
POBLACIONES  
(F<sub>DT</sub>)

Tanto para los loci Est-1, Aldox, Est-2, Pep-1 y Xdh, como para el polimorfismo de inversiones, la diferenciación entre poblaciones, estimada por el estadístico F<sub>DT</sub>, resulta significativamente diferente de cero (F<sub>DT</sub> > 0; P= 0,001 para Est-1; P= 0,000 para Aldox, Est-2, Xdh e inversiones y P= 0,05 para Pep-1). Por el contrario, la diferenciación



interpoblacional no es significativa para los sistemas Lap y Pep-2, es decir que los  $F_{DT}$  no resultaron significativamente diferentes de cero ( $P=0,265$  y  $P=0,374$  respectivamente).

La diferenciación entre poblaciones para las ordenaciones del cromosoma 2 es sensiblemente mayor (entre tres veces y dos órdenes de magnitud) que los valores obtenidos para los loci isoenzimáticos.

En los loci isoenzimáticos se pueden reconocer tres patrones de diferenciación. Uno es el que se observa para los loci Est-1 y Pep-1, cuyos estadísticos  $F_{DT}$  no resultan significativamente diferentes entre sí (probabilidad de que la diferencia entre ambos sea distinta de cero  $P=0,185$ ). Un segundo patrón de diferenciación lo exhiben Est-2 y Xdh, los cuales muestran valores de  $F_{DT}$  del orden de 0,06 (Tabla 4.2), que no se diferencian significativamente entre sí (la probabilidad de que la diferencia entre ambos sea diferente de cero es  $P=0,08$ ). Estos  $F_{DT}$ , que implican un mayor grado de diferenciación que el observado para otros loci, son significativamente diferentes de los observados para Est-1 y Pep-1 (la probabilidad de que la diferencia entre ambos pares sea diferente de cero es  $P=0,000$ ). Por último Aldox muestra un nivel de diferenciación intermedio, ya que el  $F_{DT}$  estimado para este locus no resulta significativamente diferente de los valores obtenidos para Est-1/Pep-1 ( $P=0,112$ ) y muestra diferencias marginalmente significativas con Est-2/Xdh ( $P=0,051$ ).

Por otra parte, Lap y Pep-2 tienen en común que la diferenciación entre poblaciones no es significativa, pero la situación de cada uno de ellos es bien diferente: mientras que Lap es prácticamente monomórfica en las poblaciones estudiadas, Pep-2 muestra dos alelos en frecuencias intermedias en todas las poblaciones (Tabla 4.1).

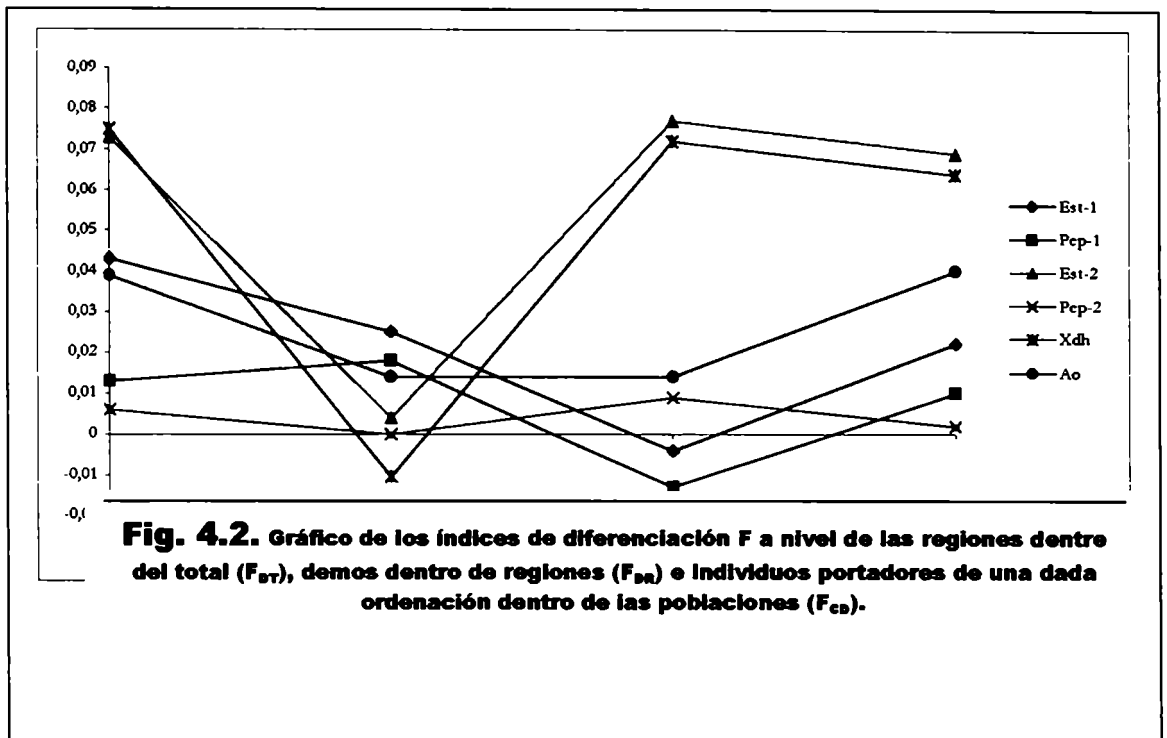
---

LOS  
DIFERENTES  
F<sub>DT</sub> CON  
DIFERENTE  
COMPOSICIÓN

---

Al analizar los componentes de F<sub>DT</sub> (Tabla 4.2), se puede ver la importancia relativa de cada uno de ellos, en cada caso. Para las ordenaciones cromosómicas detectamos un patrón regional muy marcado, ya que la diferenciación entre regiones medida por F<sub>RT</sub> es mayor que la detectada entre poblaciones dentro de regiones (F<sub>DR</sub>). En cambio, para los loci enzimáticos, nuevamente pueden reconocerse tres patrones distintos. Por un lado, Est-1 y Pep-1 exhiben un componente de variación interpoblacional dentro de regiones importante (F<sub>DR</sub> > F<sub>RT</sub>). En el caso de Aldox, F<sub>DR</sub> y F<sub>RT</sub> muestran valores muy semejantes, indicando que la variabilidad debida a diferencias entre demos dentro de cada región y entre regiones dentro del total, contribuyen en forma similar a la diferenciación total, sin un patrón regional marcado. Por último, Est-2 y Xdh, muestran una diferenciación global principalmente atribuible a diferencias entre regiones, en tanto que las poblaciones dentro de cada región aparecen como unidades homogéneas, sugiriendo un importante componente regional.

Cuando consideramos las diferentes ordenaciones en el análisis de la variación, podemos ver que los únicos loci que muestran valores de F<sub>CD</sub> significativamente diferentes de cero son Est-1, Aldox, Est-2 y Xdh, siendo estos dos últimos los que muestran mayor grado de diferenciación (Tabla 4.2 y Fig. 4.2).



### Correlaciones entre variables genéticas y ambientales

**EL  
POLIMORFISMO  
CROMOSÓMICO  
Y LAS  
VARIABLES  
GEOGRÁFICAS**

El análisis de regresión de las frecuencias respecto de variables geográficas y climáticas, muestra que la regresión múltiple del polimorfismo cromosómico respecto de la latitud, la longitud y la altitud de las poblaciones es significativa para las ordenaciones 2ST y 2J (Tabla 4.3). La frecuencia de 2ST disminuye con la latitud y la longitud y aumenta con la altitud, mientras que 2J varía en forma inversa. La regresión múltiple de 2JZ<sup>3</sup> fue sólo marginalmente significativa, sin embargo, la correlación parcial sobre la latitud es significativa.

CROMOSOM	Variables geográficas			Variables climáticas			
<b>REGRESIÓN MÚLTIPLE</b>	ST	J	JZ <sup>3</sup>	<b>REGRESIÓN MÚLTIPLE</b>	ST	J	JZ <sup>3</sup>
<b>R<sup>2</sup></b>	0,983	0,959	0,889	<b>R<sup>2</sup></b>	0,67	0,989	0,986
<b>F (3, P)</b>	52,02*	23,14*	8,031	<b>F (4, P)</b>	14,69	22,90*	5,10
	0,004	0,014	0,060		0,065	0,04	0,17
<b>COEFICIENTES DE</b>				<b>COEFICIENTES DE</b>			
<b>LATITUD (P)</b>	- 1,2* (0,004)	1,18* (0,004)	1,14* (0,017)	<b>TEMPERAT. (P)</b>	0,112 (0,72)	- 0,20 (0,93)	- 0,26 (0,62)
<b>LONGITUD (P)</b>	- 1,2* (0,005)	1,30* (0,014)	0,74 (0,16)	<b>HUMEDAD (P)</b>	0,391 (0,66)	- 0,15 (0,83)	- 1,2 (0,43)
<b>ALTITUD (P)</b>	0,51* (0,04)	- 0,57 (0,08)	- 0,31 (0,46)	<b>PRESIÓN (P)</b>	- 1,2 (0,12)	1,19 (0,08)	1,26 (0,24)
				<b>PRECIPITAC</b>	0,974 (0,22)	- 1,19 (0,11)	- 0,04 (0,97)

**TABLA 4.3.** Regresión múltiple y coeficientes de correlación parcial sobre variables geográficas (izquierda) y climáticas (derecha) de las frecuencias transformadas por  $\arcsen(p^{1/4})$  de las ordenaciones del cromosoma 2 de *D. buzzatii*. Entre paréntesis los grados de libertad del estadístico F de la regresión múltiple y las probabilidades asociadas a los coeficientes de correlación parcial de cada variable.

**EL  
POLIMORFISMO  
CROMOSÓMICO  
Y LAS  
VARIABLES  
CLIMÁTICAS**

La regresión múltiple sobre las medias anuales de temperatura, humedad, presión y precipitaciones resulta significativa solamente para la ordenación 2J (Tabla 4.3). Sin embargo, ninguna de las variables individuales parece explicar este resultado, ya que ninguno de los coeficientes individuales de regresión de esta ordenación con las variables analizadas es significativo.

**LOS LOCI  
ENZIMÁTICOS  
Y LAS  
VARIABLES  
GEOGRÁFICAS**

Las frecuencias alélicas de los loci enzimáticos muestran distintos grados de correlación con las variables geográficas y climáticas.

Tanto la regresión del alelo Est-1<sup>a</sup> con las variables geográficas como con las climáticas resultan significativas (Tablas 4.4). La frecuencia de Est-1<sup>a</sup> disminuye con la latitud y aumenta significativamente con la temperatura.

EST-1	Variables geográficas			Variables climáticas		
<b>REGRESIÓN MÚLTIPLE</b>				<b>REGRESIÓN MÚLTIPLE</b>		
<b>R<sup>2</sup></b>	0,985	0,655	0,199	<b>R<sup>2</sup></b>	0,986	0,739
<b>F (3, 3)</b>	68,11*	1,90	0,25	<b>F (4, 2)</b>	35,81*	1,41
<b>P</b>	0,003	0,30	0,86	<b>P</b>	0,027	0,94
<b>COEFICIENTES DE REGRESIÓN</b>				<b>COEFICIENTES DE REGRESIÓN</b>		
<b>LATITUD</b>	- 1,17*	0,94	- 0,16	<b>TEMPERAT.</b>	0,77*	- 0,95
<b>(P)</b>	(0,001)	(0,109)	(0,82)	<b>(P)</b>	(0,05)	(0,34)
<b>LONGITUD</b>	- 0,33	0,784	- 0,62	<b>HUMEDAD</b>	- 0,41	1,26
<b>(P)</b>	(0,111)	(0,35)	(0,61)	<b>(P)</b>	(0,49)	(0,62)
<b>ALTITUD</b>	- 0,20	0,01	0,12	<b>PRESIÓN</b>	- 0,43	- 0,49
<b>(P)</b>	(0,23)	(0,99)	(0,91)	<b>(P)</b>	(0,28)	(0,74)
				<b>PRECIPITAC.</b>	1,19	- 1,7
				<b>(P)</b>	(0,08)	(0,38)

**TABLA 4.4.** Regresión múltiple y coeficientes de correlación parcial sobre variables geográficas (izquierda) y climáticas (derecha) de las frecuencias transformadas por  $\arcsen(p^{1/2})$  de los alelos del locus Est-1 de *D. buzzatii*. Entre paréntesis los grados de libertad del estadístico F de la regresión múltiple y las probabilidades asociadas a los coeficientes de correlación parcial de cada variable.

Est-2					
a) Variables geográficas					
REGRESIÓN					
MÚLTIPLE	a	b	c	d	c+
R <sup>2</sup>	0,98	0,24	0,88	0,88	0,95
F (3, 3)	43,52*	0,32	7,39	7,07	18,61*
P	0,01	0,81	0,07	0,07	0,02
COEFICIENTES DE REGRESIÓN					
LATITUD	- 0,51*	- 0,55	0,86*	1,11*	- 1,1*
(P)	(0,02)	(0,44)	(0,04)	(0,02)	(0,01)
LONGITUD	0,88*	- 0,27	- 0,08	0,34	- 1,5*
(P)	(0,02)	(0,81)	(0,89)	(0,48)	(0,01)
ALTITUD	- 0,36	- 0,20	- 0,06	0,14	1,08*
(P)	(0,12)	(0,85)	(0,87)	(0,74)	(0,02)

**TABLA 4.5a.** Regresión múltiple y coeficientes de correlación parcial sobre variables geográficas de las frecuencias transformadas por  $\arcsen(p^A)$  de los alelos del locus Est-2 de *D. buzzatii*. Entra paréntesis los grados de libertad del estadístico F de la regresión múltiple y las probabilidades asociadas a los coeficientes de correlación parcial de cada variable.

Los análisis de regresión de las frecuencias alélicas de Est-2 muestran que la frecuencia del alelo Est-2<sup>a</sup> está negativamente correlacionado con la latitud y positivamente con la longitud, y los alelos Est-2<sup>c</sup> y Est-2<sup>d</sup> están positivamente correlacionado con la latitud, aún cuando la regresión múltiple no resulta significativa. El alelo c+, que sólo es detectado en poblaciones del noroeste, exhibe correlaciones significativas con cada una de las variables geográficas (Tabla 4.5a). Si bien los coeficientes de correlación parcial de Est-2<sup>a</sup> sobre cada variable climática no resultan significativos, sí lo es la regresión múltiple (Tabla 4.5b), mientras que los restantes alelos no muestran correlaciones significativas con estas variables.

EST-2					
b) Variables climáticas					
REGRESIÓN					
MÚLTIPLE	a	b	c	d	c+
R <sup>2</sup>	0,98	0,80	0,92	0,93	0,73
F (4, 2)	21,39*	1,95	5,73	6,56	1,43
P	0,04	0,37	0,15	0,14	0,47
COEFICIENTES DE REGRESIÓN					
TEMPERAT.	0,66	- 1,30	- 0,02	- 0,04	0,51
(P)	(0,10)	(0,19)	(0,97)	(0,93)	(0,58)
HUMEDAD	- 0,10	3,81	- 1,40	- 0,86	- 1,3
(P)	(0,89)	(0,18)	(0,38)	(0,52)	(0,62)
PRESIÓN	- 0,32	- 2,80	1,57	1,48	- 0,26
(P)	(0,49)	(0,13)	(0,16)	(0,16)	(0,86)
PRECIPITAC.	- 0,06	- 1,7	0,42	- 0,47	1,87
(P)	(0,90)	(0,34)	(0,67)	(0,62)	(0,35)

**TABLA 4.5b.** Regresión múltiple y coeficientes de correlación parcial sobre variables climáticas de las frecuencias transformadas por  $\arccos(p^1/2)$  de los alelos del locus Est-2 de *D. buzzatii*. Entre paréntesis los grados de libertad del estadístico F de la regresión múltiple y las probabilidades asociadas a los coeficientes de correlación parcial de cada variable.

El alelo *c* de Pep-1, a su vez, es el único alelo de este locus que muestra un patrón clinal de variación significativo, dado por la correlación negativa con la altitud significativa. En cambio, ningún alelo muestra correlación significativa alguna con las variables climáticas (Tabla 4.6).

PEP-1	Variables geográficas			Variables climáticas		
<b>REGRESIÓN</b>				<b>REGRESIÓN</b>		
<b>MÚLTIPLE</b>	a	b	c	<b>MÚLTIPLE</b>	a	b
<b>R<sup>2</sup></b>	0,63	0,76	0,92	<b>R<sup>2</sup></b>	0,76	0,84
<b>F (3, 3)</b>	1,67	3,24	11,47*	<b>F (4, 2)</b>	1,56	2,65
<b>P</b>	0,34	0,18	0,04	<b>P</b>	0,43	0,29
<b>COEFICIENTES</b>				<b>COEFICIENTES</b>		
<b>DE REGRESIÓN</b>				<b>DE REGRESIÓN</b>		
<b>LATITUD</b>	- 0,91	0,41	0,57	<b>TEMPERAT.</b>	1,01	- 1,50
<b>(P)</b>	(0,13)	(0,32)	(0,07)	<b>(P)</b>	(0,31)	(0,13)
<b>LONGITUD</b>	- 0,54	- 0,95	0,97	<b>HUMEDAD</b>	- 2,4	1,41
<b>(P)</b>	(0,52)	(0,21)	(0,07)	<b>(P)</b>	(0,37)	(0,49)
<b>ALTITUD</b>	- 0,22	1,46	- 1,4*	<b>PRESIÓN</b>	0,75	- 1,60
<b>(P)</b>	(0,77)	(0,07)	(0,02)	<b>(P)</b>	(0,61)	(0,25)
				<b>PRECIPITAC.</b>	2,55	- 0,94
				<b>(P)</b>	(0,23)	(0,51)

**TABLA 4.6.** Regresión múltiple y coeficientes de correlación parcial sobre variables geográficas (izquierda) y climáticas (derecha) de las frecuencias transformadas por  $\arcsen(p^{1/4})$  de los alelos del locus Pep-1 de *D. buzzatii*. Entre paréntesis los grados de libertad del estadístico F de la regresión múltiple y las probabilidades asociadas a los coeficientes de correlación parcial de cada variable.

