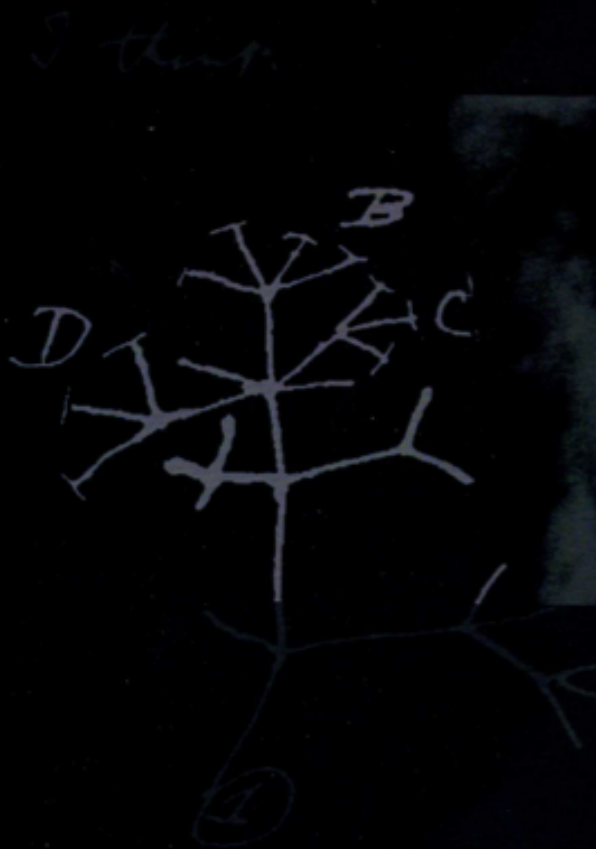


# EVOLUCIÓN Y ADAPTACIÓN

150 años después del Origen de las Especies



Editores

Hernán Dopazo y Arcadi Navarro

[ Sociedad Española de Biología Evolutiva ]



BRAPROPIA  
editorial

# EVOLUCIÓN Y ADAPTACIÓN

150 años después del Origen de las Especies



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA  
Vicerectorat d'Investigació i  
Política Científica



# **EVOLUCIÓN Y ADAPTACIÓN**

**150 AÑOS DESPUÉS DEL ORIGEN DE LAS ESPECIES**

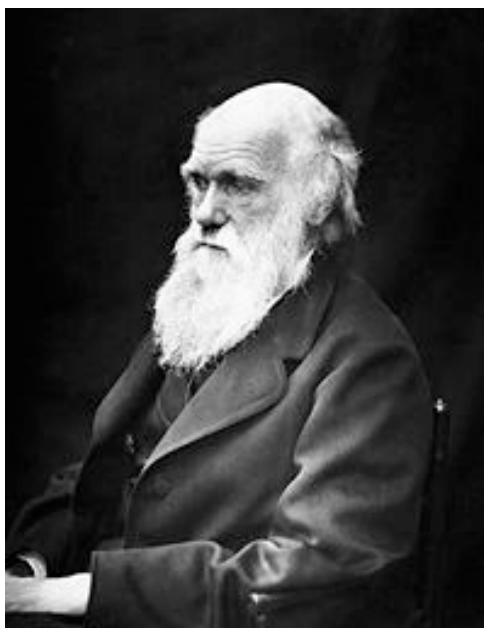
**Editores**

**Hernán Dopazo y Arcadi Navarro**

# **EVOLUCIÓN Y ADAPTACIÓN**

**150 años después del Origen de las Especies**

Homenaje a Charles Darwin



**2009**  
**Año Darwin**

**200 años de su nacimiento**

Shrewsbury, Inglaterra. 12 de febrero de 1809

**150 años de la publicación de:**

El origen de las especies mediante la selección natural  
o  
la conservación de las razas favorecidas en la lucha por la vida

24 de noviembre de 1859. John Murray, Londres

**Hernán Dopazo y Arcadi Navarro**  
**Editores**

Sociedad Española de Biología Evolutiva  
[www.sesbe.org](http://www.sesbe.org)

# CONTENIDOS

Prólogo de los Editores

xv

## Tema 1. Evolución Molecular, Genética y Genómica 1

- 1.1. Selección de Modelos de Evolución Molecular.  
*David Posada*
- 1.2. Temporal Aspects of Gene Evolution.  
*Mar Albà*
- 1.3. Evolution of Splicing.  
*Manuel Irimia and Eduardo Eyra*
- 1.4. La Colonización y la Hibridación como Factores de Evolución por Transposición.  
*M<sup>a</sup> Pilar García Guerreiro y Antonio Fontdevila*
- 1.5. Evolución Molecular y Adaptación en las Familias Multigénicas del Sistema Quimiorreceptor de los Insectos.  
*Julio Rozas, Alejandro Sánchez-Gracia y Filipe G. Vieira*
- 1.6. Genómica Comparativa y Selección Natural. Aplicaciones en el Genoma Humano.  
*François Serra, Leonardo Arbiza y Hernán Dopazo*
- 1.7. Cromosomas B: Un Modelo de Coevolución Genómica.  
*Francisco Perfectti, Josefa Cabrero, María Dolores López-León, Juan Pedro M. Camacho*
- 1.8. Variación Geográfica y Adaptación Local al Estrés Osmótico en el Sapo Corredor.  
*Ivan Gomez-Mestre y Miguel Tejedo*
- 1.9. Relevancia de la Herencia No Vertical en *Legionella pneumophila*.  
*Mireia Coscollá, Iñaki Comas y Fernando González Candelas*

## Tema 2. Aislamiento Reproductivo y Especiación 93

- 2.1. Arquitectura Genética de la Esterilidad Híbrida en *Drosophila*.  
*Tomás Morán y Antonio Fontdevila*
- 2.2. Especiación en los Carábidos Ibéricos (*Insecta, Coleoptera*).  
*José Serrano, José Sánchez, Carmelo Andújar, Carlos Ruiz y José Galián*

- 2.3. Especiación Ecológica en Simpatria en un Caracol Marino del Intermareal.  
*Emilio Rolán Alvarez*
- 2.4. The Role of Natural Selection in Chromosomal Speciation.  
*Rui Faria y Arcadi Navarro*
- 2.5. Estudios sobre el Comportamiento Reproductivo y la Alimentación Adulta en *Plecópteros (Insecta)*.  
*José Manuel Tierno de Figueroa, Julio Miguel Luzón-Ortega y Manuel Jesús López-Rodríguez*

### **Tema 3. Diversidad, Filogenia y Filogenómica** 143

- 3.1. The Evolution of Viviparity in Salamanders (*Amphibia, Caudata*): Organization, Variation, and the Hierarchical Nature of the Evolutionary Process.  
*David Buckley, Marina Alcobendas y Mario García-París*
- 3.2. Especies Crípticas y Murciélagos. ¿Cuántas Especies hay en la Península Ibérica?  
*Javier Juste, Juan Luís García-Mudarra y Carlos Ibáñez*
- 3.3. Historia Evolutiva de la Abeja Ibérica.  
*Pilar De la Rúa, Irene Muñoz, Ana Piñero, Raquel Hernández-García, Fernando Cánovas, José Galián y José Serrano*
- 3.4. El Origen de los Animales Bilaterales. Filogenias, Genómica, y Fósiles.  
*Jaume Baguñà, Marta Riutort y Pere Martinez*
- 3.5. Animales y sus Ancestros Unicelulares. Una Visión Filogenómica.  
*Iñaki Ruiz-Trillo*

### **Tema 4. Desarrollo, Morfología y Evolución** 189

- 4.1. Origen y Evolución de la Metamorfosis de los Insectos.  
*Xavier Belles*
- 4.2. Evolución y Desarrollo: Mutantes y Genes Heterocrónicos en *Drosophila*.  
*Julián Mensch, Nicolás Lavagnino, Valeria Carreira, Esteban Hasson y Juan José Fanara*
- 4.3. Evolución de la Genitalia en *Drosophila*.  
*Ignacio M. Soto y Esteban Hasson*
- 4.4. Morfología Teórica y Evolución Morfológica.  
*Miquel De Renzi*
- 4.5. Tamaño y Complejidad: Generalizaciones Evolutivas del Cambio Morfológico.  
*Borja Esteve Altava y Diego Rasskin Gutman*

## **Tema 5. Ecología Evolutiva y Comportamiento**

239

- 5.1. Comunicación Animal: Un Estudio Evolutivo.  
*Enrique Font y Pau Carazo*
- 5.2. La Evolución de Señalización Honesta de Calidad por Hembras a través de sus Huevos.  
*Juan Moreno*
- 5.3. Evolución de Señales Químicas en los Procesos de Selección Sexual en Reptiles.  
*José Martín y Pilar López*
- 5.4. Evolución de la Coloración en la Aves: Darwin Reivindicado.  
*Alberto Velando y Roxana Torres*
- 5.5. Selección Sexual Post-Cópula y la Evolución de la Poliandria.  
*Francisco García-González*
- 5.6. Darwin y las Lombrices de Tierra: Selección Sexual en Animales Hermafroditas.  
*Jorge Domínguez y Alberto Velando*
- 5.7. Estrategias Reproductivas en Parásitos de la Malaria.  
*Santiago Merino y Josué Martínez de la Puente*
- 5.8. Compromisos Adaptativos en la Selección de Hábitat de Aves Esteparias.  
*Manuel B. Morales y Juan Traba*
- 5.9. ¿Saben Contar la Lombrices? Una Visión Darwiniana sobre la Evolución de la Inteligencia Matemática.  
*Pau Carazo y Enrique Font*
- 5.10. Evolución de la Cooperación para Beneficio Mutuo entre Individuos que Comparten Rasgos Arbitrarios.  
*Miguel A. Toro y Laureano Castro*

## **Tema 6. Interacción entre Especies**

337

- 6.1. Estrategias Adaptativas a Antivirales en Virus de RNA.  
*José M. Cuevas, F. Xavier López-Labrador, Vicente Sentandreu, María A. Bracho, Fernando González-Candelas*
- 6.2. Evolución Molecular del Bacilo de la Tuberculosis.  
*Iñaki Comas y Sebastien Gagneux*
- 6.3. Simbiosis en Clave Darwiniana.  
*Andrés Moya, Juli Peretó y Amparo Latorre*
- 6.4. Domesticación en Animales: Genómica y Evolución.  
*Miguel Pérez-Enciso*

- 6.5. Competición, Mutualismo y Arquitectura de Redes Ecológicas:  
Su Papel en la Biodiversidad.  
*Alberto Pascual-García*

## **Tema 7. Paleobiología** 387

- 7.1. Poblamiento de América: Más de un Siglo de Debate.  
*Ana L. Tropea y Alicia I. Massarini*
- 7.2. Evolución de la Fauna de Mamíferos de América del Sur:  
Evidencias, Interrogantes e Interpretaciones.  
*Edgardo Ortiz-Jaureguizar*
- 7.3. Historia Evolutiva de los Dinosaurios Titanosaurios Europeos.  
*Verónica Díez Díaz, Xabier Pereda Suberbiola y José Luis Sanz*
- 7.4. Adaptación en Cocodrilos Mesozoicos: Un Ensayo de  
Interacción entre las Jerarquías Ecológica y Genealógica.  
*Angela D. Buscalioni y Beatriz Chamero*
- 7.5. Historia Evolutiva de las Tortugas del Mesozoico de la  
Península Ibérica.  
*Adán Pérez García*

## **Tema 8. Evolución Experimental y Aplicaciones** 437

- 8.1. Evolución Experimental en Virus  
*José M. Cuevas, Rafael Sanjuán y Andrés Moya*
- 8.2. Evolución en Acción: Estudios de Evolución Experimental en el  
Contexto de la Selección Sexual.  
*Francisco García-González*
- 8.3. Adaptation of Cyanobacteria and Microalgae to Extreme Natural  
Environments  
*Victoria López-Rodas, Eduardo Costas and Antonio Flores-Moya*

## **Tema 9. Evolución Cultural, Filosofía y Docencia** 465

- 9.1. Partes y Funciones en el Desarrollo y la Evolución. Hacia un  
Darwinismo Sistémico.  
*Arantza Etxeberria y Laura Nuño de la Rosa*
- 9.2. Transmisión Cultural y Evolución: Un Enfoque Darwinista de la  
Cultura.  
*Laureano Castro y Miguel Ángel Toro*





9.3. La Biología a la luz de la Adaptación en los Libros de Texto de Educación Secundaria Obligatoria.

*Milagros de la Gándara Gómez y María José Gil Quílez*

9.4. Consideraciones Acerca de la Cambiante Influencia de la Teoría de la Evolución en las Humanidades y un Diagnóstico de la Situación Actual.

*Jon Umerez*

## **Índice de Autores y Capítulos**

507

## Prólogo de los Editores

El 12 de febrero de 1809 nació en Shrewsbury (Inglaterra) el hombre que cambiaría para siempre nuestra visión del mundo vivo: Charles Robert Darwin. Cincuenta años después, se publicaría "El Origen de las Especies" (*On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life*), la obra que contiene el fruto más destacado de su labor científica. Este año, por tanto, la celebración es doble: 200 años del genio y 150 de su famoso libro. Triple, en realidad, si tenemos en cuenta que Jean Baptiste Lamarck, uno de los más ilustres predecesores de Darwin, publicó su "Filosofía Zoológica" en 1809, el mismo año del nacimiento de Darwin.

Es probable que el aniversario de la obra de Lamarck sea desconocido para muchos lectores. En contraste, durante todo este año ha sido prácticamente imposible mantenerse ajeno al 200 cumpleaños de Charles Darwin. Y es que la influencia y reputación de Darwin no son sólo incontestables a nivel científico, sino que son tan grandes que trascienden el mundo académico. Darwin es uno de los dos únicos científicos a quienes el público general suele reconocer. El otro es Albert Einstein. Las barbas de uno y las melenas desordenadas y el bigote del otro constituyen, en el imaginario popular, la imagen por excelencia del sabio, del científico brillante, revolucionario y algo excéntrico. Podemos hacernos con una idea de la enorme popularidad de Darwin si tenemos en cuenta que la mayor parte de revistas científicas de alguna importancia, empezando por *Nature* y siguiendo por *National Geographic*, *Muy Interesante* o *Investigación y Ciencia* le han dedicado un número especial. Si bien esto podría parecer esperable en un científico reconocido, no lo es tanto que los periódicos de mayor tirada de todo el planeta se hicieran eco de su cumpleaños el pasado 12 de febrero; ni que Google adornara su logo con pinzones ese mismo día.

Las causas de la enorme y duradera popularidad de Darwin deben buscarse en la naturaleza de su más importante contribución: el concepto de selección natural. Antes de Darwin era prácticamente imposible concebir un mundo sin creador, puesto que la enorme complejidad de los seres vivos, superior a la de cualquier artefacto creado por el hombre, parecía apuntar infaliblemente hacia la existencia de un diseñador poderosísimo. Para muchos pensadores, ese diseñador era el Dios omnisciente y personal de La Biblia. Darwin rompió con esta visión del mundo proponiendo el único mecanismo que puede causar "apariencia de diseño": la evolución por selección natural. Sólo en apariencia es el mundo vivo resultado de los diseños de un ingeniero divino. En realidad es el resultado de millones de años de procesos biológicos guiados por la reproducción diferencial de los individuos. Si los organismos mejor adaptados a su entorno tienen mayores probabilidades de dejar descendencia y si esta descendencia hereda las ventajas de sus progenitores, el resultado debe ser un mundo como el que observamos. Un mundo lleno de adaptaciones imperfectas, de procesos dinámicos de competencia y cooperación entre organismos que, en cada generación, ven afectada su capacidad reproductiva en función de su entorno, incluyendo en éste a sus propios parientes y predadores.

Si en 1543 Nicolás Copérnico nos despedía del centro estático de una creación antropocéntrica hacia los confines de un universo infinito, Darwin nos mostraría, 316 años después, que la diversidad de la vida es el resultado de un proceso natural. Un proceso cuya mecánica originada en lo más profundo del tiempo geológico no tiene dirección preferencial ni propósito alguno más allá de favorecer cualquier característica que ayude a los organismos en su lucha por la existencia y la reproducción. El resto de complejidades del mundo biológico, lo que nos asombra y maravilla no son más que los productos secundarios de este mecanismo, la mayoría comprometidos con el propósito principal de permanecer para dar descendencia. Hablamos de los colores de las aves y de las flores, los afilados dientes del *Tyrannosaurus rex*, o los filtradores de una ballena azul, nuestra inteligencia y lenguaje, el esfuerzo o la indiferencia de los progenitores por el cuidado de sus crías, el comportamiento social de humanos e insectos, la organización del sistema genético, la ubicación de los genes en los cromosomas, las particularidades de la maquinaria molecular, la cooperación celular en organismos multicelulares, y un infinito etcétera de adaptaciones.

El enorme poder explicativo de las ideas de Darwin hizo que éstas suscitaran un gran interés y que surgiera de inmediato una enorme controversia sobre su veracidad. Desde el mismo día de su publicación hasta el día de hoy. Demasiados grupos de interés, principalmente religiosos, se sentirían amenazados. Sus afirmaciones sobre el mundo eran directamente incompatibles con lo predicado. Hoy, 150 años después, la polémica sobre la evolución está zanjada en el ámbito científico y, su desarrollo no se detiene. Sabemos que la evolución es un hecho y la selección natural es el mecanismo que explica la mayor parte de casos de aparente y exquisito diseño que observamos en los seres vivos. Durante estos 150 años la comunidad científica no ha hecho otra cosa que complementar, modificar o agregar conceptos básicos o más sofisticados al pensamiento Darwiniano, conceptos que hoy reconocemos como los fundamentos de la biología moderna.