Pep-2 es el locus enzimático que más correlaciones significativas muestra con las variables geográficas (Tabla 4.7). El alelo *a* disminuye con la latitud y la longitud y aumenta con la altitud, mientras que los alelos *b* y *c* exhiben el patrón complementario, es decir que aumentan con la latitud y la longitud y disminuyen con la altitud. El alelo *b* muestra correlaciones negativas significativas con la temperatura y las precipitaciones.



PEP-2	Variables geográficas			Variables climáticas		
<b>REGRESIÓN MÚLTIPLE</b>				<b>REGRESIÓN MÚLTIPLE</b>		
<b>R<sup>2</sup></b>	0,98	0,96	0,96	<b>R<sup>2</sup></b>	0,97	0,98
<b>F (3, 3)</b>	65,89*	27,49*	21,25*	<b>F (4, 2)</b>	15,86	29,83*
<b>P</b>	0,003	0,01	0,02	<b>P</b>	0,06	0,03
<b>COEFICIENTES DE REGRESIÓN</b>				<b>COEFICIENTES DE REGRESIÓN</b>		
<b>LATITUD (P)</b>	- 1,2* (0,001)	1,17* (0,003)	1,21* (0,004)	<b>TEMPERAT. (P)</b>	0,184 (0,56)	- 0,16 (0,50)
<b>LONGITUD (P)</b>	- 1,2* (0,004)	1,32* (0,01)	0,97* (0,03)	<b>HUMEDAD (P)</b>	0,17 (0,84)	0,30 (0,63)
<b>ALTITUD (P)</b>	0,49* (0,04)	- 0,55 (0,08)	- 0,30 (0,29)	<b>PRESIÓN (P)</b>	- 1,10 (0,13)	1,92 (0,10)
				<b>PRECIPITAC. (P)</b>	1,11 (0,17)	- 1,50 (0,06)
						0,94 8,26 0,11 - 0,38 (0,41) - 0,56 (0,63) 0,95 (0,26) - 0,69 (0,44)

**TABLA 4.7.** Regresión múltiple y coeficientes de correlación parcial sobre variables geográficas (izquierda) y climáticas (derecha) de las frecuencias transformadas por arcosen( $p^{1/2}$ ) de los alelos del locus Pep-2 de *D. buzzatii*. Entre paréntesis los grados de libertad del estadístico F de la regresión múltiple y las probabilidades asociadas a los coeficientes de correlación parcial de cada variable.

Contrariamente, los loci Lap y Aldox, no exhiben ninguna correlación con variable geográfica o ambiental alguna (Tablas 4.8 y 4.9).

Finalmente, la variación de las frecuencias de los alelos menos frecuentes del locus Xdh –los alelos *a* (4,7 %) y *d* (1,7%) – muestra modelos de regresión significativos tanto con variables geográficas como climáticas (Tabla 4.10). El análisis de los coeficientes de regresión revela

PEP-1	Variables geográficas			Variables climáticas		
<b>REGRESIÓN</b>				<b>REGRESIÓN</b>		
<b>MÚLTIPLE</b>	a	b	c	<b>MÚLTIPLE</b>	a	b
<b>R<sup>2</sup></b>	0,71	0,72	0,63	<b>R<sup>2</sup></b>	0,83	0,87
<b>F (3, 3)</b>	2,47	2,51	1,67	<b>F (4, 2)</b>	2,48	3,35
<b>P</b>	0,24	0,23	0,34	<b>P</b>	0,31	0,24
<b>COEFICIENTES DE REGRESIÓN</b>				<b>COEFICIENTES DE REGRESIÓN</b>		
<b>LATITUD</b>	- 0,82	0,85	- 0,79	<b>TEMPERAT.</b>	0,95	- 1,20
<b>(P)</b>	(0,12)	(0,11)	(0,17)	<b>(P)</b>	(0,26)	(0,17)
<b>LONGITUD</b>	- 0,89	0,49	- 0,20	<b>HUMEDAD</b>	- 0,23	2,88
<b>(P)</b>	(0,27)	(0,51)	(0,81)	<b>(P)</b>	(0,32)	(0,19)
<b>ALTITUD</b>	- 0,11	0,44	- 0,59	<b>PRESIÓN</b>	0,97	- 1,20
<b>(P)</b>	(0,87)	(0,51)	(0,45)	<b>(P)</b>	(0,45)	(0,32)
				<b>PRECIPITAC.</b>	2,51	- 2,90
				<b>(P)</b>	(0,18)	(0,12)

**TABLA 4.6.** Regresión múltiple y coeficientes de correlación parcial sobre variables geográficas (izquierda) y climáticas (derecha) de las frecuencias transformadas por  $\arcsen(p^a)$  de los alelos del locus Lap de *D. buzzatii*. Entre paréntesis los grados de libertad del estadístico F de la regresión múltiple y las probabilidades asociadas a los coeficientes de correlación parcial de cada variable.

que la frecuencia del alelo Xdh<sup>a</sup> disminuye en poblaciones más australes, mientras que Xdh<sup>d</sup> aumenta hacia el norte y el oeste (Tabla 4.10a). La regresión múltiple sobre las variables climáticas, que resulta significativa para el alelo a, no podría ser explicada por ninguna de las variables individuales, ya que los coeficientes de correlación con cada una de ellas no resultan significativos.

ALDIX				
a) Variables geográficas				
<b>REGRESIÓN</b>				
<b>MÚLTIPLE</b>				
<b>R<sup>2</sup></b>	a+	a	b	c
<b>F (3, 3)</b>	0,54	0,62	0,30	0,37
<b>P</b>	1,18	1,64	0,42	0,58
	0,45	0,35	0,75	0,66
<b>COEFICIENTES DE REGRESIÓN</b>				
<b>LATITUD</b>	- 0,81	0,96	- 0,62	- 0,44
<b>(P)</b>	(0,19)	(0,12)	(0,38)	(0,50)
<b>LONGITUD</b>	- 0,51	0,59	- 0,12	- 0,44
<b>(P)</b>	(0,58)	(0,49)	(0,91)	(0,68)
<b>ALTITUD</b>	- 0,25	0,04	- 0,05	- 0,31
<b>(P)</b>	(0,76)	(0,95)	(0,96)	(0,96)
b) Variables climáticas				
<b>REGRESIÓN</b>				
<b>MÚLTIPLE</b>				
<b>R<sup>2</sup></b>	0,93	0,94	0,38	0,54
<b>F (4, 2)</b>	6,89	8,51	0,30	0,58
<b>P</b>	0,13	0,11	0,86	0,71
<b>COEFICIENTES DE REGRESIÓN</b>				
<b>TEMPERAT.</b>	1,49	- 1,50	0,78	0,95
<b>(P)</b>	(0,06)	(0,051)	(0,58)	(0,45)
<b>HUMEDAD</b>	- 3,9	3,32	- 0,60	- 2,8
<b>(P)</b>	(0,07)	(0,08)	(0,87)	(0,43)
<b>PRESIÓN</b>	1,74	- 1,40	0,24	1,42
<b>(P)</b>	(0,12)	(0,14)	(0,92)	(0,49)
<b>PRECIPITAC.</b>	3,43	- 3,0	0,69	2,49
<b>(P)</b>	(0,05)	(0,05)	(0,80)	(0,35)

**TABLA 4.9.** Regresión múltiple y coeficientes de correlación parcial sobre variables a) geográficas (arriba) y b) climáticas (abajo) de las frecuencias transformadas por  $\arccos(p^{1/2})$  de los alelos del locus Aldix de *D. buzzatii*. Entre paréntesis los grados de libertad del estadístico F de la regresión múltiple y las probabilidades asociadas a los coeficientes de correlación parcial de cada variable.

XDII				
a) Variables geográficas				
<b>REGRESIÓN</b>				
<b>MÚLTIPLE</b>				
<b>R<sup>2</sup></b>	a	b	c	d
	0,98	0,64	0,20	0,98
<b>F (3, 3)</b>	65,12*	1,80	0,25	40,37*
<b>P</b>	0,003	0,32	0,86	0,006
<b>COEFICIENTES DE REGRESIÓN</b>				
<b>LATITUD</b>	- 1,2*	0,94	- 0,26	- 0,56*
<b>(P)</b>	(0,001)	(0,11)	(0,71)	(0,02)
<b>LONGITUD</b>	- 0,26	0,77	- 0,69	0,79*
<b>(P)</b>	(0,18)	(0,37)	(0,57)	(0,03)
<b>ALTITUD</b>	- 0,18	0,00	0,18	- 0,30
<b>(P)</b>	(0,27)	(0,99)	(0,87)	(0,18)
b) Variables climáticas				
<b>REGRESIÓN</b>				
<b>MÚLTIPLE</b>				
<b>R<sup>2</sup></b>	0,98	0,72	0,25	0,97
<b>F (4, 2)</b>	23,11*	1,28	0,17	17,02
<b>P</b>	0,04	0,48	0,94	0,06
<b>COEFICIENTES DE REGRESIÓN</b>				
<b>TEMPERAT.</b>	0,66	- 0,93	0,42	0,61
<b>(P)</b>	(0,09)	(0,37)	(0,78)	(0,14)
<b>HUMEDAD</b>	- 0,09	1,18	- 0,34	- 0,01
<b>(P)</b>	(0,89)	(0,65)	(0,93)	(0,99)
<b>PRESIÓN</b>	- 0,64	- 0,44	0,55	- 0,44
<b>(P)</b>	(0,22)	(0,77)	(0,83)	(0,41)
<b>PRECIPITAC.</b>	0,93	- 1,6	0,51	- 0,06
<b>(P)</b>	(0,17)	(0,41)	(0,86)	(0,92)

**TABLA 4.10.** Regresión múltiple y coeficientes de correlación parcial sobre variables a) geográficas (arriba) y b) climáticas (abajo) de las frecuencias transformadas por  $\arcsen(p^h)$  de los alelos del locus Xdh de *D. buzzatii*. Entre paréntesis los grados de libertad del estadístico F de la regresión múltiple y las probabilidades asociadas a los coeficientes de correlación parcial de cada variable.

---

LOS LOCI  
ASOCIADOS A  
LAS  
INVERSIONES  
Y SUS CLINAS

---

La correlación de frecuencias con factores ambientales constituye un método indirecto de detección de selección natural en la naturaleza (Endler, 1986), que si bien no prueba una relación causal sugiere la existencia de factores selectivos involucrados en la variación de las frecuencias. Sin embargo, cuando se trata de loci que presentan desequilibrio con las inversiones, cuyas frecuencias también varían clinalmente, cabe preguntarse si las inversiones pueden ser un factor importante en el mantenimiento de las clinas de los loci enzimáticos (Voelker et al., 1978).

En nuestro caso, de los cuatro loci que presentan desequilibrio con las inversiones – Est-1; Est-2; Xdh y Aldox – tres mostraron variaciones clinales: Est-1<sup>a</sup> disminuye con la longitud y aumenta con la temperatura (Tabla 4.4); Est-2<sup>a</sup> disminuye con la latitud y aumenta con la longitud, Est-2<sup>c</sup> y Est-2<sup>d</sup> aumentan con la latitud (Tabla 4.5); Xdh<sup>a</sup> y Xdh<sup>d</sup> disminuyen con la latitud (Tabla 4.10). Dado que algunos de estos mismos alelos aparecen asociados con las inversiones (Cap.3, Tabla 3.10) y éstas a su vez presentan patrones clinales, las clinas de estos loci podrían deberse al efecto de ‘arrastre’ de las inversiones (hitchhiking).

En tal sentido, Est-1<sup>a</sup> está asociada a la inversión ST que presenta una variación clinal que podría explicar la variación de Est-1<sup>a</sup> (disminuye con la latitud y aumenta con la longitud, Tabla 4.3); Est-2<sup>c</sup> y Est-2<sup>d</sup> están asociadas con las ordenaciones derivadas J y JZ<sup>3</sup> (Cap.3, Tabla 3.10), las cuales, coincidentemente, aumentan con la latitud (Tabla 4.3); mientras que Xdh<sup>d</sup> está asociada a 2ST (Cap.3, Tabla 3.10) y ambas disminuyen con la latitud. Vale decir que en los tres loci se detectan clinas que podrían ser explicadas por el efecto de arrastre de las inversiones.

**¿ LAS  
FRECUENCIAS  
CONDICIONA-  
LES  
MUESTRAN  
VARIACIÓN  
CLINAL ?**

Este punto puede ser esclarecido, y discriminar cuáles de estas clinas son explicadas por las detectadas en el polimorfismo de inversiones y cuáles son independientes. De acuerdo a Voelker et al. (1978), una manera de analizar la influencia de las clinas exhibidas por las inversiones en los loci aloenzimáticos, es a partir del análisis de la variación de las frecuencias condicionales. Siguiendo esta idea, realizamos un análisis de regresión múltiple de las frecuencias condicionales (presentadas en las tablas 3.2 a 3.7), en función de las variables ambientales, cuyos resultados se presentan en las tablas 4.11 a 4.14.

2ST-EST-1	Variables geográficas			Variables climáticas			
<b>REGRESIÓN MÚLTIPLE</b>				<b>REGRESIÓN MÚLTIPLE</b>			
<b>R<sup>2</sup></b>	0,43	0,81	0,29	<b>R<sup>2</sup></b>	0,42	0,83	0,11
<b>F (3, 3)</b>	0,75	4,31	0,41	<b>F (4, 2)</b>	0,36	2,47	0,06
<b>P</b>	0,59	0,13	0,76	<b>P</b>	0,83	0,31	0,99
<b>COEFICIENTES DE REGRESIÓN</b>				<b>COEFICIENTES DE REGRESIÓN</b>			
<b>LATTITUD</b>	-0,59	0,96 *	-0,13	<b>TEMPERAT.</b>	0,571	-0,61	-0,10
<b>(P)</b>	(0,33)	(0,036)	(0,84)	<b>(P)</b>	(0,41)	(0,16)	(0,90)
<b>LONGITUD</b>	0,13	0,62	-0,84	<b>HUMEDAD</b>	-0,59	1,14	-0,66
<b>(P)</b>	(0,89)	(0,31)	(0,46)	<b>(P)</b>	(0,63)	(0,15)	(0,66)
<b>ALTITUD</b>	-0,04	-0,56	1,01	<b>PRESIÓN</b>	-0,19	-0,25	-0,14
<b>(P)</b>	(0,96)	(0,31)	(0,34)	<b>(P)</b>	(0,87)	(0,70)	(0,92)
				<b>PRECIPITAC.</b>	0,72	-0,97	0,62
				<b>(P)</b>	(0,67)	(0,32)	(0,76)

**TABLA 4.11.a. Regresión múltiple y coeficientes de correlación parcial sobre variables geográficas (izquierda) y climáticas (derecha) de las frecuencias condicionales transformadas por arcosen(p<sup>4</sup>) de los aleles del locus Est-1 dentro de la ordenación 2ST de *D. buzzatii*. Entre paréntesis los grados de libertad del estadístico F de la regresión múltiple y las probabilidades asociadas a los coeficientes de correlación parcial de cada variable.**

2J-Est-1	Variables geográficas			Variables climáticas			
<b>REGRESIÓN</b>				<b>REGRESIÓN</b>			
<b>MÚLTIPLE</b>	a	b	c	<b>MÚLTIPLE</b>	a	b	c
<b>R<sup>2</sup></b>	0,75	0,60	0,38	<b>R<sup>2</sup></b>	0,81	0,85	0,79
<b>F (3, 3)</b>	2,95	1,50	0,62	<b>F (4, 2)</b>	2,08	2,75	1,93
<b>P</b>	0,20	0,37	0,64	<b>P</b>	0,35	0,28	0,37
<b>COEFICIENTES DE REGRESIÓN</b>				<b>COEFICIENTES DE REGRESIÓN</b>			
<b>LATITUD</b>	-0,78	0,40	0,71	<b>TEMPERAT.</b>	0,45	-0,39	-0,08
<b>(P)</b>	(0,99)	(0,42)	(0,27)	<b>(P)</b>	(0,29)	(0,30)	(0,84)
<b>LONGITUD</b>	-0,11	-0,04	0,71	<b>HUMEDAD</b>	-0,05	-1,0	1,58
<b>(P)</b>	(0,87)	(0,96)	(0,50)	<b>(P)</b>	(0,94)	(0,17)	(0,09)
<b>ALTITUD</b>	-0,79	0,89	-,50	<b>PRESIÓN</b>	0,91	-0,96	-0,38
<b>(P)</b>	(0,23)	(0,27)	(0,59)	<b>(P)</b>	(0,24)	(0,18)	(0,59)
				<b>PRECIPITAC.</b>	-0,03	1,04	-1,3
				<b>(P)</b>	(0,98)	(0,28)	(0,26)

**TABLA 4.11.b.** Regresión múltiple y coeficientes de correlación parcial sobre variables geográficas (izquierda) y climáticas (derecha) de las frecuencias condicionales transformadas por  $\arccos(p^{1/2})$ , de los alelos del locus Est-1 dentro de la ordenación 2J de *D. buzzatii*. Entre paréntesis los grados de libertad del estadístico F de la regresión múltiple y las probabilidades asociadas a los coeficientes de correlación parcial de cada variable.

En las tablas 4.11.a y 4.11.b puede observarse que las frecuencias condicionales de los alelos de Est-1 no presentan variación clinal, a diferencia de lo que se observa cuando se consideran las frecuencias totales de cada población.