Las celebraciones del Año Darwin tienen un nada deseable cariz defensivo. Aunque la comunidad científica no tiene dudas sobre la validez de las ideas de Darwin, éste sigue siendo enemigo de un sinnúmero de movimientos fundamentalistas. Estos grupos suelen ser organizaciones religiosas que propugnan una lectura literal de sus libros sagrados, especialmente La Biblia en los Estados Unidos, pero también El Corán en otros países, como Turquía. Como hace 150 años y como es lógico, estos movimientos se sienten amenazados por el Darwinismo y organizan campañas anti-evolucionistas que, haciendo gala de una admirable capacidad logística y mediante argumentos pseudocientíficos más o menos elaborados, pretenden transmitir la idea de que Darwin se equivocó. A partir de la "demostración" de los errores de una visión darwinista del mundo, sugieren una visión un tanto paranoica de la comunidad científica, que estaría constituida por decenas de miles de personas que, sabedoras de las mentiras que defienden, intentan engañar al mundo para destruir la moral y la religión. Quizás esta misma comunidad científica estaría encantada de que el Año Darwin pasara tan desapercibido como podrían

pasar un Año Pasteur, un Año Newton o un Año Einstein. Paradójicamente, podría ser un éxito no tener que celebrar por todo lo alto el 300 aniversario de Charles Robert Darwin. No obstante como alegaba Karl Popper, la verdad no es manifiesta y siempre son necesarios esfuerzos por ponerla en evidencia. Esta es una de las razones de este libro.

Entre esta comunidad que se siente en la necesidad de celebrar a Darwin, se encuentran los autores de los 51 capítulos de este libro contenedor de 9 temas donde los conceptos de evolución y adaptación son centrales. Se trata de reconocidos investigadores en Biología Evolutiva cercanos a la SESBE. Todos ellos con la mayor habilidad que está en su buen hacer han reunido en este volumen conmemorativo un resumen de la investigación realizada durante años en sus laboratorios. Cada uno de los capítulos de este volumen tienen el propósito común de divulgar los resultados de una tarea que mayoritariamente está publicada en revistas especializadas. Sin duda unos tendrán más éxito en la tarea de dar a conocer su trabajo al gran público. Dejamos que el lector evalúe este esfuerzo. No obstante, a todos ellos nuestro sincero agradecimiento por este trabajo. Finalmente agradecemos a la junta directiva de la SESBE haber confiado en nosotros el desarrollo de esta tarea, al Ministerio de Ciencia e Innovación de España, a la Consejería de Educación de la Generalitat Valenciana, al Vicerrectorado de Investigación y Política Científica de la Universidad de Valencia, a la Unión Internacional de Ciencias Biológicas (IUBS), a la Red Española de Diversidad Biológica, Evolución y Sistemática, a la organización del Segundo Congreso de la SESBE y a Juli Peretó por hacer posible la impresión de este libro en homenaje a Charles Darwin.

Hernán Dopazo y Arcadi Navarro

*Barcelona, 24 de Noviembre de 2009*



# Tema 1

---

## Evolución Molecular, Genética y Genómica

---

# 1.1

## Selección de Modelos de Evolución Molecular

**David Posada**

*Departamento de Bioquímica, Genética e Inmunología, Universidad de Vigo, 36310 Vigo, España.*

### RESUMEN

El uso de un modelo u otro de evolución molecular puede cambiar los resultados del análisis de secuencias. Varios métodos han sido desarrollados para la selección del modelo probabilístico de sustitución nucleotídica o reemplazo aminoacídico que mejor se ajusta a los datos. Los estudios de simulación indican que estas técnicas funcionan muy bien, y durante los últimos años estos métodos han sido implementados en una serie de programas como ModelTest, ProtTest, y más recientemente jModelTest. Estos programas además proporcionan diferentes herramientas para la cuantificación de la incertidumbre en la selección del modelo, la inferencia multimodelo, y para la descripción formal del proceso de evolución molecular. La justificación del modelo de evolución molecular es un paso rutinario hoy en día en el análisis evolutivo de secuencias de ADN y proteínas.

### 1. INTRODUCCIÓN

Los modelos probabilísticos de evolución molecular –sustitución nucleotídica o de reemplazo aminoacídico– son conjuntos de parámetros que describen el proceso del cambio de las secuencias de ADN o de las proteínas. Su utilidad principal y razón de ser es el cálculo de probabilidades de cambio entre los diferentes nucleótidos o aminoácidos, a menudo a lo largo de las ramas de un árbol filogenético. Así, estos modelos nos permiten calcular distancias “corregidas” entre dos secuencias o la probabilidad de un alineamiento de secuencias dado una hipótesis filogenética determinadas.

La mayoría de estos modelos asumen que la probabilidad de cambio de un sitio (nucleotídico o aminoacídico) no depende de sus estados anteriores (proceso de Markov), que el cambio en un sitio no afecta al de otros sitios (independencia de caracteres), que las probabilidades de cambio son las mismas en distintos linajes (proceso homogéneo), y que la frecuencia de los distintos estados es constante y ha llegado al equilibrio (frecuencias estacionarias). Por supuesto, estas suposiciones no son excesivamente realistas, si no que son el producto de modelizar los cambios de estado de los caracteres como un proceso estocástico, y a menudo reflejan un compromiso entre significado biológico, información disponible, y coste computacional. En sentido amplio, todos los modelos son incorrectos, pero por supuesto esperamos que muchos sean útiles

Por ejemplo, en el caso del proceso sustitución nucleotídica, los modelos se describen mediante una matriz  $Q$  de tasas de sustitución instantáneas, que especifica la cantidad de sustituciones esperadas en un sitio dado en un intervalo infinitamente pequeño de tiempo:

$$Q = \{q_{ij}\} = \begin{pmatrix} \cdot & \mu\pi_C r_{AC} & \mu\pi_G r_{AG} & \mu\pi_T r_{AT} \\ \mu\pi_A r_{CA} & \cdot & \mu\pi_G r_{CG} & \mu\pi_T r_{CT} \\ \mu\pi_A r_{GA} & \mu\pi_C r_{GC} & \cdot & \mu\pi_T r_{GT} \\ \mu\pi_A r_{TA} & \mu\pi_C r_{TC} & \mu\pi_G r_{TG} & \cdot \end{pmatrix}$$

En esta matriz,  $\mu$  es la tasa media de sustitución instantánea,  $r_{ij}$  es la tasa relativa de cambio entre los nucleótidos  $i$  y  $j$  (en general estas tasas son relativas con respecto a la tasa  $r_{CT} = 1.0$ ), y  $\pi_i$  es la frecuencia del nucleótido  $i$ . Los valores de la diagonal se omiten en este caso, pero son aquéllos que sencillamente convierten la suma de tasas de su fila en 0 (dado que las frecuencias son estacionarias). La mayoría de los modelos que se usan en la práctica son casos especiales de esta matriz, y casi siempre se asume que el proceso de sustitución es reversible de forma que se no se necesite considerar si los estados observados son ancestrales o derivados. Así, el modelo más general de tiempo reversible (GTR<sup>1</sup>), que considera seis tasas relativas de sustitución diferentes y cuatro frecuencias nucleotídicas distintas, se consigue simplemente convirtiendo las tasas relativas de la matriz anterior en simétricas ( $r_{AC} = r_{CA}$ , etc.). A partir de esta matriz, el resto de los modelos se obtienen sencillamente restringiendo los valores que pueden adoptar los distintos parámetros. Por ejemplo, suponiendo que todas las transiciones tienen la misma tasa, y que todas las transversiones también, se obtiene el modelo HKY85. Si además se acepta que las frecuencias de los nucleótidos en el equilibrio son iguales se llega al modelo F81. Y si finalmente especificamos que la tasa de transición es la misma que la transversión, hablaremos del modelo JC69, el más sencillo.

Las tasas instantáneas de la matriz  $Q$  permiten el cálculo de las diferentes probabilidades de cambio, que dependen del tiempo transcurrido ( $t$ ) y de la tasa de sustitución ( $\mu$ ). Así, la probabilidad de cambio entre dos nucleótidos  $i$  y  $j$  a lo largo de un linaje (rama) de longitud  $v$  ( $= \mu \times t$ ) es:

$$P_{ij} = e^{Q_{ij}v}$$

En el caso de aminoácidos, el proceso de cambio se modeliza de manera muy similar, aunque con un número de estados posibles, y por lo tanto de parámetros, considerablemente mayor. Así, el alto coste computacional de

<sup>1</sup> Ver por ejemplo el manual de *jModelTest* para los distintos acrónimos de los modelos.

estos modelos previene su uso extendido y en general se suelen utilizar matrices de cambio empíricas estimadas a partir de grandes bases de datos.

Tras su postulación, algunas de las suposiciones más restrictivas de los modelos originales de evolución molecular se han ido relajando, como la que todos los sitios de la secuencia evolucionen con la misma tasa. Así, para reflejar el hecho de que algunos sitios no cambian a lo largo del tiempo, podemos considerar una proporción de *sitios invariables* (“*p-inv*”; *modelo+I*). Otra forma de incorporar de manera más flexible la heterogeneidad de las tasas de sustitución a lo largo de la secuencia es asumir que la probabilidad de que un sitio dado evolucione con una tasa relativa determinada sigue una distribución gamma (*modelo+Γ*) con un parámetro de forma  $\alpha$  que varía entre poco más de 0 (tasas muy distintas) e infinito (una única tasa). En general es suficiente con usar una distribución gamma discreta con 4 categorías. Así, el modelo de sustitución nucleotídica más complejo que se suele utilizar es GTR+I+Γ.

Tener una idea del ajuste de un modelo a los datos es importante, ya el uso de un modelo de sustitución particular puede cambiar el resultado del análisis, incluyendo la estimación de parámetros de sustitución, la estimación de árboles filogenéticos, la inferencia de estados ancestrales o la datación molecular (1,2). El ajuste absoluto de cualquier modelo a unos datos se suele medir a través de la verosimilitud. En evolución molecular, la verosimilitud ( $L$ ) es proporcional a la probabilidad de los datos ( $D$ ) dado un modelo de evolución ( $M$ ), un vector  $\theta$  de  $K$  parámetros del modelo de evolución y un árbol filogenético particular con una topología  $\tau$  y un vector  $\nu$  de longitudes de rama:

$$L = P(D | \theta, \tau, \nu)$$

Por razones simplemente computacionales, en general se suele trabajar con el logaritmo de la verosimilitud, que será un número negativo. Cabe destacar que el uso de la distribución  $\Gamma$  suele aumentar mucho la verosimilitud de los datos dado un modelo.

## 2. OBJETIVOS

Como hemos visto, los diferentes modelos de evolución molecular incluyen distintos parámetros. Existe una relación entre el número de parámetros (complejidad del modelo) y el ajuste del modelo a los datos, de forma que a medida que añadimos parámetros a un modelo el ajuste absoluto de éste aumenta en menor o mayor medida. Esto es lógico si pensamos que cada parámetro siempre reflejará algún aspecto del proceso que estamos intentando describir. Sin embargo, hay un precio a pagar por intentar estimar más parámetros –a partir del mismo conjunto de datos–, que es el error asociado a cada una de estas estimas. Así, lo ideal sería usar un modelo que sea tan complejo como sea necesario, pero no más. La pregunta que surge inmediatamente es cómo se podría identificar el modelo más adecuado para nuestros datos, de forma que el objetivo fundamental de este trabajo ha sido el desarrollar e implementar una serie técnicas estadísticas de selección de



modelos en el contexto del proceso de sustitución nucleotídica y del reemplazo aminoacídico.

### 3. RESULTADOS

Durante los últimos años hemos propuesto una serie de metodologías y programas de libre uso para la selección del modelo de evolución molecular que mejor se ajusta, entre una serie de modelos candidatos, a un alineamiento dado de secuencias de ADN o aminoácidos, incluyendo los tests secuenciales de razones de verosimilitudes y distintos criterios de información. Además, hemos incorporado un marco de estimación que incluye la medida de la incertidumbre en la elección del modelo, la inferencia multimodelo, y la cuantificación de la importancia relativa de los diferentes parámetros de los modelos.

**3.1 Tests secuenciales de razones de verosimilitudes.** El ajuste relativo de dos modelos se puede comparar fácilmente mediante un test de razones de verosimilitudes o LRT (“likelihood ratio test”).

$$LRT = 2 (L_1 - L_0)$$

donde  $L_1$  es la máxima verosimilitud de los datos bajo el modelo más complejo, y  $L_0$  es la máxima verosimilitud bajo el modelo más simple. Si el modelo más sencillo es un caso especial del modelo más complejo (modelos anidados), el LRT se distribuye como una  $\chi^2$  con tantos grados de libertad como la diferencia en el número de parámetros estimables entre los dos modelos.

Para elegir el modelo que mejor se ajusta a los datos entre docenas de candidatos, los LRTs se pueden realizar de forma secuencial (sLRTs). De esta forma es posible evaluar diferentes hipótesis sobre el proceso de sustitución a la luz de nuestros datos. Las hipótesis evaluadas son aquellas representadas por las diferencias entre los dos modelos que se comparan. Por ejemplo, el LRT puede involucrar a dos modelos que se diferencian sólo por el hecho de que uno de ellos asume que  $\pi_A = \pi_C = \pi_G = \pi_T = 0.25$ , mientras que el otro no establece ninguna restricción al respecto. La pregunta en este caso sería ¿son las frecuencias de las bases iguales?, de manera que una vez contestada se pasaría a contestar otra pregunta, por ejemplo, ¿hay una proporción significativa de sitios invariables? Otra forma de verlo es que estamos estableciendo si estadísticamente vale la pena añadir o eliminar ciertos parámetros.

**3.2. Criterios de información y promediado de modelos.** Aunque los sLRTs son capaces de identificar eficientemente el modelo “real” en simulaciones computacionales (3,4), cuando el número de modelos posibles es elevado presentan ciertos problemas derivado del uso de comparaciones a pares para elegir entre más de dos modelos (5). Por ejemplo, los sLRTs requieren que los modelos estén anidados y dependen del orden y estructura de los tests.

Afortunadamente, existen diversas estrategias que permiten la comparación simultánea de múltiples modelos, como el criterio de información de Akaike:

$$AIC = -2L + 2K,$$

que representa el compromiso entre ajuste (máxima verosimilitud de los datos,  $L$ ) y número de parámetros del modelo ( $K$ ). El AIC puede verse como la cantidad de información perdida al usar un modelo de sustitución concreto para aproximar el proceso real de evolución molecular, por lo que el mejor modelo será aquel con menor AIC. Al contrario que los LRTs, el AIC permite de forma natural la comparación de modelos no anidados y la ordenación por rango de los diferentes modelos. La diferencia ( $\Delta$ ) entre cada modelo y aquél con el AIC menor puede usarse para aproximar la verosimilitud relativa un modelo  $i$  entre  $R$  modelos:

$$w_i = \frac{e^{(-1/2\Delta_i)}}{\sum_{r=1}^R e^{(-1/2\Delta_r)}}$$

La cantidad  $w_i$  se denomina *peso de Akaike*, y se puede interpretar como la probabilidad de que un modelo sea la mejor aproximación a la verdad, dados los datos. Estos pesos o evidencias pueden usarse convenientemente para la *inferencia promediada o multimodelo*, usando todos los modelos de manera ponderada (5). Por ejemplo, es posible estimar la tasa relativa de sustitución entre adenina y citosina ( $\varphi_{A-C}$ ) usando  $R$  modelos:

$$\hat{\varphi}_{A-C} = \frac{\sum_{i=1}^R w_i I_{\varphi_{A-C}}(M_i) \varphi_{A-Ci}}{w_+(\varphi_{A-C})},$$

dónde

$$w_+(\varphi_{A-C}) = \sum_{i=1}^R w_i I_{\varphi_{A-C}}(M_i),$$

y

$$I_{\varphi_{A-C}}(M_i) = \begin{cases} 1 & \text{if } \varphi_{A-C} \text{ está en el modelo } M_i \\ 0 & \text{si no lo está} \end{cases},$$

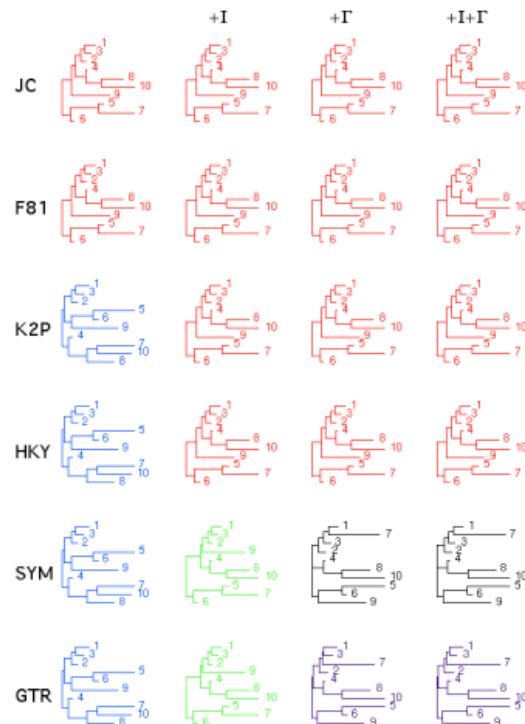
Por supuesto, el parámetro promediado podría ser la propia topología del árbol filogenético que mejor explica los datos. En este caso se estimaría un árbol de máxima verosimilitud para cada modelo considerado, y se construiría un árbol consenso ponderado por los pesos de Akaike correspondientes (5). Además, es posible estimar la *importancia relativa* de cualquier parámetro

simplemente sumando los pesos de Akaike para todos los modelos que incluyen el parámetro de interés. Por ejemplo, la importancia de la tasa relativa de sustitución entre adenina y citosina ( $\varphi_{A-C}$ ) sería simplemente el denominador  $w_{+(\varphi_{A-C})}$ . Otras estrategias parecidas con ventajas similares, son el criterio de información Bayesiano (BIC) y un método fundamentado en la teoría de la decisión (DT) que incorpora una “función de riesgo” basada en el error relativo en la estimación de longitudes de rama (6).