2ST-1-EST-2	Variables geográficas				
<b>REGRESIÓN</b>					
<b>MÚLTIPLE</b>	a	b	c	d	c+
<b>R<sup>2</sup></b>	0,44	0,37	0,41	0,74	0,91 *
<b>F (3, 3)</b>	0,79	0,59	0,69	2,88	10,41
<b>P</b>	0,57	0,66	0,62	0,20	0,04
<b>COEFICIENTES DE REGRESIÓN</b>					
<b>LATITUD</b>	-0,09	-0,62	-0,31	1,03 *	-0,86 *
<b>(P)</b>	(0,87)	(0,33)	(0,60)	(0,046)	(0,01)
<b>LONGITUD</b>	0,38	0,177	0,63	0,38	-1,90 *
<b>(P)</b>	(0,70)	(0,86)	(0,54)	(0,57)	(0,006)
<b>ALTITUD</b>	0,26	-0,50	-1,1	0,10	1,23 *
<b>(P)</b>	(0,77)	(0,60)	(0,28)	(0,87)	(0,02)

2ST-1-EST-2	Variables geográficas				
<b>REGRESIÓN</b>					
<b>MÚLTIPLE</b>	a	b	c	d	c+
<b>R<sup>2</sup></b>	0,56	0,60	0,12	0,78	0,69
<b>F (4, 2)</b>	0,64	0,75	0,07	1,77	1,09
<b>P</b>	0,68	0,64	0,99	0,39	0,53
<b>COEFICIENTES DE REGRESIÓN</b>					
<b>TEMPERAT.</b>	0,46	0,43	0,28	-0,69	0,18
<b>(P)</b>	(0,45)	(0,46)	(0,74)	(0,16)	(0,72)
<b>HUMEDAD</b>	0,21	-0,95	-0,10	0,98	-0,98
<b>(P)</b>	(0,84)	(0,37)	(0,95)	(0,24)	(0,31)
<b>PRESIÓN</b>	0,16	-1,1	-0,19	0,40	-1,7
<b>(P)</b>	(0,88)	(0,32)	(0,89)	(0,59)	(0,85)
<b>PRECIPITAC.</b>	-0,75	2,11	0,57	-1,7	1,69
<b>(P)</b>	(0,61)	(0,20)	(0,78)	(0,16)	(0,23)

**TABLA 4.12.a.** Regresión múltiple y coeficientes de correlación parcial sobre variables a) geográficas (arriba) y b) climáticas (abajo) de las frecuencias condicionales transformadas por  $\arcsen(p^{1/2})$ , de los alelos del locus Est-2 dentro de la ordenación 2ST de *D. buzzatii*. Entre paréntesis los grados de libertad del estadístico F de la regresión múltiple y las probabilidades asociadas a los coeficientes de correlación parcial de cada variable.



El locus Est-2, a diferencia de Est-1, presenta un patrón clinal de variación de las frecuencias alélicas condicionales (Tablas 4.12.a y 4.12.b), pero éste a diferencia de lo observado en el análisis de regresión de las frecuencias totales, no involucra al alelo a (más frecuente en 2ST). El alelo Est-2<sup>c</sup> presenta clinas consistentes con las observadas en el total, pero sólo dentro de 2J, inversión a la que está asociado, mientras que el alelo Est-2<sup>d</sup>, aumenta con la latitud tanto dentro de 2ST como dentro de 2J, pero en ésta última es significativa también la regresión múltiple, ya que también aumenta con la longitud y disminuye significativamente con la altitud. Por último, Est-2<sup>b</sup> que no muestra variaciones clinales en el global, dentro de J aumenta significativamente con las precipitaciones y disminuye con la presión atmosférica.

2J-EST-2		Variables geográficas				
<b>REGRESIÓN</b>						
<b>MÚLTIPLE</b>						
<b>R<sup>2</sup></b>	a	b	c	d	c+	
	0,77	0,27	0,85	0,91 *	0,70	
<b>F (3, 3)</b>	0,44	0,38	5,71	10,42	2,31	
<b>P</b>	0,17	0,78	0,09	0,042	0,26	
<b>COEFICIENTES DE REGRESIÓN</b>						
<b>LATITUD</b>	-0,75	-0,62	0,99 *	1,01 *	-0,05	
<b>(P)</b>	(0,09)	(0,34)	(0,02)	(0,009)	(0,91)	
<b>LONGITUD</b>	0,57	-0,71	-0,03	1,46 *	-0,09	
<b>(P)</b>	(0,38)	(0,53)	(0,95)	(0,015)	(0,90)	
<b>ALTITUD</b>	-0,60	0,27	0,26	-1,1 *	0,89	
<b>(P)</b>	(0,32)	(0,79)	(0,58)	(0,027)	(0,22)	
2ST-EST-2		Variables geográficas				
<b>REGRESIÓN</b>						
<b>MÚLTIPLE</b>						
<b>R<sup>2</sup></b>	a	b	c	d	c+	
	0,82	0,93	0,91	0,77	0,50	
<b>F (4, 2)</b>	2,35	7,18	4,85	1,71	0,51	
<b>P</b>	0,32	0,13	0,18	0,40	0,75	
<b>COEFICIENTES DE REGRESIÓN</b>						
<b>TEMPERAT.</b>	0,67	0,46	-0,83 *	-0,54	0,29	
<b>(P)</b>	(0,14)	(0,11)	(0,042)	(0,25)	(0,64)	
<b>HUMEDAD</b>	-0,73	-0,49	1,02	1,16	-0,20	
<b>(P)</b>	(0,31)	(0,27)	(0,10)	(0,19)	(0,86)	
<b>PRESIÓN</b>	0,52	-1,7 *	0,73	0,76	-0,01	
<b>(P)</b>	(0,45)	(0,019)	(0,19)	(0,34)	(0,99)	
<b>PRECIPITAC.</b>	0,26	2,43 *	-1,9	-2,2	-0,35	
<b>(P)</b>	(0,78)	(0,018)	(0,06)	(0,11)	(0,82)	

**TABLA 4.12.b.** Regresión múltiple y coeficientes de correlación parcial sobre variables a) geográficas (arriba) y b) climáticas (abajo) de las frecuencias condicionales transformadas por  $\arcsen(p^{1/2})$ , de los alelos del locus Est-2 dentro de la ordenación 2J de *D. buzzatii*. Entre paréntesis los grados de libertad del estadístico F de la regresión múltiple y las probabilidades asociadas a los coeficientes de correlación parcial de cada variable.

2ST- Xdh		Variables geográficas			
<b>REGRESIÓN</b>					
<b>MÚLTIPLE</b>					
R <sup>2</sup>	a	b	c	d	
	0,95 *	0,004	0,06	0,90	
F (3, 3)	18,17	0,004	0,06	8,98	
P	0,02	0,999	0,98	0,052	
<b>COEFICIENTES DE</b>					
<b>REGRESIÓN</b>					
LATITUD	-0,97 *	-0,07	0,246	-0,69 *	
(P)	(0,004)	(0,93)	(0,74)	(0,04)	
LONGITUD	-0,27	-0,01	-0,04	0,95	
(P)	(0,39)	(0,99)	(0,97)	(0,07)	
ALTITUD	0,325	-0,04	0,08	-1,1 *	
(P)	(0,27)	(0,97)	(0,94)	(0,03)	
2ST- Xdh		Variables climáticas			
<b>REGRESIÓN</b>					
<b>MÚLTIPLE</b>					
R <sup>2</sup>	a	b	c	d	
	0,92	0,03	0,07	0,58	
F (4, 2)	6,10	0,02	0,04	0,70	
P	0,14	0,999	0,995	0,66	
<b>COEFICIENTES DE</b>					
<b>REGRESIÓN</b>					
TEMPERAT.	0,92 *	-0,01	-0,18	0,76	
(P)	(0,025)	(0,99)	(0,83)	(0,24)	
HUMEDAD	-0,75	-0,26	0,36	-0,39	
(P)	(0,152)	(0,86)	(0,81)	(0,70)	
PRESIÓN	-0,33	-0,24	0,245	-0,02	
(P)	(0,46)	(0,87)	(0,87)	(0,98)	
PRECIPITAC.	1,10	0,49	-0,60	0,56	
(P)	(0,14)	(0,82)	(0,77)	(0,70)	

**TABLA 4.13.a. Regresión múltiple y coeficientes de correlación parcial sobre variables a) geográficas (arriba) y b) climáticas (abajo) de las frecuencias condicionales transformadas por  $\arcsen(p^{1/4})$ , de los aloos del locus Xdh dentro de la ordenación 2ST de *D. buzzatii*. Entre paréntesis los grados de libertad del estadístico F de la regresión múltiple y las probabilidades asociadas a los coeficientes de correlación parcial de cada variable.**

2J- Xdh		Variables geográficas			
<b>REGRESIÓN</b>					
<b>MÚLTIPLE</b>					
R <sup>2</sup>	a	b	c	d	
	0,62	0,96 *	0,79	0,53	
F (3, 3)	1,60	25,08	3,66	1,13	
P	0,35	0,013	0,157	0,46	
<b>COEFICIENTES DE</b>					
<b>REGRESIÓN</b>					
LATITUD	-0,04	1,14 *	-0,95 *	-0,10	
(P)	(0,93)	(0,001)	(0,045)	(0,84)	
LONGITUD	1,46	0,52	-1,2	1,30	
(P)	(0,13)	(0,09)	(0,10)	(0,20)	
ALTITUD	1,3	-0,24	(0,96)	-1,1	
(P)	(0,128)	(0,34)	(0,13)	(0,23)	
2J- Xdh		Variables climáticas			
<b>REGRESIÓN</b>					
<b>MÚLTIPLE</b>					
R <sup>2</sup>	a	b	c	d	
	0,57	0,99 *	0,87	0,72	
F (4, 2)	0,67	67,79	3,37	2,59	
P	0,67	0,015	0,24	0,23	
<b>COEFICIENTES DE</b>					
<b>REGRESIÓN</b>					
TEMPERAT.	0,55	-0,82 *	0,35	0,90	
(P)	(0,37)	(0,001)	(0,30)	(0,06)	
HUMEDAD	0,32	1,16 *	-1,3	0,48	
(P)	(0,76)	(0,002)	(0,09)	(0,35)	
PRESIÓN	-1,2	0,44 *	0,65	-0,40	
(P)	(0,29)	(0,035)	(0,29)	(0,40)	
PRECIPITAC.	0,66	-1,8 *	0,88	-1,9	
(P)	(0,65)	(0,002)	(0,31)	(0,15)	

**TABLA 4.13.b. Regresión múltiple y coeficientes de correlación parcial sobre variables a) geográficas (arriba) y b) climáticas (abajo) de las frecuencias condicionales transformadas por arcosen(p<sup>1/4</sup>), de los alelos del locus Xdh dentro de la ordenación 2J de *D. buzzatii*. Entre paréntesis los grados de libertad del estadístico F de la regresión múltiple y las probabilidades asociadas a los coeficientes de correlación parcial de cada variable.**

El análisis de las frecuencias condicionales del locus *Xdh* muestra que las clinas observadas en las frecuencias globales se mantienen dentro de 2ST (alelos *a* y *d*; Tabla 4.13.a). En cambio, dentro de 2J al considerar las frecuencias condicionales se detectan nuevas clinas para los alelos *b* y *c* (Tabla 4.13.b). De tal modo, la variación clinal de los alelos del locus *Xdh* dentro de 2ST y 2J (Tablas 4.13.a y 4.13.b) resultan complementarias en ambas inversiones: en 2ST son los alelos *a* y *d* los que muestran variación clinal (ambos disminuyen con la latitud, *a* aumenta con la temperatura y *d* decrece con la altitud). En cambio, en 2J son los alelos *b* y *c* los que muestran correlaciones significativas con la latitud (*b* aumenta y *c* disminuye), y *Xdh<sup>b</sup>* está además fuertemente correlacionado con todas las variables climáticas analizadas (aumenta con la humedad y la presión y disminuye con la latitud y la altitud), lo que resulta en la significación de la regresión múltiple (Tabla 4.13.b).

Por último, las frecuencias condicionales de los alelos del locus *Aldox* – que a pesar de estar en desequilibrio de ligamiento con las inversiones no mostraban variación clinal de sus frecuencias en el global– no se correlacionan con ninguna de las variables ambientales analizadas.

2J- XDII		Variables geográficas			
<b>REGRESIÓN</b>					
<b>MÚLTIPLE</b>					
<b>R<sup>2</sup></b>	a+	a	b	c	
	0,38	0,16	0,04	0,28	
<b>F (3, 3)</b>	0,61	0,20	0,04	0,39	
<b>P</b>	0,65	0,89	0,99	0,77	
<b>COEFICIENTES DE</b>					
<b>REGRESIÓN</b>					
<b>LATITUD</b>	-0,57	0,14	0,02	-0,23	
<b>(P)</b>	(0,37)	(0,84)	(0,98)	(0,72)	
<b>LONGITUD</b>	-0,07	0,04	0,10	0,68	
<b>(P)</b>	(0,95)	(0,97)	(0,94)	(0,55)	
<b>ALTITUD</b>	-0,55	0,42	-0,26	-0,89	
<b>(P)</b>	(0,56)	(0,70)	(0,82)	(0,40)	
2ST- XDII		Variables climáticas			
<b>REGRESIÓN</b>					
<b>MÚLTIPLE</b>					
<b>R<sup>2</sup></b>	a+	a	b	c	
	0,53	0,32	0,06	0,42	
<b>F (4, 2)</b>	0,56	0,23	0,03	0,37	
<b>P</b>	0,72	0,90	0,997	0,82	
<b>COEFICIENTES DE</b>					
<b>REGRESIÓN</b>					
<b>TEMPERAT.</b>	0,19	0,03	0,02	0,15	
<b>(P)</b>	(0,76)	(0,97)	(0,98)	(0,82)	
<b>HUMEDAD</b>	-0,41	-0,23	0,33	-0,05	
<b>(P)</b>	(0,70)	(0,86)	(0,82)	(0,96)	
<b>PRESIÓN</b>	0,90	-0,94	0,34	1,14	
<b>(P)</b>	(0,42)	(0,48)	(0,82)	(0,37)	
<b>PRECIPITAC.</b>	0,05	0,72	-0,49	-0,86	
<b>(P)</b>	(0,98)	(0,69)	(0,82)	(0,61)	

**TABLA 4.14.a.** Regresión múltiple y coeficientes de correlación parcial sobre variables a) geográficas (arriba) y b) climáticas (abajo) de las frecuencias condicionales transformadas por  $\arcsen(p^{\frac{1}{2}})$ , de los aislos del locus *Aldex* dentro de la ordenación 2ST de *D. buzzatii*. Entra paréntesis los grados de libertad del estadístico F de la regresión múltiple y las probabilidades asociadas a los coeficientes de correlación parcial de cada variable.

2ST- XdII		Variables climáticas			
<b>REGRESIÓN</b>					
<b>MÚLTIPLE</b>					
R <sup>2</sup>	a+	a	b	c	
	0,67	0,81	0,78	0,23	
F (3, 3)	2,00	4,31	3,53	0,30	
P	0,29	0,13	0,16	0,82	
<b>COEFICIENTES DE REGRESIÓN</b>					
LATITUD	0,44	-0,85	0,85	0,032	
(P)	(0,35)	(0,051)	(0,06)	(0,96)	
LONGITUD	1,73	-1,2	1,2	-0,34	
(P)	(0,07)	(0,08)	(0,11)	(0,77)	
ALTITUD	-1,3	0,20	-0,18	-0,14	
(P)	(0,11)	(0,70)	(0,74)	(0,89)	

2ST- XdII		Variables geográficas			
<b>REGRESIÓN</b>					
<b>MÚLTIPLE</b>					
R <sup>2</sup>	a+	a	b	c	
	0,53	0,97	0,88	0,77	
F (4, 2)	0,57	13,64	3,78	1,67	
P	0,72	0,07	0,22	0,41	
<b>COEFICIENTES DE REGRESIÓN</b>					
TEMPERAT.	0,16	0,13	-0,17	0,03	
(P)	(0,79)	(0,46)	(0,57)	(0,15)	
HUMEDAD	0,90	-0,75	0,643	0,51	
(P)	(0,42)	(0,07)	(0,28)	(0,51)	
PRESIÓN	0,46	0,41	-0,36	-1,3	
(P)	(0,66)	(0,22)	(0,51)	(0,16)	
PRECIPITAC.	-1,6	1,18	-1,1	1,12	
(P)	(0,32)	(0,05)	(0,20)	(0,33)	

**TABLA 4.14.b.** Regresión múltiple y coeficientes de correlación parcial sobre variables a) geográficas (arriba) y b) climáticas (abajo) de las frecuencias condicionales transformadas por  $\arccos(p^{1/2})$ , de los alelos del locus Aldex dentro de la ordenación 2J de *D. buzzatii*. Entre paréntesis los grados de libertad del estadístico F de la regresión múltiple y las probabilidades asociadas a los coeficientes de correlación parcial de cada variable.

## 4.5. Discusión

---

LAS  
DIFERENTES  
DIFERENCIAS

---

La diferenciación entre poblaciones puede ser causada tanto por divergencia adaptativa como por la deriva génica en poblaciones entre las cuales el flujo genético es limitado. Sin embargo, en nuestro caso resulta llamativo el alto grado de diferenciación que las inversiones han mostrado respecto de los loci enzimáticos. Esto, si bien no es concluyente, sugiere que la selección podría ser responsable de la mayor estructuración poblacional observada para el polimorfismo de inversiones frente a los loci enzimáticos (Tabla 4.2). Si tanto el polimorfismo cromosómico como el aloenzimático fueran neutros, sería de esperar que el grado de diferenciación entre poblaciones para ambos tipos de marcadores no fuera significativamente diferente. Si bien no sabemos si los sistemas enzimáticos analizados son neutros, la deriva no puede explicar la diferencia, de un orden de magnitud, entre los índices de fijación observados para las ordenaciones y las enzimas.

Además, el principal componente de la variación de las frecuencias cromosómicas es el correspondiente a la diferenciación entre regiones ( $F_{RT}$ ), un patrón que es coincidente con el observado por Hasson et al. (1995) en un conjunto más numeroso de poblaciones. Esta observación, junto con las correlaciones encontradas entre las frecuencias cromosómicas y variables geográficas y climáticas sugieren que la diferenciación interpoblacional sería el resultado de la adaptación a distintas condiciones ambientales (Tabla 4.3). Más aún, las asociaciones observadas son coincidentes con los resultados descritos en Knibb et al. (1987) y Ruiz (1982), quienes también describieron variación clinal de las inversiones. En Australia, Knibb y Barker (1988) encontraron que la



frecuencia de 2ST disminuye con la latitud y aumenta con la temperatura, mientras que 2JZ<sup>3</sup> aumenta con la latitud y 2J disminuye con la temperatura, las mismas tendencias que se observan en el presente trabajo (Tabla 4.3).

La observación de patrones de variación estables y similares en distintos conjuntos de poblaciones (Hasson et al., 1995; y presente tesis), así como también la presencia de patrones de diferenciación interpoblacional paralelos en distintos continentes, apoya fuertemente nuestra hipótesis de la selección natural como mecanismo causal de la diferenciación interpoblacional en el polimorfismo cromosómico. La presencia de las mismas clinas en distintos continentes, difícilmente pueda ser explicada por deriva génica.