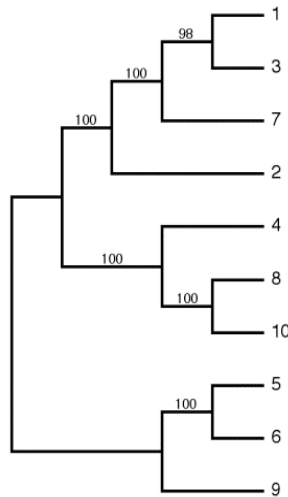
**3.3. Desarrollo de software.** Los estudios de simulación indican que estas técnicas funcionan bien (3,4), y durante los últimos años estos métodos han sido implementados en una serie de programas. El programa ModelTest (7) fue la primera herramienta disponible para la selección de modelos de sustitución nucleotídica y su uso se ha hecho desde entonces muy popular, con más de 25000 usuarios registrados en la actualidad. Para facilitar su uso se puso a punto más tarde el servidor Web de ModelTest (8) y más recientemente se ha desarrollado un programa en Java mucho más versátil y completo, denominado jModelTest (9). Este último incluye las estrategias de selección de sLRTs, AIC, BIC y DT, la inferencia multimodelo (incluyendo una estima multimodelo de la filogenia), y el cálculo de la importancia relativa de los distintos parámetros. Por otro lado, el programa ProtTest (10) facilita la selección de modelos de reemplazo aminoacídico e incorpora herramientas similares a las de jModelTest. Estos programas están disponibles de forma gratuita en <http://darwin.uvigo.es>.

Modelo	AIC	$\Delta$	$\omega$
GTR+ $\Gamma$	8541.28	0.00	6.30E-01
GTR+I+ $\Gamma$	8542.46	1.18	3.49E-01
SYM+ $\Gamma$	8549.15	7.88	1.23E-02
SYM+I+ $\Gamma$	8550.45	9.17	6.43E-03
HKY+ $\Gamma$	8555.18	13.91	6.03E-04
HKY+I+ $\Gamma$	8556.40	15.13	3.28E-04
K80+ $\Gamma$	8564.98	23.70	4.50E-06
K80+I+ $\Gamma$	8566.22	24.94	2.42E-06
GTR+I	8579.28	38.00	3.53E-09
SYM+I	8590.49	49.22	1.30E-11
HKY+I	8592.53	51.25	4.68E-12
F81+ $\Gamma$	8593.77	52.49	2.52E-12
F81+I+ $\Gamma$	8595.00	53.72	1.36E-12
K80+I	8603.22	61.94	2.24E-14
JC+ $\Gamma$	8605.24	63.97	8.12E-15
JC+I+ $\Gamma$	8606.51	65.23	4.32E-15
F81+I	8629.59	88.31	4.21E-20
JC+I	8642.08	100.81	8.13E-23
JC	8891.18	349.91	6.58E-77
F81	8878.68	337.41	3.42E-74
K80	8854.93	313.66	4.90E-69
HKY	8845.17	303.90	6.46E-67
SYM	8843.45	302.17	1.53E-66
GTR	8831.24	289.96	6.86E-64

**Tabla 1. Selección por AIC del modelo de evolución.** Valores de AIC para 24 modelos diferentes. Se muestra la diferencia de cada modelo con respecto al modelo con menor AIC ( $\Delta$ ), y los pesos de Akaike resultantes ( $\omega$ ).



**Figura 1. Influencia del modelo de evolución en el análisis filogenético.** El mismo conjunto de datos analizado mediante 24 modelos diferentes resulta en 5 topologías distintas (representadas por distintos colores).



**Figura 2. Estimación de una filogenia multimodelo.** El árbol filogenético mostrado es el consenso de los 24 árboles mostrados en la Figura 1, promediados por sus correspondientes pesos de Akaike (Tabla 1). Los valores sobre las ramas son una medida de la incertidumbre debida al modelo, de forma que consisten en la suma de los pesos de los de modelos que resultaron en árboles con esa rama/nodo particular. Estos valores van de 0 a 100, dónde 100 es la máxima certidumbre.

**3.4. Aplicaciones empíricas.** Se analizó un alineamiento de 10 secuencias nucleotídicas del locus de MHC en trucha. El análisis con 24 modelos distintos (Tabla 1) proporciona 24 árboles de máxima verosimilitud con 5 topologías diferentes (Figura 1). Mediante la técnica de promediado de modelos se construyó un árbol filogenético a partir de los 24 árboles individuales, robusto y con poca ambigüedad con respecto a los modelos (Figura 2).

#### 4. CONCLUSIONES

Dado que el uso de un modelo u otro de evolución molecular puede cambiar los resultados del análisis evolutivo a partir de secuencias de ADN o proteínas, es importante elegir un buen modelo entre los distintos disponibles. Distintas herramientas como jModelTest o ProtTest (<http://darwin.uvigo.es>) facilitan la elección del modelo que mejor se ajusta a un set de datos particular, y proporcionan diferentes instrumentos para la cuantificación de la incertidumbre en la elección de modelo, para la inferencia multimodelo de distintos parámetros incluyendo el árbol filogenético, y para la propia descripción del proceso de evolución molecular.

**5. AGRADECIMIENTOS.** A lo largo de estos años este trabajo y otros relacionados han sido financiados por la Universidad de Vigo, Xunta de Galicia, y diferentes encarnaciones del Ministerio de Ciencia español.

#### 6. REFERENCIAS

1. Posada, D. and K.A. Crandall. 2001. Selecting models of nucleotide substitution: an application to human immunodeficiency virus 1 (HIV-1). *Molecular Biology and Evolution* 18: 897-906.
2. Posada, D. and K.A. Crandall. 2001. Simple (wrong) models for complex trees: a case from retroviridae. *Molecular Biology and Evolution* 18: 271-275.
3. Posada, D. and K.A. Crandall. 2001. Selecting the best-fit model of nucleotide substitution. *Systematic Biology* 50: 580-601.
4. Posada, D. 2001. The effect of branch length variation on the selection of models of molecular evolution. *Journal of Molecular Evolution* 52: 434-444.
5. Posada, D. and T.R. Buckley. 2004. Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of akaike information criterion and bayesian approaches over likelihood ratio tests. *Systematic Biology* 53: 793-808.
6. Sullivan, J. and P. Joyce. 2005. Model selection in phylogenetics. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 36: 445-466.
7. Posada, D. and K.A. Crandall. 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817-818.
8. Posada, D. 2006. ModelTest Server: a web-based tool for the statistical selection of models of nucleotide substitution online. *Nucleic Acids Research* 34: W700-703.
9. Posada, D. 2008. jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25: 1253-1256.
10. Abascal, F., R. Zardoya, and D. Posada. 2005. ProtTest: selection of best-fit models of protein evolution. *Bioinformatics* 21: 2104-2105.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Sullivan, J., and P. Joyce. **2005**. Model selection in phylogenetics. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, 36: 445-466.
- Posada D. **2009**. Selecting Models of Molecular Evolution. Chapter 10. En: *The Phylogenetic Handbook*, 2ª edición. Cambridge University Press.
- Posada D. **2009**. Selection of models of DNA evolution with jModelTest. *Bioinformatic analysis of DNA sequences*. Posada, D. (ed.). Humana Press

---

# 1.2

## Temporal Aspects of Gene Evolution

**M. Mar Albà**

*Evolutionary Genomics Group. Research Unit on Biomedical Informatics. Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats. Fundació Institut Municipal d'Investigació Mèdica, Universitat Pompeu Fabra. Barcelona 08003, Spain.*

### ABSTRACT

The molecular clock hypothesis states that the rate of molecular change is constant. However, there is ample evidence indicating that gene evolution can accelerate or decelerate in particular lineages or evolutionary periods. Here we analyse how changes in natural selection pressures can lead to changes in the rate of gene evolution. We focus on three main aspects: identification of shifts in the speed of evolution of orthologous genes, the selective forces acting on recently duplicated genes and, the implications of the inverse relationship between gene age and evolutionary rate.