La presencia de patrones espaciales de los polimorfismos de inversiones ya fue observada y ampliamente documentada en distintas especies del género *Drosophila* (revisión en Krimbas y Powell, 1992a, pg. 23-26), y en particular en *D. melanogaster*, una de las especies más estudiadas, es notable la consistencia de la variación clinal de sus polimorfismos cromosómicos en distintos continentes y en ambos hemisferios (ver por ejemplo, Lemeunier y Aulard, 1992, pg.367-379). Por lo tanto, el valor adaptativo de los polimorfismos de inversiones parece ser un fenómeno común dentro del género *Drosophila*, y el polimorfismo de inversiones del cromosoma 2 de *D. buzzatii* constituye otro buen ejemplo.

En el caso de los loci enzimáticos analizados se pudieron detectar distintos patrones de diferenciación interpoblacional. El locus Lap resulta prácticamente monomórfico y las frecuencias de los alelos mayoritarios muestran escasa diferenciación entre poblaciones ( $F_{DT} \sim 0$ ).

En tanto, los restantes seis loci muestran cuatro patrones diferentes. El primero, que comprende a Est-2 y Xdh (Tabla 4.2; Fig. 4.3), se caracteriza por un grado de diferenciación interpoblacional elevado ( $F_{DR}$  0.06 - 0.07), el cual se debe fundamentalmente a la fuerte diferenciación entre regiones ( $F_{DR} < F_{RI}$ ). El segundo patrón es el que se observa para el locus Aldox (Fig. 4.2), en este caso la diferenciación total fue moderada ( $F_{DR}$  0.04), y el grado de diferenciación entre regiones semejante al intrarregional. El tercer caso comprende a Est-1 y Pep-1 (Fig. 4.3) que muestran un grado de diferenciación menor (0.01 - 0.02), principalmente debida a la heterogeneidad entre poblaciones dentro de las regiones. Por último, Pep-2 que al igual que Lap muestra escasa diferenciación (Tabla 4.2), pero a diferencia de ésta, Pep-2 es un locus altamente polimórfico (Tabla 4.1), con dos alelos en frecuencias intermedias en todas las poblaciones.

---

**LA CUESTION  
ES: ¿QUIÉN  
ES QUÉ?**

---

No es de esperar que la variación de todos los sistemas enzimáticos analizados fuera selectivamente relevante. La pregunta obvia es si alguno de los patrones observados es consecuencia del efecto de la deriva génica. Las distancias entre regiones es mucho mayor que entre poblaciones de una misma región (Fig. 3.1), y es de esperar que el flujo génico entre regiones sea menor que entre poblaciones de una misma región. Si esta fuera la situación, la diferenciación aleatoria, es decir por deriva, llevaría a que las regiones se diferencien más rápidamente entre sí que las poblaciones de una misma región. Entonces, la expectativa para un locus neutro sería un patrón jerárquico de diferenciación similar al que exhiben los loci Est-2 y Xdh. Si este fuera el caso, la moderada o escasa diferenciación exhibida por los otros marcadores podría deberse a que la selección natural, tendiente a favorecer a los mismos alelos en

distintas poblaciones, compensaría el efecto de la deriva génica. En este sentido se destacaría el caso del locus Pep-2 que exhibe un polimorfismo poco variable geográficamente.

En cambio, si las poblaciones tuvieran un origen reciente como para esperar escasa diferenciación por deriva, entonces en aquellos casos en que la diferenciación observada es elevada, ésta podría ser el resultado de regímenes de selección diferentes. Es decir que aquellos loci en los cuales  $F_{DT}$  es significativamente distinto de cero, la diferenciación sería el resultado de divergencia adaptativa. En este escenario, el caso de Pep-2 podría explicarse como el de un polimorfismo neutro cuyo bajo grado de diferenciación refleja el efecto del origen reciente y la deriva.

Sin embargo, nuestros análisis de regresión muestran correlaciones entre las frecuencias alélicas y variables geográficas y climáticas que sugieren otras alternativas. Los resultados de los análisis de regresión múltiple muestran que *Iap* y *Aldox* no muestran correlaciones significativas con las variables analizadas. En tanto que, la variación de las frecuencias de esterases, así como las peptidasas (*Pep-1* y *Pep-2*), y *Xdh* exhibieron correlaciones significativas con algunas de las variables ambientales. Por otra parte, el análisis de regresión de las frecuencias condicionales muestra que las correlaciones detectadas en *Est-2* y *Xdh* son independientes de las clinas detectadas en el polimorfismo cromosómico. Esto sugiere que los patrones fuertemente regionales observados para *Est-2* y para *Xdh*, no pueden ser explicados por efecto de arrastre de las inversiones, y podrían interpretarse como el resultado de patrones diferenciales de selección natural. En cambio, las clinas detectadas en *Est-1* pueden ser explicadas por el alto grado de desequilibrio de ligamiento con las inversiones – es el locus que presenta

mayor coeficiente de desequilibrio  $D'$  (Tabla 3.10 del Cap. 3)– aunque su patrón de diferenciación no acompaña al de las inversiones, fuertemente regional. En este sentido, cabe destacar que en Australia Knibb y Barker (1988) también encontraron asociaciones significativas entre variables ambientales y frecuencias alélicas tanto de Est-1 como de Est-2. Si bien las variables climáticas y geográficas analizadas por estos autores –salvo la latitud– son diferentes a las que nosotros estudiamos, ellos también encontraron que las clinas detectadas en Est-1 pueden ser explicadas por la variación clinal de las inversiones y que Est-2, en cambio, muestra variación clinal que no puede explicarse por el efecto de arrastre de las inversiones.

Por último, los análisis de regresión entre las frecuencias condicionales de Aldox y las variables ambientales no muestran asociaciones de alelos de este locus con las variables analizadas.

En este escenario, el grado de diferenciación debido a deriva génica sería similar al observado en Aldox, cuyo índice de fijación es intermedio y su patrón de diferenciación resulta de componentes ‘entre’ y ‘dentro’ de regiones, que son semejantes. Lo cual indicaría que el flujo genético, y por lo tanto el grado de aislamiento dentro de las regiones es comparable al que existe entre regiones. Est-1 y Pep-1 muestran patrones de diferenciación semejantes al de Aldox (Fig. 4.3), si bien el grado de diferenciación regional es menor, y puede considerarse que se trata de loci cuya diferenciación es debida fundamentalmente a procesos de deriva.

Por otra parte, el locus Pep-2 presenta un polimorfismo con frecuencias muy conservadas en todas las poblaciones, y sin embargo las frecuencias alélicas se correlacionan con variables ambientales. Esto que

puede parecer una contradicción, no lo es si recordamos que el grado de diferenciación, estimado por el estadístico  $F$ , es relativo a la diferenciación máxima dadas las frecuencias alélicas del locus. Que  $F_{DT}$  resulte no significativamente diferente de cero, indica que dadas las frecuencias alélicas, el grado de diferenciación alcanzado es despreciable. La significación de las regresiones múltiples de los distintos alelos de Pep-2 sugiere que las frecuencias alélicas de este locus varían alrededor de ciertos valores, pero clinalmente con las variables ambientales, de modo que, aparentemente, estamos frente a un polimorfismo mantenido selectivamente, quizás por equilibrio heterótico, y la variabilidad dentro de las poblaciones estaría siendo conservada adaptativamente, resultando en un polimorfismo altamente conservado.

---

L A S  
D I F E R E N T E S  
I N V E R S I O N E S

---

Los valores de  $F_{CD}$  significativamente diferentes de cero indican, además, un grado de asociación genética significativa entre los marcadores en cuestión y las inversiones. Esto podría ser explicado por el desequilibrio gamético que se ha detectado en estas poblaciones entre estos marcadores y las ordenaciones (Cap. 3). Lo que no es tan evidente es por qué los valores de  $F_{CD}$  de Est-2 y Xdh son más altos que para Est-1, cuando éste es el locus que más desequilibrio gamético muestra con las inversiones (ver los valores de  $D'$  en Tabla 3.10). El tratamiento de los datos para el análisis de estructuración poblacional difiere del de los haplotipos. En este caso se considera el genotipo de los individuos portadores de una ordenación, desconociendo la fase haploide. Es así que al valor de  $F_{CD}$  contribuyen tanto las asociaciones gaméticas de loci enzimáticos con inversiones como las asociaciones no gaméticas, es decir asociaciones en estado diploide debidas a desviaciones de la panmixia entre ciertos alelos de un locus enzimático y una ordenación.

De acuerdo con los valores de  $F_{DR}$  y  $F_{RT}$  y los coeficientes de regresión múltiple, Est-2 y Xdh son marcadores que tendrían un patrón de selección regional, semejante al del polimorfismo cromosómico aunque de menor intensidad. El patrón de diferenciación regional en estos casos es el resultado de diferencias en las frecuencias alélicas, que varían siguiendo un patrón similar al de las ordenaciones. Esta heterogeneidad en las frecuencias de ambos marcadores podría ocasionar una distorsión en el patrón de apareamiento respecto de la panmixia entre los alelos de ambos sistemas en el total de las poblaciones. Es así que la asociación observada entre Xdh y Est-2 y los individuos portadores de una dada ordenación ( $F_{CD}$ ), resulta mayor incluso al de los loci comprometidos en los segmentos invertidos (Est-1 y Aldox).



## Conclusiones

*Los distintos aspectos de un tema deben ser integrados para poder entender el resultado global que observamos..*

A partir de los resultados descritos en los capítulos precedentes, podemos intentar componer un panorama más integral acerca de las causas del valor adaptativo de las inversiones.

### 5.1. Resumiendo nuestros resultados

---

DEL  
CAPÍTULO 2

---

1. Los individuos de mayor tamaño tienen mayor probabilidad de supervivencia.
  2. Existe un *trade-off* entre la longevidad y componentes tempranos de la aptitud, de modo que el tamaño permanece constante en la población.
  3. En promedio, los individuos portadores de las ordenaciones derivadas  $2J$  y  $2JZ^3$  son genéticamente más grandes que los portadores de la ordenación  $2ST$ .
-



## CONCLUSIONES

4. La variación clinal de las inversiones con la latitud podría estar relacionada con procesos de selección demográfica, debido al *trade-off* que existiría entre componentes tempranos y tardíos de la aptitud de los individuos con diferentes cariotipos.
5. Existen diferencias entre sexos, tanto en el componente cariotípico de la varianza del tamaño corporal, como en los patrones de selección de las inversiones.
6. La mayor longevidad de los individuos de mayor tamaño corporal es suficiente para explicar la longevidad diferencial de las hembras portadoras de distintas inversiones.
7. Las inversiones cromosómicas presentarían diferentes alelos en loci de caracteres cuantitativos (QTLs).
8. Las inversiones cromosómicas muestran las mismas asociaciones con alelos de loci enzimáticos en las distintas regiones.
9. Los cromosomas 2S1 se diferencian de los cromosomas 2J y 2JZ<sup>3</sup> principalmente por el contenido genético de los loci Est-1 y Aldox, ubicados dentro del segmento invertido.
10. El polimorfismo de inversiones sería de origen relativamente reciente o habría atravesado por un cuello de botella reciente.

---

DEL

CAPÍTULO 3

---

## CONCLUSIONES

11. De acuerdo a la posición que ocuparon los cromosomas portadores de las tres ordenaciones más frecuentes en los fenogramas, Arroyo Escobar puede ser considerada una población con características marginales.
12. Los cromosomas 2J (y a partir de uno de ellos, 2JZ<sup>3</sup>) se habrían originado por inversión de un cromosoma 2ST portador de los siguientes alelos: Est-1<sup>b</sup> – Est-2<sup>c</sup> – Aldox<sup>a</sup> – Xdh<sup>b</sup>.
13. Pep-1 podría estar localizado en la región comprometida en la inversión 2JZ<sup>3</sup>.
14. Cada inversión es una familia de supergenes que recombinan en los homocigotas estructurales.
15. Existe desequilibrio gamético entre el locus Xdh y las inversiones, el cual no puede ser explicado por ligamiento físico entre ellos, sino más bien por interacción entre Xdh y algún marcador (o varios) localizado(s) dentro de las inversiones.
16. El desequilibrio gamético entre loci enzimáticos puede explicarse por deriva de gametas dentro de las poblaciones.
17. Los desequilibrios observados por otros autores en poblaciones colonizadas de España y Australia, son coincidentes con los observados en las poblaciones de Argentina analizadas, y por lo tanto aquellos no se deberían a un efecto fundador.

18. El polimorfismo de inversiones muestra mayor diferenciación interpoblacional que los polimorfismos aloenzimáticos, debido a selección natural, que determina patrones regionales de diferenciación.
19. En los polimorfismos de inversiones se pueden reconocer cuatro patrones de diferenciación:
- – Aldox: polimorfismo neutro con patrones de diferenciación debido fundamentalmente a procesos de deriva.
  - – Est-1 y Pep-1: polimorfismos con patrones de diferenciación principalmente intrarregional que, aunque existen efectos de hitchhiking en Est-1 y ambientales en Pep-1, pueden ser explicados por procesos de deriva.
  - – Est-2 y Xdh: polimorfismos con patrones de diferenciación regional debido a diferentes regímenes de selección en distintos ambientes.
  - – Pep-2: polimorfismo altamente conservado.
20. Las variaciones clinales de las enzimas asociadas a las inversiones pueden ser explicadas como resultado del efecto de arrastre de éstas en es el caso de Est-1, en tanto que en los loci Est-2 y Xdh son independientes de las clinas de las inversiones.
21. Los coeficientes de diferenciación entre cromosomas revelan que además de los desequilibrios de ligamiento detectados, existen asociaciones entre las inversiones y ciertos alelos tanto de Est-2

como de Xdh en estado diploide, que surgirían como consecuencia de los patrones regionales de diferenciación que muestran, tanto las inversiones como estos marcadores.

## 5.2. Relacionando algunos resultados

---

TAMAÑOS  
CORPORALES  
EN  
DESEQUILIBRIO

---

Como hemos planteado en el capítulo 2, la mayor longevidad de los individuos de mayor tamaño, y la relación de las inversiones con este carácter, son suficientes para explicar la mayor longevidad de las hembras portadoras de las ordenaciones derivadas 2J y 2JZ<sup>3</sup>. Esto implica que existirían loci de este carácter cuantitativo en desequilibrio de ligamiento con las inversiones, quizás por estar localizados en los segmentos invertidos, y cuyos contenidos genéticos diferenciarían a las inversiones. Al respecto, los resultados presentados en el capítulo 3 sugieren que las inversiones, por su origen relativamente reciente, difieren en el contenido genético del segmento involucrado, y por lo tanto es de esperar que loci de caracteres cuantitativos asociados a las inversiones del cromosoma dos también presenten diferencias. Éstas diferencias en contenido genético muestran ser más profundas cuando se compara la ordenación ancestral con las derivadas, lo cual también es consistente con los efectos detectados sobre el tamaño (los individuos portadores de 2J y 2JZ<sup>3</sup> son en promedio de mayor tamaño, a diferencia de los portadores de 2S1).

A diferencia de los loci enzimáticos, los loci de caracteres cuantitativos que afectan al tamaño corporal presentan no sólo

diferencias entre sexos, sino que éstas conducen a diferencias en los patrones selectivos de las inversiones en ambos sexos.

Otro aspecto a considerar es que desde el origen de las inversiones la recombinación, tanto por dobles entrecruzamientos como por conversión génica en los heterocigotas estructurales, no habría sido suficiente para disminuir el desequilibrio gamético original (Cap.3). De allí que los desequilibrios observados en el área de distribución original y en las poblaciones colonizadas sean semejantes. Al respecto cabe señalar que si se consideran tasas de dobles entrecruzamientos de  $10^{-4}$  por generación (de acuerdo a las estimadas para la inversión In(3L) de *D. melanogaster* por Payne, 1924) y considerando un desequilibrio gamético absoluto como situación inicial en el origen de las inversiones ( $D'_0 = 1$ ), de acuerdo a Hedrick et al. (1978), si  $D' = D'_0 (1 - 10^{-4})^t$ , resulta  $t = \ln D' / \ln (1 - 10^{-4})$ . A partir de los coeficientes de desequilibrio gamético estimados en el capítulo 3, el número de generaciones transcurridas desde el origen de la inversión 2J sería de alrededor de 17.000, y desde el origen de 2JZ<sup>3</sup> habrían transcurrido aproximadamente 10.000 generaciones. Estas estimaciones son muy imprecisas, pero ubicarían el origen de las inversiones, o el cuello de botella por el que habría pasado la especie, en un período de tiempo muy reciente: hace menos de 4.000 años, si consideramos más de cinco generaciones por año.

Por otra parte, se estima que la última glaciación que afectó al área de distribución tuvo lugar hace entre 13.000 y 18.000 años (Ab'Saber, 1977). Si suponemos que esto significó un cuello de botella para la especie y tomamos este período como el tiempo de divergencia entre

## CONCLUSIONES

inversiones, puede estimarse la tasa de dobles entrecruzamientos  $C$  como:

$C = 1 - e^{-\ln D/t}$ , donde  $t$  es el número de generaciones transcurridas en este período de tiempo. Si el número de generaciones por año oscila entre 5 y 10, el valor de  $t$  estará entre 65.000 y 180.000. Por lo tanto, el valor de  $C$  estará entre  $2,5 \times 10^{-5}$  y  $9,5 \times 10^{-6}$  para la inversión 2J y entre  $1,5 \times 10^{-5}$  y  $5 \times 10^{-6}$  para 2JZ<sup>3</sup>.

---

JÓVENES  
PERO  
PLEIOTRÓPI-  
COS

---

La estimación de la frecuencia de dobles entrecruzamientos en heterocigotas estructurales de *D. buzzatii* y la utilización de técnicas moleculares para la estimación de los tiempos de divergencia entre ordenaciones (Rozas y Aguadé, 1994; Hasson y Eanes, 1996), permitirán en un futuro, considerar estas alternativas. Sin embargo, en cualquier caso, se pone de relieve lo relativamente corto que resulta, el período de tiempo transcurrido, con lo cual el alto grado de diferenciación en las frecuencias cromosómicas cobra mayor significación y apunta a fuerzas selectivas muy intensas sobre las inversiones. Estas consideraciones son consistentes con las estimaciones del grado de diferenciación en los loci enzimáticos Est-2 y Xdh que muestran que éste es muy inferior al alcanzado por las inversiones, a pesar de tratarse de loci cuya diferenciación es selectiva. Las inversiones, por tratarse de sistemas multi-loci, pueden presentar efectos pleiotrópicos que posibilitan que la selección natural opere de manera más intensa. Estos efectos pleiotrópicos involucrarían también a los loci de caracteres cuantitativos asociados a ellas, y resultarían en efectos antagónicos sobre el valor adaptativo a lo largo del ciclo de vida, resultando en el mantenimiento del polimorfismo (Hasson et al., 1991) y la constancia en el tamaño corporal medio de las moscas en la población (Hasson et al., 1991), a

## **CONCLUSIONES**

pesar de existir selección direccional por viabilidad de los adultos a favor de las ordenaciones derivadas y hacia tamaños mayores.

# Apéndice 3a

## Técnicas electroforéticas

*La metodología utilizada para la preparación de la muestra, la preparación de los geles y el revelado de los mismos fue puesta a punto por la autora a partir de lo descrito por Barker y Mzully (1976), Barker et al. (1986) y Sánchez (1986).*

### A.1. Dispositivo de la corrida

Para realizar la corrida electroforética es preciso montar un dispositivo de modo que el soporte donde se siembran las muestras, en este caso el gel de almidón, quede expuesto al pasaje de corriente. El dispositivo consiste en una placa de metacrilato de 450 x 170 x 15 mm provista de dos tiras longitudinales de 450 x 35 x 5 mm, de modo que queda un molde de 450 x 100 x 5 mm. En esta placa, se volcará el gel, previa colocación de topes de metacrilato de 15 x 100 x 10 mm en los extremos, luego de gelificado el soporte se podrán retirar los topes quedando el gel de almidón de 420 x 100 x 5 mm sobre la placa (Fig. A.1).

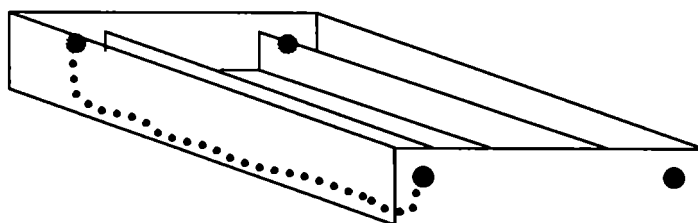
Esta placa se coloca en una cubeta de metacrilato que consiste en un recipiente de 500 x 250 x 70 mm, dividido en tres compartimentos: uno central de 500 x 150 x 70 mm y dos marginales de 500 x 50 x 70 mm. En los compartimentos de los lados se instalan los electrodos (filamentos de



platinos conectados a fichas eléctricas que permiten la conexión con la fuente de poder) y serán los recipientes del tampón de corrida. El compartimento central servirá para contener refrigerantes sobre los cuales se coloca la placa con el gel, para evitar recalentamientos locales debidos al pasaje de corriente. Toallas de fibra sumergidas por un extremo en el tampón de cada electrodo, y en contacto con el gel por el otro extremo, actúan como puente entre el gel y el tampón y posibilitan el pasaje de corriente a través del gel.



Plancha de metacrilato, con topes móviles en los extremos sobre la cual se vierte el gel de almidón.



Cubeta de tres compartimentos. En los compartimentos externos con fichas para conectar la fuente de poder se coloca el tampón de corrida, en el compartimento central se colocan los refrigerantes y sobre ellos se ubica la plancha con el gel.

**FIGURA A.1. Dispositivos para la corrida. La plancha de metacrilato se coloca sobre los tabiques internos de la cubeta, y toallas de fibra en contacto con el gel y el tampón de los electrodos, sirven de puente, posibilitando el paso de corriente.**

## A.2. Metodología

*Empiezo a creer que el secreto no está en el método; si no en tener alguno...*

### La preparación de los geles

Para la preparación de los geles se utilizó almidón de papa hidrolizado Sigma a una concentración del 9% (27 g / 300 ml de tampón de gel correspondiente para el sistema a analizar)

Se suspende el almidón en el tampón en un Erlenmeyer Pyrex (de 1000 ml para 300 ml de tampón) y se calienta directamente sobre mechero, agitando permanentemente para que el calentamiento de la suspensión sea homogéneo. Se calienta hasta que la suspensión cambia de consistencia (justo antes de la ebullición), momento en el cual se retira del fuego y se procede a degasificar inmediatamente en bomba de vacío hasta que de la preparación se liberan burbujas de gran tamaño en forma regular (esto ocurre luego de aproximadamente un minuto de vacío). A continuación se vierte rápidamente en la placa de metacrilato, de modo de lograr que la preparación se extienda en forma regular a lo largo de ésta para lograr que el gel resulte de grosor homogéneo.

Una vez gelificado (luego de al menos una hora del volcado), se realizan 44 ranuras de 3 mm de ancho a un par de centímetros de uno de los bordes del gel.

### La preparación de la muestra

Para realizar el homogenato de los individuos se contó con placas de material plástico provistas de celdas de 7mm de diámetro. Estas placas se colocan en recipientes con agua y se congelan, de modo que queden sostenidas en hielo, y así obtener una adecuada refrigeración durante todo el proceso de preparación del homogenato. En cada uno de las celdas de la plancha se colocan dos gotas, unos 60 µl de tampón de

---

Y OTRA VEZ A  
LA COCINA...

---



---

APLASTAMOS  
MOSCAS,  
PERO CON  
ESTILO...

---

extracción (Iris-clorhídrico 0,1M pH:7), y los individuos (adultos en nuestro caso). Con la ayuda de una varilla de vidrio conectada a un rotor se realiza el homogenato de cada individuo.

Con el volumen de tampón de extracción utilizado, es posible empapar hasta tres papeles Whatmann 6MM de 6 x 3 mm. Se colocan dos papelitos en cada celda, de modo de poder correr dos geles simultáneamente.

### La siembra y la corrida

Los papelitos impregnados de muestras se colocan en las ranuras realizadas con anterioridad en el gel. Habiendo 44 ranuras, es posible correr 36 muestras y 8 controles en cada gel.

La placa con la muestra se coloca en la cubeta, donde previamente se ha colocado el tampón de corrida y los refrigerantes, las toallas de fibra se colocan de modo que cubran los extremos del gel (aproximadamente 2cm de cada lado) y caigan sumergiéndose en los tampones de los electrodos. Se cubre con una lámina de Saram y un vidrio que evita que se muevan las toallas.

Los dispositivos listos se ubican dentro de una heladera para mantener la temperatura a 4°C durante toda la corrida, y mediante cables con fichas se conectan a las fuentes de poder.

## A.3. Geles, tampones y soluciones de tinción

*Para tortas, las recetas de la abuela. Para electroforesis, las recetas de Barker. Después, como con las tortas, el toque personal.*

Se utilizaron dos sistemas de corrida, ya que con dos geles fue posible revelar los 7 sistemas enzimáticos. De uno de ellos se utilizaron dos cortes, en uno se reveló Xdh y en el otro Pep-1 y Pep-2.

Del otro gel se utilizaron tres cortes, el primero para Lap, el segundo para Aldox y el último para Est-1 y Est-2.

### Geles y tampones de corrida

---

LAS RECETAS

---

#### ZOUROS : utilizado para Lap, Aldox y Esterasas

##### *Solución A : TC, pH: 8,6*

2,940 g de Ácido cítrico monohidrato (0,007 M)  
12,114 g de Tris (0,050 M)  
2,000 l de agua destilada

##### *Solución B : Borato-Li, pH: 8,5*

94,000 g de Ácido bórico (0,760 M)  
17,204 g de LiOH·H<sub>2</sub>O (0,205 M)  
2,000 l de agua destilada

##### *Gel: 9 A + 1 B + 9% de almidón*

( 315 ml de A + 35 ml de B + 31,5 g de almidón)

##### *Electrodo: 1 B + 3 H<sub>2</sub>O*

( 200 ml de B + 600 ml de H<sub>2</sub>O por electrodo)

#### TRIS-BÓRICO-EDTA (utilizado para Xdh y Peptidasas)

##### *TBE, pH: 8,6*

43,600 g de Tris (0,180 M)  
12,360 g de Ácido bórico (0,100 M)  
2,980 g de EDTA-Na (0,004 M)  
2,000 l de agua destilada

**Gel:** 1 TBE + 4 H<sub>2</sub>O + 9% de almidón

(60 ml de TBE + 240 ml de H<sub>2</sub>O + 27 g de almidón)

**Electrodo:** TBE

(750 ml de TBE)

### **Soluciones de tinción**

#### **ALDOX:**

Tampón DH: Tris – HCl ; pH: 8,6

20,186 g de tris

3 l de agua destilada

HCl hasta ajustar pH

#### **XDH:**

Tampón DH: Tris – HCl ; pH: 7,5

6,055 g de tris

1 l de agua destilada

HCl hasta ajustar pH

#### **LAP:**

**Solución A - pH: 3,5**

16,0 g de NaOH

39,2 g de Anhídrido maleico

2,0 l de agua destilada

**Solución B - pH: 13,5**

12,8 g de NaOH

1,0 l de agua destilada

**PEP:**

***Tampón – pH:7,6***

1 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$   
100 ml de agua destilada

***Solución 1:*** Disolver en 15 ml de tampón de tinción de Pep

12 mg de L-leucil-Ltirosina  
6 mg de *Snake Venom*  
12 mg de Peroxidasa

***Solución 2:*** Disolver en 1,7 ml de N-N-dimetilformamida

15 mg de 3-amino-N-etil-carbazol

**ESTERASAS:**

***Tampón fosfato 0,1 M – pH: 6,5***

27,217 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0,2 M)  
14,194 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (0,1 M)  
2 l de agua destilada

***Solución ANA :***

Disolver 20 mg de  $\alpha$ - y 20 mg de  $\beta$ - naftilacetato en 0,5 ml de acetona,  
añadir 0,5 ml de agua destilada y agitar

## A.4. Sistemas enzimáticos

---

FICHAS  
TÉCNICAS

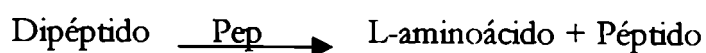
---

**Peptidasas****Pep-1 Pep-2**

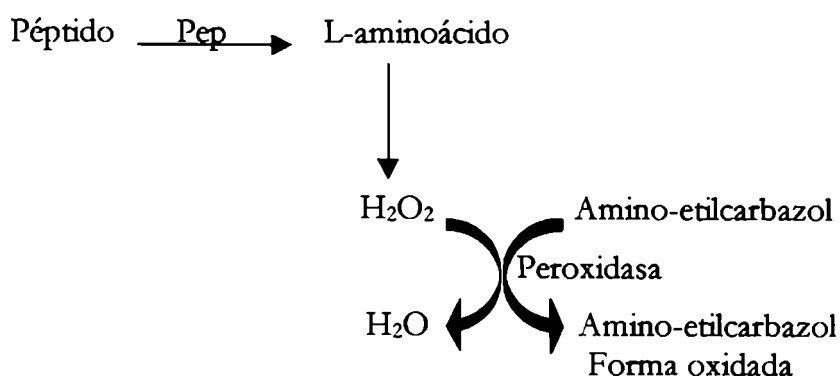
ESTRUCTURA: Dimérica

LOCALIZACIÓN: Cromosoma 2

FUNCIÓN ENZIMÁTICA:



SISTEMA DE TINCIÓN:



ELECTROFORESIS:

GEL: 50 ml de tampón TBE

240 ml H<sub>2</sub>O

27 g de almidón

ELECTRODO: 750 ml/electrodo TBE

CONDICIONES: 100 V hasta 6cm de frente (4 hs. aprox.)

TINCIÓN: La tinción se realiza en sobregel de agar:

Disolver 120 mg de agar en 15 ml de tampón de tinción.

Calentar agitando hasta ebullición.

Enfriar el agar hasta 45°C y añadir **agitando** las soluciones 1 y 2.

Incubar a 37°C hasta aparición de bandas (de 30 a 60 min.)



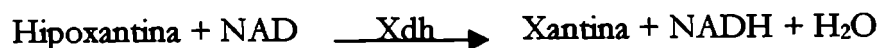
## Xantín deshidrogenasa

### Xdh-1

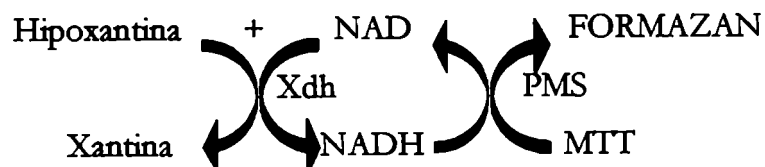
ESTRUCTURA: Dimérica

LOCALIZACIÓN: Cromosoma 2

FUNCIÓN ENZIMÁTICA:



SISTEMA DE TINCIÓN:



ELECTROFORESIS:

GEL: 50 ml de tampón TBE  
240 ml H<sub>2</sub>O  
27 g de almidón

ELECTRODO: 750 ml/electrodo TBE

CONDICIONES: 100 V hasta 6cm de frente (4 hs. aprox.)

TINCIÓN:

100 ml de tampón de tinción Tris-HCl pH 7,5

100 mg Hipoxantina

Calentar hasta ebullición y dejar enfriar.

Agregar:

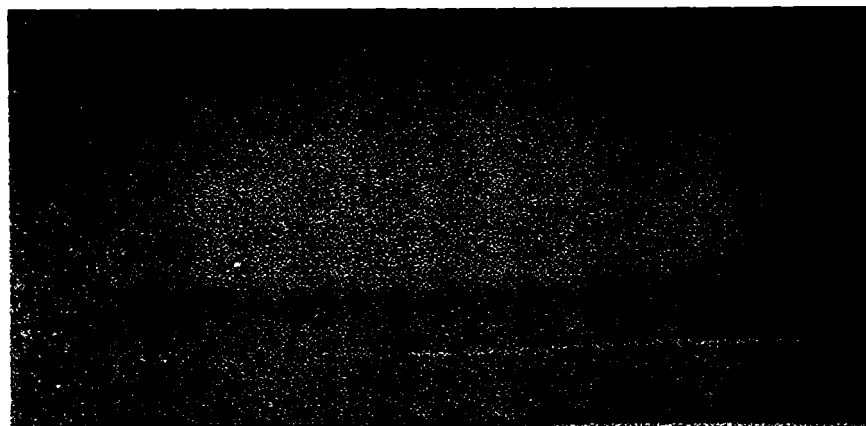
20 mg de MTT

25 mg de β-NAD

15 mg de KCl

1 mg de PMS (al final y en ausencia de luz)

Incubar a 37°C hasta aparición de bandas (aprox. 2 hs)





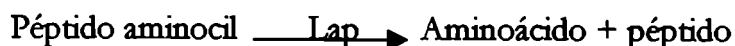
## Leucin Aminopeptidasa

### Lap-1

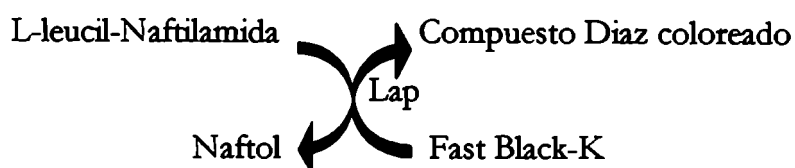
ESTRUCTURA: Monomérica

LOCALIZACIÓN: Cromosoma 2

FUNCIÓN ENZIMÁTICA:



SISTEMA DE TINCIÓN:



ELECTROFORESIS:

GEL: 315 ml de tampón Zouros A

35 ml de tampón Zouros B

31,5 g de almidón

ELECTRODO: (200 ml Zouros B + 600 ml H<sub>2</sub>O)/electrodo

CONDICIONES: 120 V hasta 6cm de frente (de 5a 6 hs)

TINCIÓN: Sumergir los geles durante 15' en ácido bórico 0,5 M previo a la tinción.

Retirar el bórico y agregar la solución de tinción:

50 ml de tampón de tinción LAP-A

10 ml de tampón de tinción LAP-B

40 ml de H<sub>2</sub>O

70 mg de L-leucil-naftilamida en 1 ml de metanol al 10%

30 mg de Fast Black K, al final y en ausencia de luz

Incubar a 37°C hasta aparición de bandas (aprox. 2 hs)



## **Aldehído oxidasa**

### **Aldox-1**

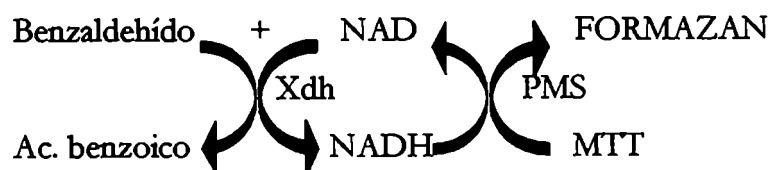
ESTRUCTURA: Dimérica

LOCALIZACIÓN: Cromosoma 2

FUNCIÓN ENZIMÁTICA:



SISTEMA DE TINCIÓN:



ELECTROFORESIS:

GEL: 315 ml de tampón Zouros A

35 ml de tampón Zouros B

31,5 g de almidón

ELECTRODO: (200 ml Zouros B + 600 ml H<sub>2</sub>O)/electrodo

CONDICIONES: 120 V hasta 6 cm de frente (de 5 a 6 hs)

TINCIÓN:

100 ml de tampón de tinción Tris-HCl pH 8,6

2,5 ml de Benzaldehído

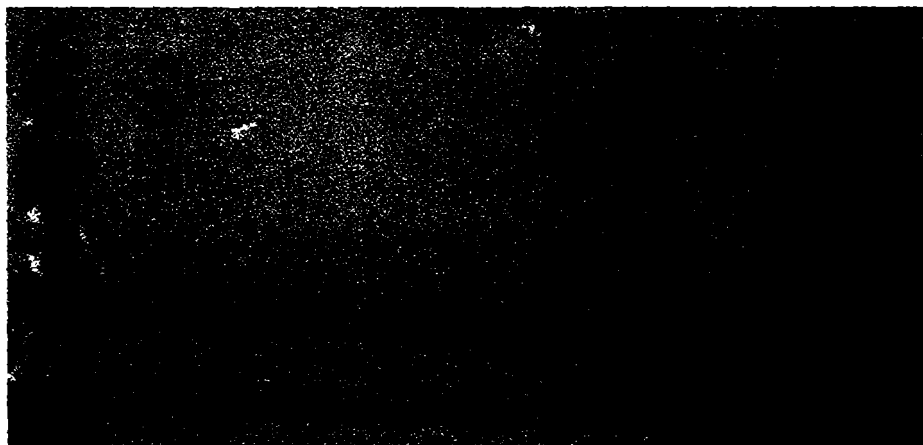
15 mg de β-NAD

30 mg de MTT

5 mg de PMS (al final y en ausencia de luz)

Incubar a 37°C hasta aparición de bandas (aprox. 2 hs).