### 1. BACKGROUND

In the early sixties the first comparisons between homologous protein sequences could be performed. It was soon noted that the number of amino acid differences between two proteins were approximately proportional to the species divergence time that could be inferred from the fossil record. This observed constant rate of evolution was termed the molecular clock (1). The concept of the molecular clock has been extremely useful for phylogeny reconstruction since it allows estimating divergence times for ancestors for which no reliable fossil record exists. However, the analysis of an increasingly larger number of protein sequences has shown that the constancy of the evolutionary rate is often violated (2). There are two main reasons for this. The first one is related with the specific characteristics of the species or group of species under study, including its generation time, population size and rate of correction of DNA replication errors. For example, the number of fixed nucleotide substitutions per time unit in the mouse lineage is approximately double the number observed in the human lineage, which might be related to the short generation time of rodents compared to primates. The second reason for deviations from the molecular clock is related with the level and type of selection that operates in each gene and lineage. For example, partial loss of function of a protein in a given lineage might lead to an increased rate of amino acid replacements as a result of relaxation of the evolutionary constraints.

Nucleotide mutations can be neutral, deleterious or adaptive, depending on how they affect the fitness of the individual. Neutral mutations are probably the most abundant in genomes and can become fixed in populations by chance,

formally termed genetic drift (3). In coding sequences, however, many of the mutations that result in amino acid replacements are deleterious. These mutations tend to be eliminated from populations through the so-called negative or purifying selection. Mutations that are advantageous for the individual have a high probability of being fixed. They are subject to positive or adaptive selection, sometimes also called Darwinian selection.

The strength of natural selection on gene coding sequences can be measured by comparing the number of substitutions that involve amino acid replacements to those that do not involve such replacements accumulated over a fixed time interval. For example the mutation from T to C in the context of the second position of the codon GTT will result in a change from valine to alanine. This will be a non-synonymous substitution. In contrast, the same mutation in the context of the third codon position will be synonymous, due to the degenerate nature of the genetic code. Given a multiple sequence alignment and a phylogenetic tree topology relating the sequences we can estimate the number of non-synonymous substitutions per non-synonymous site (dN or  $K_a$ ), and of synonymous substitutions per synonymous site (dS or  $K_s$ ) in the different branches of the tree. Maximum likelihood methods have become very popular for dN and dS estimation (4 and references therein). In the absence of selection, dN/dS (or  $\omega$ ) is expected to be 1. In coding sequences  $\omega$  values are generally much smaller than 1, indicating that negative selection predominates. In the case of recurrent positive selection dN/dS may be higher than 1.

## 2. OBJECTIVES

The first objective of this work is to define strategies for the identification of shifts in the intensity and type of selection in different branches of a gene's evolutionary tree, using sequence comparisons of orthologous or paralogous genes. The second objective is to discuss the possible existence of directionality in protein evolution.

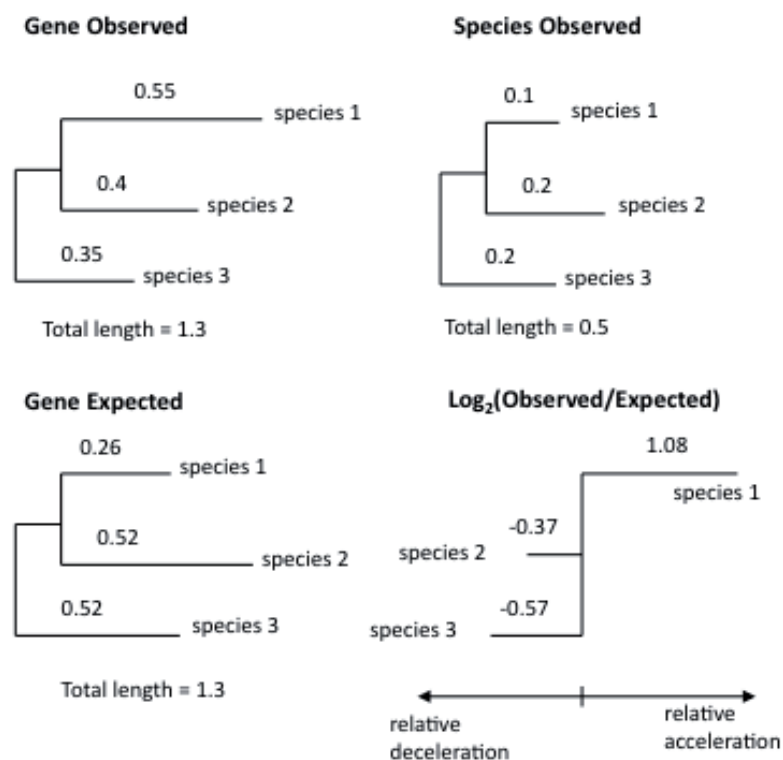
## 3. RESULTS

**3.1. Lineage-specific shifts in the strength of natural selection.** Lineage-specific changes in the gene's selective regime are of great interest since they may be related to lineage-specific gene functional shifts and/or to adaptive evolution. For example, the acquisition of a new function is expected to increase the level of negative or purifying selection acting on the protein, as more residues may become engaged in the protein's function. This will be reflected in a decrease of the dN/dS values in the corresponding branch of the tree (evolutionary rate deceleration). In contrast, an increase in the dN/dS values (evolutionary rate acceleration) may be indicative of a relaxation of negative selection, for example due to loss of a molecular interaction, or could also reflect the fixation of advantageous mutations driven by positive selection.

The strategy to calculate branch-specific gene evolutionary rate deviations is schematized in Figure 1. For a given gene, we can estimate branch-specific dN/dS values (Gene Observed) and compare them to the dN/dS



values obtained using a concatenated alignment of a representative subset of the genes (Species Observed). Next, we calculate the values we would expect given the general species differences and the typical speed of evolution of this particular gene (Gene Expected). The relative length of the branches in the Gene Expected tree will be the same as in the Species Observed tree, but scaled up so that the sum of the branches will be that of the Gene Observed tree (1.3 in the example of Figure 1). Finally, by calculating the logarithm of the ratio between the observed and expected dN/dS rates we can measure the degree and direction of the differences in dN/dS between different branches. A gene that deviates little from the general tendency will have values close to 0, whereas a gene showing marked evolutionary rate variations across lineages will have large positive and/or negative values. In the example of Figure 1, the patterns of gene evolution are strongly distorted with respect to what is expected. In particular, the branch leading to species 1 is strongly accelerated with respect to the branches of species 2 and 3. The existence of positive selection in this branch could be explored by comparing the maximum likelihood values obtained under evolutionary models that assume that some sites in a given branch evolve under positive selection versus models that do not consider this possibility (4).



**Figure 1. An hypothetical orthologous gene tree.** Branch length corresponds to the non-synonymous to synonymous substitution rate ratio (dN/dS). Species Observed is obtained using a concatenated alignment or a large number of sequences. Observed/Expected is obtained by dividing each branch of Gene Observed by Gene Expected.

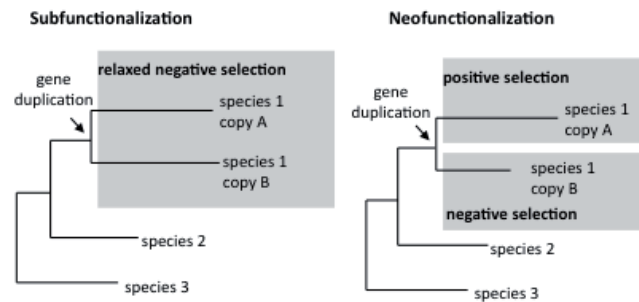
The procedure outlined above was recently used to study the relative protein substitution rate changes in 744 protein families from 30  $\gamma$ -proteobacterial species (5). In order to differentiate between species-specific effects and gene-specific effects, the rates at each branch were normalized by the values obtained using a concatenated alignment of 80 proteins. A substantial number of genes showed deviations from the expected values. For example, several glycolysis genes from *Idiomarina loihiensis* showed accelerated evolution. This result was interpreted in terms of a relaxation of negative selection given the disuse of sugar as a carbon source in this deep-sea bacterium.