Evitar la incubación junto a otros geles o sin tapar, los vapores de benzaldehído pueden actuar como sustrato en otros geles donde estén revelando deshidrogenasas)



## Esterasas

**Est-1 Est-2**

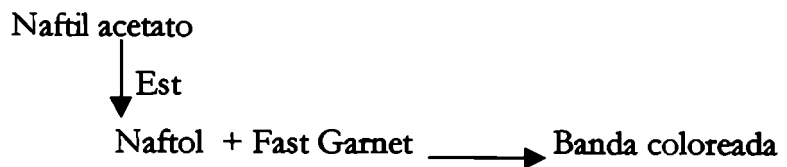
ESTRUCTURA: Monoméricas

LOCALIZACIÓN: Cromosoma 2

FUNCIÓN ENZIMÁTICA:



SISTEMA DE TINCIÓN:



ELECTROFORESIS:

GEL: 315 ml de tampón Zouros A  
35 ml de tampón Zouros B  
31,5 g de almidón

ELECTRODO: (200 ml Zouros B + 600 ml H<sub>2</sub>O)/electrodo

CONDICIONES: 120 V hasta 6 cm de frente (de 5 a 6 hs)

TINCIÓN: Sumergir los geles durante 15' en ácido bórico 0,5 M previo a la tinción.

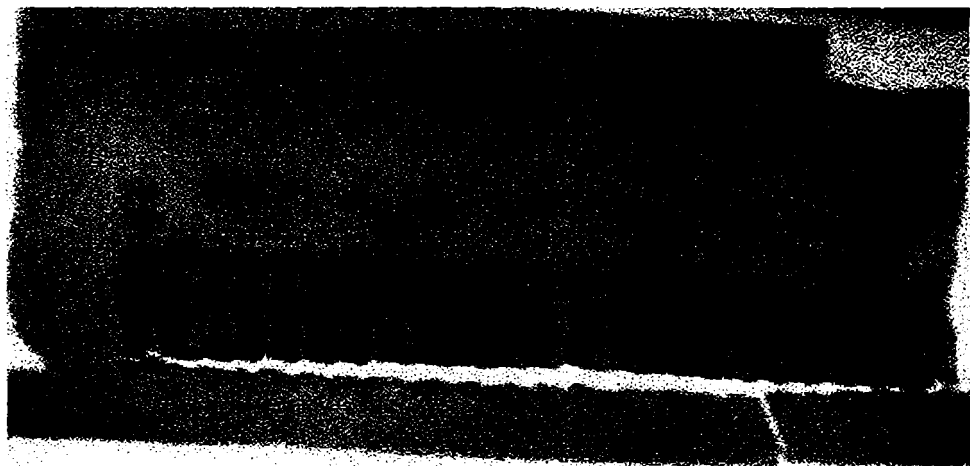
Retirar el bórico y agregar la solución de tinción:

100 ml de tampón de tinción Fosfato 0,1 M

2 ml de solución ANA

60 mg de Fast-Garnet GBC en 10 ml de n-propanol

Incubar a 37°C hasta aparición de bandas (aprox. 2 hs)



# Apéndice 3b

## **Coeficientes de desequilibrio gamético entre alelos de distintos loci enzimáticos**

*Se presentan solo los valores de los coeficientes de desequilibrio gamético que resultaron significativos*

### **A.1. Desequilibrios en el global**

#### **Global**

	D	D'	P
<b>Est-1 – Est-2</b>			
<b>c – c</b>	0,01	0,08	0,02
<b>Est-1 – Lap</b>			
<b>b – b</b>	0,01	0,18	0,00
<b>b – c</b>	- 0,01	- 0,23	0,00
<b>c – c</b>	0,01	0,11	0,02

---

**COEFICIENTES DE DESEQUILIBRIO GAMÉTICO**

	<b>D</b>	<b>D'</b>	<b>P</b>
<b>Lap – Aldox</b>			
<b>b – a</b>	0,01	0,16	0,00
<b>b – b</b>	- 0,01	- 0,05	0,01
<b>c – a</b>	- 0,02	- 0,29	0,00
<b>c – b</b>	0,01	0,23	0,00
<b>c – c</b>	0,00	0,13	0,04
<b>Est-1 – Pep-1</b>			
<b>c – b</b>	- 0,01	- 0,06	0,03
<b>c – c</b>	0,01	0,11	0,01
<b>Est-2 – Pep-1</b>			
<b>a – c</b>	- 0,01	- 0,33	0,03
<b>b – b</b>	0,01	0,16	0,04
<b>c – b</b>	- 0,02	- 0,10	0,00
<b>c – c</b>	0,01	0,18	0,00
<b>Lap – Pep-1</b>			
<b>a – c</b>	0,00	- 0,80	0,05
<b>c – b</b>	- 0,01	- 0,13	0,01
<b>c – c</b>	0,00	0,07	0,05
<b>Lap – Pep-2</b>			
<b>a – a</b>	0,01	0,31	0,01
<b>a – b</b>	- 0,01	- 0,27	0,03
<b>b – a</b>	- 0,01	- 0,03	0,01
<b>b – b</b>	0,01	0,21	0,00
<b>Aldox – Pep-2</b>			
<b>a – a</b>	- 0,01	- 0,05	0,04
<b>a – b</b>	0,02	0,10	0,03

**COEFICIENTES DE DESEQUILIBRIO GAMÉTICO**

	<b>D</b>	<b>D'</b>	<b>P</b>
<b>Pep-1 – Pep-2</b>			
<b>b – b</b>	0,01	0,13	0,03
<b>b – c</b>	- 0,01	- 0,21	0,00
<b>c – c</b>	0,01	0,24	0,00
<b>Est-1 – Xdh</b>			
<b>b – b</b>	0,02	0,10	0,01
<b>b – c</b>	- 0,02	- 0,10	0,00
<b>c – b</b>	- 0,01	- 0,12	0,04
<b>c – c</b>	0,01	0,10	0,04
<b>Est-2 – Xdh</b>			
<b>c – b</b>	0,02	0,26	0,01
<b>c – c</b>	- 0,02	- 0,30	0,01
<b>Lap – Xdh</b>			
<b>b – b</b>	0,01	0,17	0,01
<b>b – c</b>	- 0,01	- 0,04	0,04
<b>c – b</b>	- 0,01	- 0,18	0,04
<b>Aldox – Xdh</b>			
<b>a – b</b>	0,04	0,23	0,00
<b>a – c</b>	- 0,04	- 0,18	0,00
<b>b – a</b>	- 0,01	- 0,67	0,01
<b>b – b</b>	- 0,04	0,27	0,00
<b>b – c</b>	0,04	- 0,27	0,00
<b>c – b</b>	0,00	- 0,37	0,05
<b>Pep-1 – Xdh</b>			
<b>a – a</b>	0,01	0,13	0,00

**COEFICIENTES DE DESEQUILIBRIO GAMÉTICO**

	<b>D</b>	<b>D'</b>	<b>P</b>
<b>Pep-2 – Xdh</b>			
<b>a – b</b>	- 0,02	- 0,08	0,01
<b>a – c</b>	0,02	0,09	0,03
<b>c – b</b>	0,01	0,44	0,04
<b>c – c</b>	- 0,01	- 0,60	0,02

**2ST Global**

	<b>D</b>	<b>D'</b>	<b>P</b>
<b>Est-1 – Aldox</b>			
<b>c – b</b>	0,03	0,25	0,01
<b>Est-2 – Aldox</b>			
<b>a – c</b>	0,01	1,00	0,01
<b>Lap – Aldox</b>			
<b>b – a</b>	0,03	0,37	0,00
<b>c – a</b>	- 0,03	- 0,54	0,00
<b>c – c</b>	0,01	0,35	0,01
<b>Lap – Pep-1</b>			
<b>a – a</b>	0,01	0,25	0,00
<b>b – a</b>	- 0,02	- 0,25	0,01
<b>c – d</b>	0,00	0,45	0,03
<b>Aldox – Pep-1</b>			
<b>c – d</b>	0,00	0,49	0,00
<b>Est-1 – Pep-2</b>			
<b>c – c</b>	0,01	0,41	0,05
<b>Lap – Pep-2</b>			
<b>a – a</b>	0,02	0,48	0,03

**COEFICIENTES DE DESEQUILIBRIO GAMÉTICO**

	<b>D</b>	<b>D'</b>	<b>P</b>
<b>Aldox – Pep-2</b>			
<b>b – c</b>	0,01	0,66	0,03
<b>Est-2 – Xdh</b>			
<b>a – c</b>	0,03	0,15	0,05
<b>b – a</b>	0,02	0,51	0,02
<b>b – c</b>	- 0,04	- 0,23	0,02
<b>Lap – Xdh</b>			
<b>b – b</b>	0,03	0,45	0,01
<b>b – c</b>	- 0,02	- 0,07	0,04
<b>c – b</b>	- 0,02	- 0,51	0,03
<b>c – d</b>	0,01	0,22	0,05
<b>Aldox – Xdh</b>			
<b>a – b</b>	0,04	0,22	0,03
<b>c – d</b>	0,01	0,59	0,00
<b>d – a</b>	0,01	0,25	0,00
<b>Pep-2 – Xdh</b>			
<b>a – b</b>	- 0,04	- 0,18	0,04
<b>c – d</b>	0,00	0,22	0,02

**2J Global**

	<b>D</b>	<b>D'</b>	<b>P</b>
<b>Est-1 – Est-2</b>			
<b>b – c</b>	- 0,03	- 0,13	0,03
<b>c – b</b>	- 0,02	- 0,30	0,05
<b>c – c</b>	0,03	0,20	0,01
<b>Est-1 – Lap</b>			
<b>c – c</b>	0,01	0,24	0,01



**COEFICIENTES DE DESEQUILIBRIO GAMÉTICO**

	<b>D</b>	<b>D'</b>	<b>P</b>
<b>Est-1 – Aldox</b>			
<b>d – b</b>	0,00	1,00	0,03
<b>Lap – Aldox</b>			
<b>c – b</b>	0,01	0,21	0,03
<b>Pep-1 – Pep-2</b>			
<b>b – c</b>	- 0,01	- 0,21	0,05
<b>c – c</b>	0,01	0,21	0,00
<b>c – a</b>	- 0,02	- 0,47	0,04
<b>Est-2 – Xdh</b>			
<b>c – b</b>	0,03	0,46	0,05
<b>Aldox – Xdh</b>			
<b>a – c</b>	- 0,03	- 0,15	0,02
<b>b – c</b>	0,03	0,23	0,01
<b>c – c</b>	0,01	1,00	0,01
<b>Pep-1 – Xdh</b>			
<b>a – a</b>	0,02	0,28	0,00
<b>b – a</b>	- 0,01	- 0,23	0,05

**2JZ<sup>3</sup> Global**

	<b>D</b>	<b>D'</b>	<b>P</b>
<b>Est-1 – Lap</b>			
<b>a – a</b>	0,01	0,48	0,00
<b>a – b</b>	- 0,02	- 0,62	0,00
<b>Est-1 – Pep-2</b>			
<b>a – c</b>	0,01	0,48	0,00
<b>Est-2 – Pep-2</b>			
<b>c – c</b>	0,02	1,00	0,03
	<b>D</b>	<b>D'</b>	<b>P</b>

**COEFICIENTES DE DESEQUILIBRIO GAMÉTICO**

**Aldox – Pep-2**

a – a	- 0,06	- 0,14	0,01
a – b	0,06	0,81	0,00

**Pep-1 – Pep-2**

b – a	0,06	0,51	0,02
c – a	- 0,06	- 0,66	0,02
c – c	0,02	0,59	0,03

**Est-2 – Xdh**

c - b	- 0,07	- 0,38	0,02
-------	--------	--------	------

**Aldox – Xdh**

a – c	- 0,04	- 0,18	0,05
b – c	0,03	1,00	0,01

**Pep-1 – Xdh**

c – a	0,03	0,59	0,03
-------	------	------	------

**Pep-2 – Xdh**

c – a	0,02	0,47	0,01
-------	------	------	------

## A.2. Desequilibrios en cada población

### Chumbicha

	D	D'	P
<b>Est-2 – Lap</b>			
<b>a – b</b>	- 0,03	- 0,09	0,05
<b>Est-1 – Aldox</b>			
<b>c – b</b>	0,02	0,38	0,05
<b>Lap – Aldox</b>			
<b>c – a</b>	- 0,03	- 0,40	0,03
<b>c – b</b>	0,03	0,31	0,05
<b>Est-2 – Pep-1</b>			
<b>d – b</b>	- 0,02	- 0,60	0,01
<b>Lap – Pep-1</b>			
<b>b – a</b>	- 0,03	- 0,44	0,00
<b>b – b</b>	0,03	0,29	0,03
<b>c – a</b>	0,03	0,44	0,00
<b>c – b</b>	- 0,03	- 0,34	0,01
<b>Lap – Pep-2</b>			
<b>b – b</b>	- 0,04	- 0,09	0,02
<b>c – b</b>	0,03	0,58	0,03
<b>Est-1 – Xdh</b>			
<b>a – d</b>	0,02	1,00	0,00
<b>Lap – Xdh</b>			
<b>b – b</b>	0,03	0,47	0,05
<b>c – d</b>	0,01	0,45	0,05

**COEFICIENTES DE DESEQUILIBRIO GAMÉTICO**

	<b>D</b>	<b>D'</b>	<b>P</b>
<b>Aldox – Xdh</b>			
a – b	0,06	0,35	0,01
a – c	- 0,05	- 0,25	0,03
b – b	- 0,06	- 0,44	0,01
b – c	0,07	- 0,43	0,00
c – d	0,01	1,00	0,00
<b>Pep-1 – Xdh</b>			
a – a	0,03	0,46	0,00
b – a	- 0,02	- 0,40	0,03

**2ST Chumbicha**

	<b>D</b>	<b>D'</b>	<b>P</b>
<b>Est-1 – Est-2</b>			
c – b	0,07	1,00	0,05
<b>Est-2 – Lap</b>			
a – b	- 0,06	- 0,18	0,04
a – c	0,06	1,00	0,04
<b>Lap – Pep-1</b>			
c – a	0,03	1,00	0,00
<b>Est-1 – Pep-2</b>			
c – c	0,03	1,00	0,01
<b>Lap – Xdh</b>			
b – b	0,06	1,00	0,05
<b>Aldox – Xdh</b>			
c – d	0,04	1,00	0,00
d – a	0,04	1,00	0,00
<b>Pep-1 – Xdh</b>			

**COEFICIENTES DE DESEQUILIBRIO GAMÉTICO**

<b>b - b</b>	0,06	1,00	0,05
<b>b - c</b>	- 0,08	- 0,24	0,01
<b>c - c</b>	0,05	1,00	0,05

**2J Chumbicha**

	<b>D</b>	<b>D'</b>	<b>P</b>
<b>Est-1 - Lap</b>			
<b>c - c</b>	0,02	1,00	0,00
<b>Est-1 - Aldox</b>			
<b>c - b</b>	0,02	1,00	0,02
<b>Lap - Aldox</b>			
<b>b - b</b>	- 0,04	- 0,26	0,04
<b>c - a</b>	- 0,04	- 0,58	0,01
<b>c - b</b>	0,04	0,61	0,04
<b>Est-2 - Pep-1</b>			
<b>d - c</b>	0,03	1,00	0,00
<b>Lap - Pep-1</b>			
<b>b - a</b>	- 0,04	- 0,33	0,02
<b>b - b</b>	0,04	0,41	0,04
<b>c - a</b>	0,04	0,62	0,00
<b>c - b</b>	- 0,04	- 0,61	0,01
<b>Aldox - Xdh</b>			
<b>b - c</b>	0,07	0,56	0,01
<b>Pep-1 - Xdh</b>			
<b>a - a</b>	0,06	0,54	0,00
<b>b - a</b>	- 0,06	- 0,52	0,00

**2JZ<sup>3</sup> Chumbicha**

	D	D'	P
<b>Est-2 – Pep-1</b>			
c – c	0,06	1,00	0,05
<b>Est-2 – Pep-2</b>			
a – a	0,14	1,00	0,02
<b>Aldox – Xdh</b>			
a – b	0,11	1,00	0,02
a – c	- 0,11	- 0,41	0,02
b – c	0,11	1,00	0,02

## La Sebila

	D	D'	P
Est-1 – Est-2			
c - c	0,03	1,00	0,02
Est-1 – Xdh			
c - a	0,05	1,00	0,00
Aldox – Xdh			
a - c	- 0,07	- 0,21	0,05

## 2ST La Sebila

	D	D'	P
Est-2 – Pep-2			
d - a	0,09	1,00	0,05
Est-1 – Xdh			
c - a	0,09	1,00	0,01

## 2J La Sebila

	D	D'	P
Est-1 – Est-2			
c - c	0,09	1,00	0,00

**Río Hondo**

	<b>D</b>	<b>D'</b>	<b>P</b>
<b>Est-1 – Est-2</b>			
<b>d – d</b>	0,01	1,00	0,00
<b>Est-2 – Aldox</b>			
<b>b – a</b>	0,05	0,42	0,04
<b>b – b</b>	- 0,06	- 0,62	0,01
<b>d – a</b>	- 0,03	- 0,68	0,04
<b>Est-1 – Pep-2</b>			
<b>a – a</b>	0,06	0,51	0,01
<b>a – b</b>	- 0,05	- 0,47	0,02
<b>b – a</b>	- 0,06	- 0,22	0,03
<b>b – b</b>	0,05	0,26	0,04
<b>Lap – Pep-2</b>			
<b>b - a</b>	- 0,05	- 0,11	0,01
<b>b - b</b>	0,06	1,00	0,00
<b>Est-2 – Xdh</b>			
<b>a – a</b>	- 0,04	- 0,59	0,05
<b>Aldox – Xdh</b>			
<b>a – b</b>	0,07	0,42	0,01
<b>b – b</b>	- 0,07	- 0,52	0,01
<b>b – c</b>	0,08	0,44	0,00
<b>d – a</b>	0,03	0,43	0,00
<b>Pep-2 – Xdh</b>			
<b>c – d</b>	0,01	0,48	0,00