**3.2. Shifts in the strength of natural selection as a consequence of gene duplication.** The process by which an extra copy of a gene is formed in the genome is called gene duplication. In most cases it is driven by unequal crossover, although in some instances intron-less copies are generated by mRNA retrotransposition. After a gene duplication event, the most frequent fate of one of the redundant gene copies is to degenerate by the accumulation of inactivating mutations (pseudogeneization). In some cases, however, the two copies survive and start a gradual process of sequence divergence. Two main scenarios have been proposed for the maintenance and diversification of two recently formed paralogous genes: subfunctionalization and neofunctionalization (6). The first one postulates that the two gene copies are free to incorporate mutations as long as the cellular function is maintained. For example if the ancestral protein is performing two different functions (e.g. interacting with two different partners) each of the two daughter copies may become specialized in one of the functions. In contrast, neofunctionalization implies gain of a new function by one of the copies, whereas the other copy retains the ancestral function. One well-known example of neofunctionalization is  $\alpha$ -lactalbumin. This protein, which converts galactosyltransferase to lactose synthase in mammary glands, is derived from a duplication of a lysozyme before the mammalian radiation.

In the absence of protein functional data, how can we distinguish subfunctionalization from neofunctionalization? In both cases we expect to find accelerated evolutionary rates in the period following the gene duplication event. However, under subfunctionalization both gene copies are expected to exhibit accelerated rates due to relaxed negative selection (Figure 2). In contrast, under neofunctionalization only one copy is expected to show strong acceleration, driven in this case by positive selection. Unless  $dN/dS$  is significantly greater than 1, which is a clear signature of positive selection, it is difficult to distinguish between the two scenarios using the  $dN/dS$  ratio. However, as already mentioned in the previous section, it is possible to apply maximum likelihood based tests to examine whether the presence of sites evolving under positive selection is more likely than the absence of such sites (4).

Gene duplication may also lead to increased substitution rates in gene expression regulatory sequences. In multicellular organisms, this may lead to gain or loss of expression in a particular tissue or organ. In this context, under the subfunctionalization model we should find that the two copies show

complementary expression patterns (7). In contrast, neofunctionalization would imply copy-specific gain of expression in one or more tissues.



**Figure 2. Effect of gene duplication on gene evolutionary rates under the subfunctionalization and neofunctionalization models.** Tree branches correspond to the non-synonymous to synonymous substitution ratio ( $dN/dS$ ). Relaxed negative selection and positive selection are associated with an acceleration of the evolutionary rates.

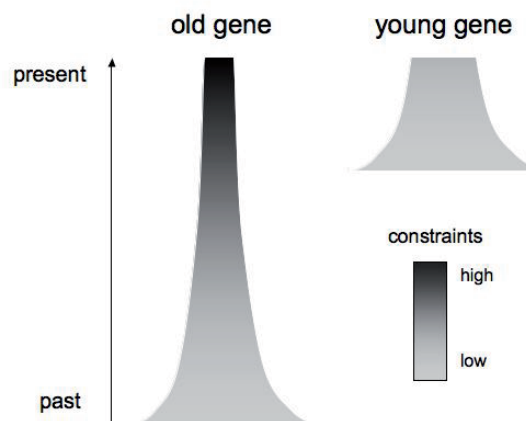
To learn about this, we have recently investigated tissue expression divergence among primate and rodent-specific duplicated genes. We used orthologous and paralogous gene data available at the Ensembl Compara database. Around one fourth of the gene families showed some degree of tissue expression complementarity and up to half of them showed putative *de novo* tissue expression (Domènec Farré and Mar Albà, unpublished data). Often, the two types of patterns were found in the same gene family, denoting that the two models are not incompatible. Another group of duplicated genes showed highly redundant expression patterns. These genes were generally expressed in all or nearly all tissues (housekeeping expression) and were well-conserved at the protein sequence level. One possibility is that they have been retained due to increased gene dosage advantage. In this scenario, gene duplication would not be associated with functional diversification, at least in its initial stages, but would be a mean to increase the expression of the gene.

**3.3. Do evolutionary constraints increase along a gene's evolutionary history?** In 1986, Dolittle and co-workers observed that “some of the most ancient proteins are evolving very slowly” (8). This has two important implications. The first one is that some proteins are more ancient than others and so that there is an ongoing process of novel gene formation. The second one is that there may be a general correlation between the age of a gene and its evolutionary rate, a property that can now be tested using genomics data.

We have investigated the relationship between gene age and evolutionary rate in a collaborative work with Jose Castresana (Institute of Molecular Biology of Barcelona, CSIC). We built groups of human genes of different age using sequence similarity searches, and then compared the distribution of evolutionary rates in human and mouse orthologues across

different gene age groups (9). We found that older groups of genes showed increasingly lower evolutionary rates. For example human genes classified as “tetrapods”, with no homologues in chicken or more distant species, showed an average dN/dS between human and mouse of 0.3, whereas genes with homologues in all eukaryotes analyzed showed an average dN/dS of 0.08. Importantly, the differences between age groups could also be observed when we compared proteins involved in similar functions indicating that the evolutionary rate differences were not merely due to biases in gene function in old *versus* young genes.

What do these differences mean? The high evolutionary rates of young genes indicate that they are subject to weak evolutionary constraints compared to older genes, in other words, that they are more free to evolve. Therefore, the fact that increasingly older genes tend to show increasingly lower evolutionary rates might mean that the evolutionary constraints of a protein tend to increase with time (Figure 3). Very old proteins (e.g. histones, ribosomal proteins, etc.) exhibit a relatively low capacity to change, we might say that they are evolutionary “frozen”. So the time past since a gene has arisen is strongly associated with its capacity to continue to evolve (Figure 3). This implies that when sufficiently long time spans are considered, the rates may tend to decrease from the base to the terminal branches of a phylogenetic tree. With the increasingly higher coverage of genome space expected in the next years, we may be able to test this prediction.



**Figure 3. Increase of evolutionary constraints along a protein's history.** Higher constraints will be reflected in lower evolutionary rates. Width represents the speed of evolution.

But, how do novel genes arise? As mentioned before, many new genes arise by gene duplication. Generally, however, the gene copies retain sufficient similarity for homology to be detected, at least in comparisons among closely related species such as vertebrates. Therefore, other mechanisms might exist to

explain the existence of the large number of genes showing a narrow phylogenetic distribution. In a recent work, we focused on the analysis of the subset of human genes that have homologues in chimpanzee and macaque, but lack homologues in other mammalian (or eukaryotic) species (10). In agreement with our previous results, we found that such primate-specific genes showed very high evolutionary rates, reflecting highly relaxed purifying selection and possibly also positive selection. Regarding their origin, we found that around one fourth of these genes showed evidence of having originated by gene duplication, although in some cases only part of the sequence was derived from a duplication event and the rest was novel, which helps explain why the homology with genes from other organisms had not been initially detected. The majority of the remaining orphan genes was located in primate-specific genomic regions and often contained sequences derived from Alu-type transposable elements. Other genes showed evidence of having arisen directly from non-coding mammalian genomic regions. This study provided evidence that processes of novel gene formation other than gene duplication are not uncommon.

Summarizing, we might consider that a genome is a mosaic of genes of different age. Some parts are very old and static and might impose limitations on the future evolution of the system. Other parts are more novel and flexible, and are associated with molecular innovation. These young genes can accumulate more neutral mutations, which may turn out to be useful when the conditions change, and are thus more evolvable. Interestingly, the old static parts will once have been novel genes, probably endorsed with a much greater capacity to change than at present.

#### 4. CONCLUSIONS

Deviations from the protein molecular clock are widespread. Aside from population and species-specific factors, changes in the strength and type of selection will affect the speed at which one gene evolves. It is possible to identify these changes by using measurements of non-synonymous and synonymous substitutions rates on the branches of the evolutionary tree. Gene duplication will also distort the molecular clock, as the new gene copies will often go through a period of accelerated evolution. New genes are constantly forming in genomes. The speed of evolution of these genes is much higher than the speed of evolution of genes that have been around for a long time. This suggests that the pace of evolution of a gene tends to decrease with time.

**5. ACKNOWLEDGEMENTS.** I am specially indebted to Jose Castresana, Macarena Toll-Riera and Domènec Farré for very fruitful scientific collaborations over the past years.

## 6. REFERENCES

1. Zuckerkandl, E. and Pauling, L. **1965**. Evolutionary divergence and convergence in proteins. In *Evolving Genes and Proteins*, pp. 97-166. V.Bryson and H.J. Vogel, Ed. Academic Press, New York.
2. Ayala, F.J. **2000**. Neutralism and selectionism: the molecular clock. **Gene** 261: 27-33.
3. Kimura, M. **1968**. Evolutionary rate at the molecular level. **Nature**, 217: 624-626.
4. Yang, Z. **2007**. Phylogenetic analysis by maximum likelihood. **Molecular Biology and Evolution**, 24: 1586-1591.
5. Shapiro, B.J., Alm, E.J. **2008**. Comparing patterns of natural selection across species using selective signatures. **Plos Genetics**, 4: e23.
6. Hughes, A.L. **1994**. The evolution of functionally novel proteins after gene duplication. **Proceedings of the Royal Society**, 256: 119-124.
7. Force, A. *et al.* **1999**. Preservation of duplicate genes by complementary, degenerative mutations. **Genetics**, 151: 1531-1545.
8. Doolittle, R.F. *et al.* **1986**. Relationships of human protein sequences to those of other organisms. **Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology**, 1: 447-455.
9. Albà, M.M. and Castresana, J. **2005**. Inverse relationship between evolutionary rate and age of mammalian genes. **Molecular Biology and Evolution**, 22: 598-606.
10. Toll-Riera, M. *et al.* **2009**. Origin of primate orphan genes: a comparative genomics approach. **Molecular Biology and Evolution**, 26: 603-612.