**2 ST Río Hondo**

	D	D'	P
<b>Est-1 – Lap</b>			
a – c	0,04	1,00	0,05
<b>Est-2 – Aldox</b>			
b – b	- 0,08	- 0,71	0,04
<b>Lap – Aldox</b>			
c – d	0,03	1,00	0,00
<b>Est-1 – Pep-2</b>			
a – a	0,09	0,47	0,04
b – a	- 0,09	- 0,35	0,05
b – b	0,11	0,45	0,02
c – c	0,03	1,00	0,01
<b>Est-2 – Xdh</b>			
b – a	0,09	1,00	0,00
b – c	- 0,13	- 0,79	0,00
<b>Aldox – Xdh</b>			
a – b	0,09	0,74	0,03
c – d	0,03	1,00	0,00
d – a	0,03	1,00	0,01
<b>Pep-2 – Xdh</b>			
c – d	0,03	1,00	0,00

## 2 J Río Hondo

	D	D'	P
<b>Est-1 – Est-2</b>			
c – c	0,02	1,00	0,05
d – d	0,02	1,00	0,00
<b>Est-2 – Aldox</b>			
b – b	- 0,07	- 0,72	0,05
<b>Lap – Pep-2</b>			
b – b	0,05	1,00	0,04
c – d	0,02	1,00	0,00
<b>Est-1 – Xdh</b>			
b – c	- 0,07	- 0,48	0,04
<b>Lap – Xdh</b>			
b – c	- 0,04	- 0,20	0,05
<b>Aldox – Xdh</b>			
b – c	0,06	0,33	0,04
<b>Pep-1 – Xdh</b>			
a – d	0,02	1,00	0,00

**Berna**

	D	D'	P
<b>Est-2 – Aldox</b>			
a – a	0,05	0,70	0,01
a – b	- 0,04	- 0,68	0,02
<b>Lap – Aldox</b>			
c – a	- 0,02	- 0,56	0,01
c – b	0,02	0,57	0,01
<b>Est-1 – Pep-2</b>			
a – a	- 0,04	- 0,54	0,02
b – a	0,06	0,41	0,01
b – b	- 0,06	- 0,18	0,01
<b>Est-2 – Pep-2</b>			
d - c	0,01	0,49	0,00
<b>Est-2 – Xdh</b>			
c – d	0,01	1,00	0,00
<b>Lap – Xdh</b>			
a – c	0,02	0,69	0,04
<b>Pep-1 – Xdh</b>			
a – a	0,01	0,27	0,03
<b>Pep-2 – Xdh</b>			
a – b	- 0,06	- 0,29	0,01
b – b	0,05	0,22	0,04

**2ST Berna**

	<b>D</b>	<b>D'</b>	<b>P</b>
<b>Est-2 – Lap</b>			
<b>b – b</b>	- 0,04	- 0,07	0,03
<b>Est-1 – Pep-1</b>			
<b>a – b</b>	- 0,03	- 0,15	0,04
<b>a – c</b>	0,03	0,67	0,02
<b>b – b</b>	0,05	0,76	0,01
<b>Est-1 – Pep-2</b>			
<b>b – a</b>	0,07	0,49	0,01
<b>b – b</b>	- 0,08	- 0,22	0,01
<b>Est-1 – Xdh</b>			
<b>a – b</b>	- 0,05	- 0,45	0,05
<b>Lap – Xdh</b>			
<b>a – c</b>	0,03	1,00	0,01
<b>b – b</b>	0,04	1,00	0,01
<b>b – c</b>	- 0,05	- 0,14	0,00
<b>Aldox – Xdh</b>			
<b>d – a</b>	0,01	1,00	0,00
<b>Pep-2 – Xdh</b>			
<b>a – b</b>	- 0,06	- 0,34	0,03

**2J Berna**

	D	D'	P
<b>Est-1 – Est-2</b>			
c – a	0,08	0,60	0,01
c – b	- 0,08	- 0,60	0,01
<b>Lap - Aldox</b>			
b – a	0,06	0,60	0,01
c – a	- 0,07	- 0,62	0,00
c – b	0,07	1,00	0,00
<b>Pep-1 – Pep-2</b>			
b – a	0,07	1,00	0,05
b – b	- 0,07	- 0,15	0,05
<b>Aldox – Xdh</b>			
c – c	0,03	1,00	0,05
<b>Pep-1 – Xdh</b>			
a – a	0,04	1,00	0,01

## Tirol

	D	D'	P
<b>Est-1 – Est-2</b>			
<b>b – a</b>	0,07	0,38	0,02
<b>Lap – Pep-1</b>			
<b>a – a</b>	0,05	0,49	0,00
<b>a – b</b>	- 0,04	- 0,43	0,04
<b>b – a</b>	- 0,06	- 0,50	0,02
<b>Pep-1 – Pep-2</b>			
<b>b – a</b>	- 0,06	- 0,18	0,05
<b>b – b</b>	0,06	0,44	0,05
<b>c – c</b>	0,02	0,47	0,00
<b>Est-1 – Xdh</b>			
<b>b – a</b>	0,07	0,76	0,01

## 2ST Tirol

	D	D'	P
<b>Est-1 – Est-2</b>			
<b>a – a</b>	- 0,07	- 0,74	0,03
<b>Est-2 – Aldox</b>			
<b>c – b</b>	0,03	1,00	0,05
<b>Lap – Pep-1</b>			
<b>a – a</b>	0,06	0,47	0,00

**COEFICIENTES DE DESEQUILIBRIO GAMÉTICO**

**Pep-1 – Pep-2**

<b>a – a</b>	0,06	0,57	0,04
<b>b – a</b>	- 0,08	- 0,28	0,02
<b>b – b</b>	0,08	0,55	0,02
<b>a – a</b>	0,02	1,00	0,00

**Est-1 – Xdh**

<b>b – a</b>	0,06	1,00	0,01
--------------	------	------	------

**Aldox - Xdh**

<b>c – d</b>	0,02	0,47	0,00
--------------	------	------	------

### Arroyo Escobar

	D	D'	P
<b>Est-1 – Lap</b>			
b – b	0,02	0,72	0,03
b – c	- 0,02	- 0,72	0,03
c – b	- 0,03	- 0,09	0,01
c – c	0,03	0,75	0,01

### 2ST Arroyo Escobar

	D	D'	P
<b>Est-1 – Est-2</b>			
c – a	0,19	1,00	0,05
<b>Est-1 – Pep-2</b>			
b – a	0,19	1,00	0,05

### 2J Arroyo Escobar

	D	D'	P
<b>Est-1 – Lap</b>			
b – b	0,03	1,00	0,03
c – c	0,03	1,00	0,01
<b>Est-1 – Aldox</b>			
b – a	- 0,05	- 0,23	0,04
b – b	0,05	0,29	0,04
<b>Pep-1 – Pep-2</b>			
b – c	- 0,03	- 0,33	0,02
c – c	0,03	0,33	0,02



**2JZ<sup>3</sup> Arroyo Escobar**

	D	D'	P
<b>Est-2 – Lap</b>			
<b>d – b</b>	- 0,04	- 0,21	0,05
<b>d – c</b>	0,04	1,00	0,05
<b>Est-2 – Aldox</b>			
<b>d – b</b>	0,07	0,58	0,03
<b>Est-2 – pep-1</b>			
<b>a – c</b>	0,09	1,00	0,02
<b>Aldox – Pep-2</b>			
<b>a – b</b>	0,12	1,00	0,01
<b>b – a</b>	0,10	1,00	0,02

## Otamendi

	D	D'	P
<b>Est-2 – Lap</b>			
c – b	- 0,02	- 0,08	0,04
<b>Est-1 – Aldox</b>			
c – c	0,01	0,44	0,01
<b>Est-2 – Aldox</b>			
c – b	- 0,02	- 0,76	0,05
<b>Est-2 – Pep-1</b>			
a – a	0,02	0,25	0,02
<b>Lap – Pep-1</b>			
c – c	0,01	0,27	0,01
<b>Pep-1 – Pep-2</b>			
b – c	- 0,02	- 0,44	0,01
c – c	0,02	0,39	0,00
<b>Est-1 – Xdh</b>			
c – c	0,02	0,25	0,02

## 2ST Otamendi

	D	D'	P
<b>Est-1 – Est-2</b>			
a – a	0,09	0,46	0,03
b – a	- 0,13	- 0,56	0,00
b – b	0,10	0,74	0,02
b – d	0,07	1,00	0,05
<b>Est-1 – Aldox</b>			
c – c	0,04	1,00	0,00
	D	D'	P

**COEFICIENTES DE DESEQUILIBRIO GAMÉTICO**

<b>Est-2 – Aldox</b>			
<b>d – b</b>	0,04	1,00	0,00
<b>Est-1 – Xdh</b>			
<b>c – b</b>	- 0,03	- 0,46	0,02
<b>c – c</b>	0,03	0,46	0,02
<b>Lap – Xdh</b>			
<b>a – c</b>	0,04	1,00	0,00
<b>b – b</b>	0,03	0,45	0,03
<b>b – c</b>	- 0,03	- 0,45	0,03

**2J Otamendi**

	<b>D</b>	<b>D'</b>	<b>P</b>
<b>Est-2 – Lap</b>			
<b>c – b</b>	- 0,03	- 0,10	0,03
<b>Est-1 – Aldox</b>			
<b>c – c</b>	0,01	1,00	0,01
<b>Est-2 – Pep-1</b>			
<b>a – a</b>	0,01	0,22	0,04
<b>Lap – Pep-1</b>			
<b>c – c</b>	0,01	0,26	0,05
<b>Pep-1 – Pep-2</b>			
<b>c – c</b>	0,01	0,27	0,04
<b>Est-2 – Xdh</b>			
<b>d – c</b>	0,02	0,28	0,03
<b>Aldox – Xdh</b>			
<b>c – c</b>	0,01	1,00	0,03

**2JZ<sup>3</sup> Otamendi**

	D	D'	P
<b>Est-1 – Est-2</b>			
a – c	0,04	1,00	0,05
c – d	0,05	1,00	0,00
<b>Est-1 – Lap</b>			
a – a	0,03	0,46	0,01
a – c	0,03	0,46	0,01
b – b	0,05	0,42	0,02
<b>Est-2 – Aldox</b>			
b – b	0,03	1,00	0,05
<b>Est-2 – Pep-1</b>			
c – b	- 0,08	- 0,31	0,05
<b>Est-1 – Pep-2</b>			
a – c	0,03	1,00	0,00
<b>Lap – Pep-2</b>			
c – c	0,03	0,47	0,01
<b>Aldox – pep-2</b>			
a – a	- 0,10	- 0,30	0,00
a – b	0,09	1,00	0,01
d – a	0,08	1,00	0,01
<b>Pep-1 – pep-2</b>			
c – c	0,06	1,00	0,00

**COEFICIENTES DE DESEQUILIBRIO GAMÉTICO**

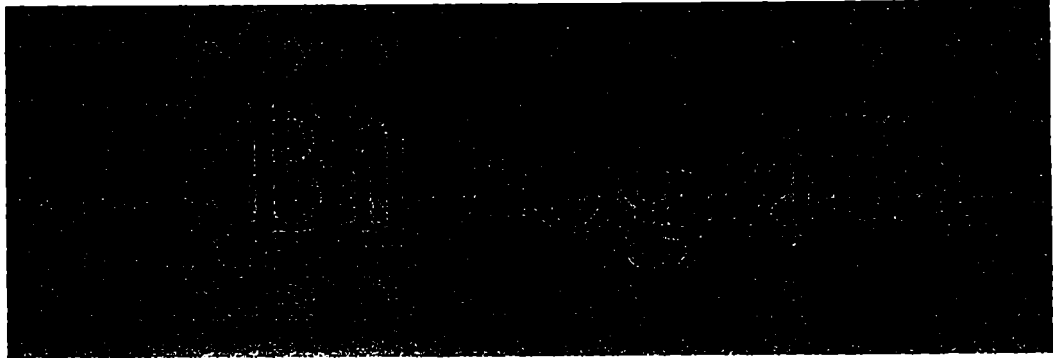
	<b>D</b>	<b>D'</b>	<b>P</b>
<b>Est-1 – Xdh</b>			
<b>a – a</b>	0,03	0,46	0,02
<b>b – b</b>	0,10	1,00	0,00
<b>b – c</b>	- 0,08	- 0,32	0,02
<b>c – c</b>	0,06	1,00	0,02
<b>Est-2 – Xdh</b>			
<b>a – b</b>	0,09	1,00	0,04
<b>c – b</b>	- 0,10	- 0,38	0,04
<b>Lap – Xdh</b>			
<b>c – a</b>	0,03	0,46	0,02
<b>Pep-2 – Xdh</b>			
<b>a – c</b>	0,09	0,55	0,03
<b>c – a</b>	0,03	0,46	0,02

## A.1. Componentes de varianza del desequilibrio gamético global

LOCI	D(IS)	D"(IS)	D(ST)	D"(ST)	D(IT)
EST-1 - EST-2	0.01288	0.15240	0.03638	0.00115	0.15355
EST-1 - LAP	0.00438	0.11137	0.03250	0.00085	0.11222
EST-1 - ALDX	0.00799	0.11699	0.02846	0.00134	0.11833
EST-1 - PEP-1	0.00590	0.08196	0.02619	0.00161	0.08358
EST-1 - PEP-2	0.01797	0.07000	0.01813	0.00028	0.07029
EST-1 - XDH L	0.01471	0.14775	0.03247	0.00534	0.15309
EST-1 - CROM	0.02271	0.22601	0.06339	0.02721	0.25323
EST-2 - LAP	0.00602	0.19547	0.05097	0.00044	0.19591
EST-2 - ALDX	0.02277	0.18162	0.03849	0.00224	0.18386
EST-2 - PEP-1	0.00905	0.18481	0.04517	0.00208	0.18689
EST-2 - PEP-2	0.00951	0.11602	0.02983	0.00140	0.11742
EST-2 - XDH	0.02108	0.13382	0.03510	0.01106	0.14488
EST-2- CROM	0.02658	0.25897	0.07116	0.02832	0.28729
LAP - ALDX	0.00641	0.07133	0.02660	0.00277	0.07410
LAP - PEP-1	0.00605	0.04633	0.02254	0.00122	0.04755
LAP - PEP-2	0.01164	0.04775	0.01557	0.00137	0.04911
LAP - XDH L	0.00579	0.13011	0.03367	0.00412	0.13423
LAP - CROM	0.00178	0.32809	0.09563	0.00145	0.32954
ALDX - PEP-1	0.00620	0.06519	0.02034	0.00050	0.06568
ALDX - PEP-2	0.00413	0.04850	0.01452	0.00035	0.04885

**COEFICIENTES DE DESEQUILIBRIO GAMÉTICO**

LOCI	D(IS)	D"(IS)	D(ST)	D"(ST)	D(IT)
ALDX - XDH	0.03291	0.12707	0.02956	0.01964	0.14671
ALDX - CROM	0.01233	0.25872	0.07047	0.01586	0.27458
PEP-1 - PEP-2	0.00776	0.03244	0.01262	0.00205	0.0344
PEP-1 - XDH L	0.00615	0.10487	0.02642	0.00142	0.1063
PEP-1 - CROM	0.00656	0.31466	0.09222	0.00166	0.3163
PEP-2 - XDH L	0.01616	0.09453	0.01792	0.00235	0.09687
PEP-2 - CROM	0.00784	0.19768	0.06465	0.00388	0.20156
XDH - CROM	0.02989	0.25749	0.06801	0.03666	0.29415



*Siempre estamos subidos en los hombros de quienes nos precedieron.*

AB'SABER, A.N. 1977. *Espaços ocupados per la expansão dos climas secos na America do Sul, por ocasião dos periodos glaciais*. Paleoclimas Inst. Geogr. Univ. S. Paulo. 3:1-19.

ANDERSON, W. W., L. LEVINE, O. OLVERA, J. R. POWELL, M. E. DE LA ROSA, V. M. SALCEIDA, M. I. GASO, AND J. GUZMAN. 1979. *Evidence for selection by male mating success in natural populations of *Drosophila pseudoobscura**. Proc. Natl. Acad. Sci., USA 76: 1519-1523.

BARBADILLA, A., J.E. QUESADA-DÍAZ, A. RUIZ, M. SANTOS, AND A. FONIDEVILA.. 1991: *The evolutionary history of *Drosophila buzzatii* XVII. Double mating and sperm predominance*. Genetics, Selection, Evolution 23:133-140

BARBADILLA, A., A. RUIZ, M. SANTOS, AND A. FONIDEVILA. 1994. *Mating pattern and fitness-component analysis associated with inversion polymorphism in a natural population of *Drosophila buzzatii**. Evolution 48: 767-780.

BARKER, J.S.F. 1977. *Cactus-breeding *Drosophila* – A system for the measurement of natural selection*. En: Lecture notes in bio-mathematics Vol. 19 F.B. Christiansen and T. Fenchel (eds). Springer-Verlag, Berlin.

BARKER, J.S.F. 1981. *Selection at allozyme loci in cactophilic *Drosophila**. En *Genetic Studies of *Drosophila* Populations*. Proceedings of the 1979 Kiola Conference. J.B. Gibson y J.G. Oakeshott (eds). 161-184. Australian National University (Canberra)



## BIBLIOGRAFIA

- BARKER, J.S.F. 1982. *Population genetics of Opuntia breeding Drosophila in Australia*. In: *Ecological Genetics and Evolution*. J.S.F. Barker; W.T. Starmer (eds.). Academic Press, Australia. pp 209-224.
- BARKER, J.S.F. 1990. *Experimental analysis of habitat selection and maintenance of genetic variation*. In J.S.F. Barker, W.T. Starmer and R.J. MacIntyre (eds). *Ecological and Evolutionary Genetics of Drosophila*. Plenum Press, New York and London. pp:161-175.
- BARKER, J.S.F. AND J.C. MULLEY. 1976. *Allozyme variation in natural populations of Drosophila buzzatii*. *Evolution* 30: 213-233.
- BARKER, J.S.F. AND P.D. EAST. 1980. *Evidence for selection following perturbation of allozyme frequencies in a natural population of Drosophila*. *Nature* 284:166-168.
- BARKER, J.S.F., F.M. SENE, P.D. EAST AND M.A.Q.R. PEREIRA. 1985. *Allozyme and chromosomal polymorphism of Drosophila buzzatii in Brazil and Argentina*. *Genetica* 67:161-170
- BARKER, J. S. F., P.D. EAST AND B.S. WEIR. 1986a. *Temporal and microgeographic variation in allozyme frequencies in a natural population of Drosophila buzzatii*. *Genetics* 112:577-611.
- BARKER, J. S. F., W. T. STARMER, AND D. C. VACEK. 1987. *Analysis of spatial and temporal variation in the community structure of yeasts associated with decaying Opuntia cactus*. *Microbial Ecol.* 14:267-272.
- BARKER, J. S. F., G.L. TOLL, P.D. EAST AND P.R. WIDDERS. 1981. *Attraction of Drosophila buzzatii and D. aldrichi to species of yeasts isolated from their natural environment. II. Field experiments*. *Aust. J. Biol. Sci.* 34:613-624.
- BARKER, J. S. F., D. C. VACEK, P.D. EAST AND W. T. STARMER 1986b. *Allozyme genotypes of Drosophila buzzatii. Feeding and oviposition preferences for microbial species and habitat selection*. *Aust. J. Biol. Sci.* 39:47-58
- BETRÁN, E; J.E. QUEZADA-DÍAZ, A. RUIZ, M. SANTOS AND A. FONTDEVILA. 1994. *The evolutionary history of Drosophila buzzatii. XXXII. Linkage disequilibrium between allozymes and chromosome inversions in two colonizing populations*. *Heredity* 74: 188-199
- BETRÁN, E; M. SANTOS; AND A. RUIZ. 1997. *Antagonistic pleiotropic effect of second-chromosome inversions on body size and early life-history traits in Drosophila buzzatii*. *Evolution en prensa*
- CABRERA, A. 1976. *Regiones Fitogeográficas de la Argentina*. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Ganadería. Fac. 1. Ed. ACME. SACL. Buenos Aires.
- CLEGG, M. T., A. L. KAHLER, AND R. W. ALLARD. 1978. *Estimation of life cycle components of selection in an experimental plan population*. *Genetics* 89: 765-792.
- DARLINGTON, C.D. AND K. MATHIEP. 1949. *The elements of Genetics*. Allen and Unwin. London.

## BIBLIOGRAFIA

- DARWIN, C. 1859. *On the Origin of Species by Means of Natural Selection*. Murray, London.
- DAVID, J. 1962. *A new medium for rearing Drosophila in axenic conditions*. Dros. Inf. Serv. 36: 128.
- DAVID, J. AND L. TSACAS. 1980. *Cosmopolitan, subcosmopolitan and widespread species: different strategies within the Drosophila family (Diptera)*. C. R. Soc. Biogéogr., 57:11-26.
- DOBZHANSKY, TH. 1973. *Nothing in biology makes sense except in the light of evolution*. Amer. Biol. Teacher, 35: 125-129.
- DOBZHANSKY, TH. 1946. *Genetics of natural populations. XIII. Recombination and variability in populations of Drosophila pseudoobscura*. Genetics 31:269-290.
- DOBZHANSKY, TH. AND C. EPLING. 1948. *The suppression of crossing over in inversion heterozygotes*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 34:137-141
- DOBZHANSKY, TH. 1962. *Rigid vs. Flexible chromosome polymorphism in Drosophila*. Am. Nat. 96:321-326
- DOBZHANSKY, TH., F.J. AYALA, G. L. STEBBINS, J.W. VALENTINE. 1980. *Evolution*. Freeman (ed.). San Francisco. USA
- DOBZHANSKY, TH. 1970. *Genetics of the evolutionary process*. Columbia University Press, New York.
- ELDRIGE, N AND S.J. GOULD. 1972. *Punctuated equilibria: an alternative to phyletic gradualism*. En: Models in Paleobiology. T.J.M. Schopf (ed.). San Francisco.
- ENDLER, J.A.. 1986. *Natural Selection in the Wild*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- ENDLER, J.A.. 1977. *Geographic Variation, Speciation and Clines*. Princeton University Press. N.Y.
- ETGES, W. J. 1996. *Sexual selection in a wild population of Drosophila robusta*. Evolution 50: 2095-2100.
- EXCOFFIER, L, P.E. SMOUSE AND J.M. QUATRO. 1992. *Analysis of Molecular Variance Inferred From Metric Distance Among DNA Haplotypes: Application to Human Mitochondrial DNA Restriction Data*. Genetics 131:479-491.
- FALCONER, D.S. 1981. *Introduction to Quantitative Genetics*, Oliver and Boyd Ltd. (ed). Longman, Harlow, England.
- FANARA, J. J. 1995. *Explotación diferencial de los recursos en especies cactófilas de Drosophila*. Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires. Argentina.
- FANARA, J. J., E. HASSON, C. RODRÍGUEZ, M. SANTOS, AND A. FONTDEVILA. 1996. *Are Opuntia hosts a selective factor for the inversion polymorphism of Drosophila buzzatii?* Heredity 77: 500-508.
- FANARA, J. J., E. HASSON, C. RODRÍGUEZ, AND J. C. VILARDI. 1995. *Influence of second chromosome two arrangements on viability and developmental time of Drosophila buzzatii*. Braz. J. Genet. 18:17-21.

## BIBLIOGRAFIA

- FANARA, J. J., E. HASSON, AND C. RODRÍGUEZ. 1997. *The effect of polymorphic inversions on body size in two natural populations of **Drosophila buzzatii** from Argentina*. *Hereditas* 126:000-000..
- FANARA, J. J., A. FONTDEVILA AND E. HASSON. 1998. *Oviposition preference and life history traits in the cactophilic sibling species **Drosophila koepferae** and **D. buzzatii** in association to their natural hosts*. Enviado
- FERNANDEZ IRIARTE. 1998. Tesis Doctoral. En preparación.
- FISHER, 1930. *The Genetical Theory of Natural Selection*. Clarendon Press. Oxford (rev. ed., 1958. Dover. N.Y.)
- FONTDEVILA, A. 1982. En: J.S.F. Barker y W.T. Starmer (eds), Academic Press, Australia. pp:81-95.
- FONTDEVILA, A., A. RUIZ, G. ALONSO, AND J. OCAÑA. 1981. *The evolutionary history of **Drosophila buzzatii**. I. Natural chromosomal polymorphism in colonized populations of the Old World*. *Evolution* 35:148-157.
- FONTDEVILA, A., A. RUIZ, J. OCAÑA, AND G. ALONSO. 1982. *The evolutionary history of **Drosophila buzzatii**. II. How much has chromosomal polymorphism changed in colonization?* *Evolution* 36:843-851.
- FONTDEVILA, A. 1989. *Founder effects in colonizing populations the case of **Drosophila buzzatii***. In: A. Fontdevila (ed), *Evolutionary Biology of Transient Unstable Populations*. Springer-Verlag, Heidelberg. pp:74-95.
- FONTDEVILA, A. 1991. En: *Molecular Techniques in Taxonomy* (Hewitt GM et al. eds.) Springer Verlag, Berlin Heidelberg, 249-269.
- GREEN, C.A. 1982. *Cladistic analysis of mosquito chromosome data (Anopheles (Celia) Myzomyia)*. *J. Hered.* 37:2-6
- HASSON, E. AND W.F. EANES. 1996. *Contrasting histories of Three Gene Regions Associated With In(3L)Payne of **Drosophila melanogaster***. *Genetics* 144:1565-1575.
- HASSON, E., J. J. FANARA, C. RODRÍGUEZ, J. C. VILARDI, O. A. REIG, AND A. FONTDEVILA. 1992a. *The evolutionary history of **Drosophila buzzatii**. XXIV. Second chromosome inversions have different average effect on thorax length*. *Heredity* 68:557-563.
- HASSON, E., C. RODRÍGUEZ, J. J. FANARA, H. NAVEIRA, O. A. REIG, AND A. FONTDEVILA. 1995. *The evolutionary history of **Drosophila buzzatii**. XXVI. Macrogeographic patterns in the inversion polymorphisms in New World populations*. *J. evol. Biol.* 8:369-384.
- HASSON, E., J. J. FANARA, C. RODRÍGUEZ, J. C. VILARDI, O. A. REIG, AND A. FONTDEVILA. 1993. *The evolutionary history of **Drosophila buzzatii**. XXVII. Thorax length is positively correlated with longevity in a natural population from Argentina*. *Genetica* 92:61-65.
- HASSON, E., J. C. VILARDI, H. NAVEIRA, J. J. FANARA, C. RODRÍGUEZ, O. A. REIG, AND A. FONTDEVILA. 1991. *The evolutionary history of **Drosophila buzzatii**. XVI. Fitness components analysis in a natural population from Argentina*. *J. Evol. Biol.* 4:209-225.

**BIBLIOGRAFIA**

- HASSON, E., H. NAVEIRA, AND A. FONTDEVILA. 1992b. *The breeding sites of the Argentinian species of the *Drosophila mulleri* complex (subgenus *Drosophila-repleta* group)*. Rev. Chilena de Historia Natural 65:319-326.
- HEDRICK, P., S. JAIN AND L. HOLDEN. 1978. *Multilocus systems in Evolution*. En: *Evolutionary Biology*, Vol. 11. M.K. Hecht, W.C. Steer and B. Wallace (eds.). Plenum Press. N.Y.
- KIMURA, M. 1968. *Evolutionary rate at the molecular level*. Nature 217:624-626
- KIMURA, M., AND J. F. CROW. 1978. *Effect of overall phenotypic selection on genetic change at individual loci*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 75: 6168-6171
- KING J.L. AND T.H. JUKES. 1969. *Non-Darwinian evolution*. Science 164:788-798.
- KNIBB, W.R., P.D. EAST AND J.S.F. BARKER. 1987. *Polymorphic inversion and Esterase loci complex on chromosome 2 of *Drosophila buzzatii**. I. Aust. J. Biol. Sci. 40:257-269
- KNIBB, W.R., J.S.F. BARKER. 1988. *Polymorphic Inversion and Esterase Loci Complex on Chromosome 2 of *Drosophila buzzatii* II. Spatial Variation*. Aust. J. Biol. Sci. 41:239-246
- KOJIMA, K. AND H.E. SCHAFFER. 1967. *Survival processes of linked mutant genes*. Evolution 21:518-531
- KRIMBAS, C.B.; AND J.R. POWELL. 1992a. *Introduction*. Pp. 1-52 in C. B. Krimbas and J. R. Powell, eds. *Drosophila inversion polymorphism*. C.R.C. Press. Boca Ratón, Florida.
- KRIMBAS, C.B.; AND J.R. POWELL. 1992b. *Drosophila Inversion Polymorphism*. Edited by Krimbas and Powell. CRC Press. Boca Ratón, Florida.
- LANDE, R. 1982. *A quantitative genetic theory of life history evolution*. Ecology 63: 607-615.
- LEIBOWITZ, A., M. SANTOS AND A. FONTDEVILA. 1995. *Heritability and Selection on Body Size in a Natural Population of *Drosophila buzzatii**. Genetics 141: 181-189.
- LEMEUNIER, F. AND S. AULER. 1992. *Inversion polymorphism in *Drosophila melanogaster**. En: *Drosophila inversion polymorphism*. C.B. Krimbas and J.R. Powell (eds.) CRC Press. Boca Ratón. Florida.
- LEWIS, P.O. AND D. ZAYKIN. 1997. *Genetic Data Analysis Software*. <http://chee.unm.edu/gda/>
- LEWONTIN, R.C. 1974. *The Genetic Basis of Evolutionary Change*. Columbia university Press. N.Y.
- MAYR, E. 1963. *Animal Species and Evolution*. Harvard university Press. Cambridge. Mass.
- MC CLINTOCK, B. 1931. *Cytological observations and inversion in *Zea mays**. Univ. Miss. Coll. Agr. Exp. Stat. Res. Bull., 163:1-30.

## BIBLIOGRAFIA

- MC CLINTOCK, B. 1950. *The origin and behavior of mutable loci in maize*. Proc. Nat. Acad. Sci. 36:344-355
- MC DONALD, J.F., D. STRAND, M. LAMBERT AND I.B. WEINSTEIN. 1987. *The response of the genome: evidence and evolutionary implications*. En: Development as an Evolutionary Process. R.A. Raff and E.C. Raff (eds.). N.Y.
- MULLEY, J.C., J.W. JAMES AND J.S.F. BARKER. 1979. *Allozyme Genotype – Environment Relationships in Natural populations of Drosophila buzzatii*. Biochemical Genetics, Vol. 17 Nº 1/2. Plenum publishing Corporation.
- NEI, M. 1977. *F-statistics and the analysis of gene diversity in subdivided populations*. Ann. Hum. Genet. 41:225-233
- NEI, M. 1978. *Estimation of overage heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals*. Genetics 89:583-590.
- NORRY, F. M., J. C. VILARDI, J. J. FANARA, C. RODRÍGUEZ, AND E. HASSON. 1995b. *An adaptive chromosomal polymorphism affecting size-related traits and longevity selection in a natural population of Drosophila buzzatii*. Genetica 96: 285-291.
- NORRY, F. M., J. C. VILARDI, J. J. FANARA, AND E. HASSON. 1995a. *Courtship success and multivariate analysis of sexual selection on morphometric traits in Drosophila buzzatii*. J. Insect. Behav. 8:219-229.
- NORRY, F. M., J. C. VILARDI AND E. HASSON. 1997. *Genetic and phenotypic correlations among size-related traits, and heritability variation between body parts in Drosophila buzzatii*. Genetica in press.
- NOVITSKI, E. 1946. *Chromosome variation in Drosophila athabasca*. Genetics 31:508-513.
- NUZHIDIN, S.V., E.G. PASYUKOVA, C.L. DILDA, Z.B.ZENG Y T.F.C. MACKAY. 1997. *Sex-specific quantitative trait loci affecting longevity in Drosophila melanogaster*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 94:9734-9739
- O'BRIEN, S.J. AND R. MC INTYRE. 1978. *Genetics and Biochemistry of Enzymes and Specific Proteins of Drosophila*. En: Genetics and Biology of Drosophila. Vol. 2ª. M. Ashburner and T.R.F. Wright (eds). Academic Press.
- OHTA, T. 1982. *Linkage disequilibrium due to random drift in finite subdivided populations*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79:1940-1944
- PARTRIDGE, L., AND K. FOWLER. 1993. *Responses and correlated responses to artificial selection on thorax length in Drosophila melanogaster*. Evolution 47: 213-226.
- PAYNE, .1924. *Crossover modifiers in the third chromosome of Drosophila melanogaster*. Genetics 9:327-342
- PERIS, F., J.E. QUESADA-DÍAZ, A. BARBADILLA, A. RUIZ, M. SANTOS AND A. FONTDEVILA. 1991. *Definición del nicho trófico de Drosophila buzzatii*. VIII. Seminario de genética de Poblaciones y Evolución, Sant Cugat del Valles. Universidad Autónoma de Barcelona. Spain. pp 25.
- PROUT, T., AND J. S. F. BARKER. 1989. *Ecological aspects of the heritability of body size in Drosophila buzzatii*. Genetics 123: 803-813.

## BIBLIOGRAFIA

- QUEZADA-DÍAZ, J.E. 1993. *Estructura Poblacional y Patrón de Apareamientos de la Especie Cactófila Drosophila buzzatii*. Ph. D. Thesis Universitat Autònoma de Barcelona. España.
- RANZ, J.M., C. SEGARRA AND A. RUIZ. 1997. *Chromosomal homology and molecular organization of Muller's elements D and E in the Drosophila repleta species group*. Genetics 145:281-295
- RAYMOND, M. AND F. ROUSSET. 1995. *An exact test for population differentiation*. Evolution 49:1283-1286
- REIG, O.A. 1979. *El significado biológico poblacional y evolutivo de los cambios en el sistema cromosómico, con especial referencia a los vertebrados*. En: Tópicos de Ecología Contemporánea. J. Ravinovich y G. Halffter (eds.) Fondo de Cultura Económica. México.
- RODRÍGUEZ, C., E. HASSON, J. J. FANARA, AND J. C. VILARDI. 1992. *Second chromosome polymorphism of Drosophila buzzatii is not associated with gametic selection and does not affect mating pattern*. Gen. Sel. Evol. 24:179-186.
- RODRÍGUEZ, C., J. J. FANARA AND E. HASSON. 1998. *Inversion polymorphism, body size and fitness components in a natural population of Drosophila buzzatii*. Enviado a Evolution
- ROFF, D. A. 1992. *The evolution of life histories. Theory and analysis*. Chapman & Hall. NY. USA.
- ROZAS, J. AND M. AGUADÉ. 1994. *Gene conversion is involved in the transfer of genetic information between naturally occurring inversion of Drosophila suboscuro*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:11517-11521.
- RUIZ, A. 1982. *El polimorfismo de Inversiones en Drosophila buzzatii*. Ph. D. Thesis. Universidad de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela. España.
- RUIZ, A., A. FONTDEVILA AND M. 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., M. SANTOS, A. BARBADILLA, J. QUEZADA-DÍAZ, E. HASSON, AND A. FONTDEVILA. 1991. *The evolutionary history of Drosophila buzzatii*. XVIII. *Genetic variance for body size in a natural population*. Genetics 128:739-750.
- RUIZ, A., A. FONTDEVILA, M. SANTOS, M. SEOANE, AND E. TORROJA. 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., AND A. FONTDEVILA. 1985. *The evolutionary history of Drosophila buzzatii*. VI. *Adaptive chromosomal changes in experimental populations with natural substrates*. Genetica 66: 63-71.
- RUIZ, A., H. NAVEIRA AND A. FONTDEVILA. 1984. *The evolutionary history of Drosophila buzzatii*. IV. *Aspectos citogenéticos de su polimorfismo cromosómico*. Gen. Ibérica 36:13-35.
- RUIZ, A., M. SANTOS, AND A. FONTDEVILA. 1987. *The evolutionary history of Drosophila buzzatii*. X. *Differential response to environmental alcohol among second chromosome arrangements in experimental populations*. Genetica 75: 219-229.