## 7. RECOMMENDED READING

- Ohno, S. **1970**. *Evolution by gene duplication*. Springer-Verlag. New York.
- Hughes, A.L. **1999**. *Adaptive evolution of genes and genomes*. Oxford University Press. Oxford, New York.
- Page, R.D.M. and Holmes, E.C. **1998**. *Molecular Evolution. A phylogenetic approach*. Blackwell Science. Oxford.

---

# 1.3

## Evolution of Splicing

Manuel Irimia<sup>1</sup> and Eduardo Eyras<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> *Departament de Genètica, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, E08028 Barcelona, Spain.* <sup>2</sup> *Computational Genomics Group, Universitat Pompeu Fabra, PRBB, E08003 Barcelona, Spain.* <sup>3</sup> *Catalan Institution for Research and Advanced Studies (ICREA), E08010 Barcelona, Spain*

### ABSTRACT

Introns are important hallmarks of eukaryotic genes. Splicing of these introns is a key step in eukaryotic gene expression and its variation, called alternative splicing, is the most important generator of protein diversity in animals. Splicing is directed by signals in the precursor messenger RNA (pre-mRNA) that are recognized by a complex molecular machinery called the spliceosome. Despite the ancestral origin of introns and the spliceosome, there is a great variability of intron-exon gene structures and considerable differences in the splicing machinery across eukaryotic lineages. It is not yet completely understood how these changes took place and what evolutionary forces have driven them. In this article we review several studies aiming to shed light on the evolution of splicing and describe the current hypotheses for the origin and evolution of eukaryotic splicing.

### 1. BACKGROUND

**1.1. Introns: an evolutionary enigma.** In contrast to prokaryotes, typical eukaryotic genes are interrupted by non-coding sequences called introns, which have to be removed from the pre-mRNAs before translation of the mature transcripts. In all eukaryotes, introns are removed by the spliceosome, a highly complex ribonucleoprotein machinery, and are thus called "spliceosomal introns" in contrast to the "self-splicing introns", present in small numbers in some prokaryotic and organellar genomes.

Perhaps the most intriguing evolutionary question concerning introns is the reason for their very existence. Why are introns breaking genes in pieces? And, could they maybe have a general function? Some specific introns are known to be involved in the regulation of expression, but there is no consensus among researchers on whether introns play any universal role. It has been suggested that introns may be beneficial by buffering deleterious mutations or by serving as recombination points. However, the (nearly) absence of introns in some eukaryotic species argues against an advantageous role. Indeed, introns likely impose a burden in terms of energy cost: they must be transcribed, spliced out from pre-mRNAs and replicated during cell division, and in some species introns are more than ten times more abundant than coding sequences. Therefore, the origin and persistence of introns is still an evolutionary enigma.

Since their discovery in 1977, early research and debates were focused on the timing of intron origins -- whether they appeared before the origin of eukaryotes (introns early) or along the eukaryotic lineage (introns late). This debate lasted for nearly 25 years and became one of the hottest debates in the history of evolutionary biology; but, ironically, also one supported with the fewest data, since major questions of intron evolution require heaps of genomic data. In the last five years, with the revolution of whole genome sequencing and comparative genomics, there is increasing evidence supporting a model where spliceosomal introns originated in the early or the pre- eukaryotic ancestor from type-II self splicing introns from the mitochondrial endosymbiont. Recent research has now moved to investigate the evolutionary history of introns across eukaryotes, including the dynamics of intron loss and gain and the evolution of intron structures and splicing factors in the different eukaryotic lineages.

**1.2. Introns and the tree of life.** The Human Genome Sequencing Project (1) revealed the existence of around 200,000 introns, with an average of almost 10 introns per gene, comprising a quarter of the whole human genome sequence. Subsequent vertebrate genome projects found a similar number of introns, which appeared significantly higher than in other typical animal model systems, as flies or worms. This initially suggested a correlation between intron number and organism complexity. However, the sequencing of less derived (i.e. slow evolving) species, as the cnidarian *Nematostella vectensis*, the lancelet or polychaetes, showed that early animals harboured intron densities compared to those of vertebrates, and that little intron loss and gain has occurred in several animal lineages from cnidarians to mammals.

The avalanche of full genome sequences has helped clarifying the evolutionary history of spliceosomal introns in other eukaryotic groups. Introns have been found in nearly all surveyed eukaryotic species, spanning all eukaryotic kingdoms. However, the number of introns per gene vary widely across lineages, ranging from less than 10 in the whole genome of some unicellular eukaryotes to the nearly 10 per gene in vertebrates. Extensive comparative genomics thus reveals repeated episodes of intron gain and loss across the eukaryotic tree, with some extreme examples independently undergoing nearly complete intron loss, as is the case of the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*.

Overall, these results have yielded some surprising conclusions. Firstly, intron loss tends to dominate intron dynamics in eukaryotic history, being much more common than intron gain in recent evolution of most lineages. Secondly, early eukaryotic ancestors seem to have been at least moderately intron-rich, with intron densities similar to some extant species, as flies. Indeed, comparison of the basic spliceosomal components in different eukaryotic lineages has shown that all eukaryotes have a common spliceosomal machinery, which was already quite complex in the last common ancestor of extant eukaryotes (2). Finally, as with intron densities, splicing signals and factors also vary widely across different eukaryotic groups.

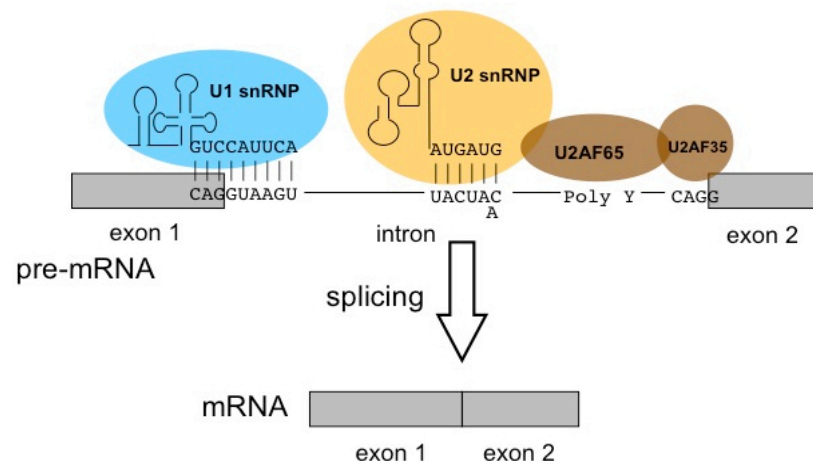


## 2. OBJECTIVES

Here we review these studies, with special emphasis on the evolution of intron signals and the mechanism of splicing. We will first introduce the elements that allow intron recognition and splicing, and how they interact with each other, and then we will describe how these elements and intron numbers have co-evolved along eukaryotic evolution.

## 3. RESULTS

**3.1. Splicing factors and intron structures.** The spliceosome consists of more than 300 proteins and 5 small nuclear RNAs (snRNAs). Each of the snRNAs (U1, U2, U3, U4 and U6) requires the association with proteins to form a ribonucleoprotein called snRNP. The splicing reaction in eukaryotes is generally triggered by the direct interaction of the spliceosome with four basic splicing signals: the 5' (5ss) and 3' (3ss) splice-sites, which delimit the separation between exons and introns, the branch-site (BS) and the poly-pyrimidine tract (PPT), which is located upstream of the 3ss (Figure 1).



**Figure 1. First step of splicing.** The determination of the splice-sites takes place by the recognition of signals on the pre-mRNA by molecules of the spliceosome, namely, the 5' splice site (CAG|GUAAGU) is recognised by U1 snRNP; the 3' splice-site (CAG|G) by U2AF35; the branch site (UACUAAC) by U2 snRNP; and the poly-pyrimidine tract (PPT) by U2AF65.

This initial recognition takes place by the interaction of the U1 snRNP with the 5ss, the dimer U2AF, composed of U2AF65 and U2AF35, with the PPT and 3ss, respectively, and the U2 snRNP with the BS (Figure 1). Splice-sites can be classified according to their strength (i.e. adherence to a sequence consensus, Figure 2), since the specificity of these interactions is determined by the base-

pairing between the snRNA and the pre-mRNA and by the preference of the U2AF65 subunit to bind multiple pyrimidines.

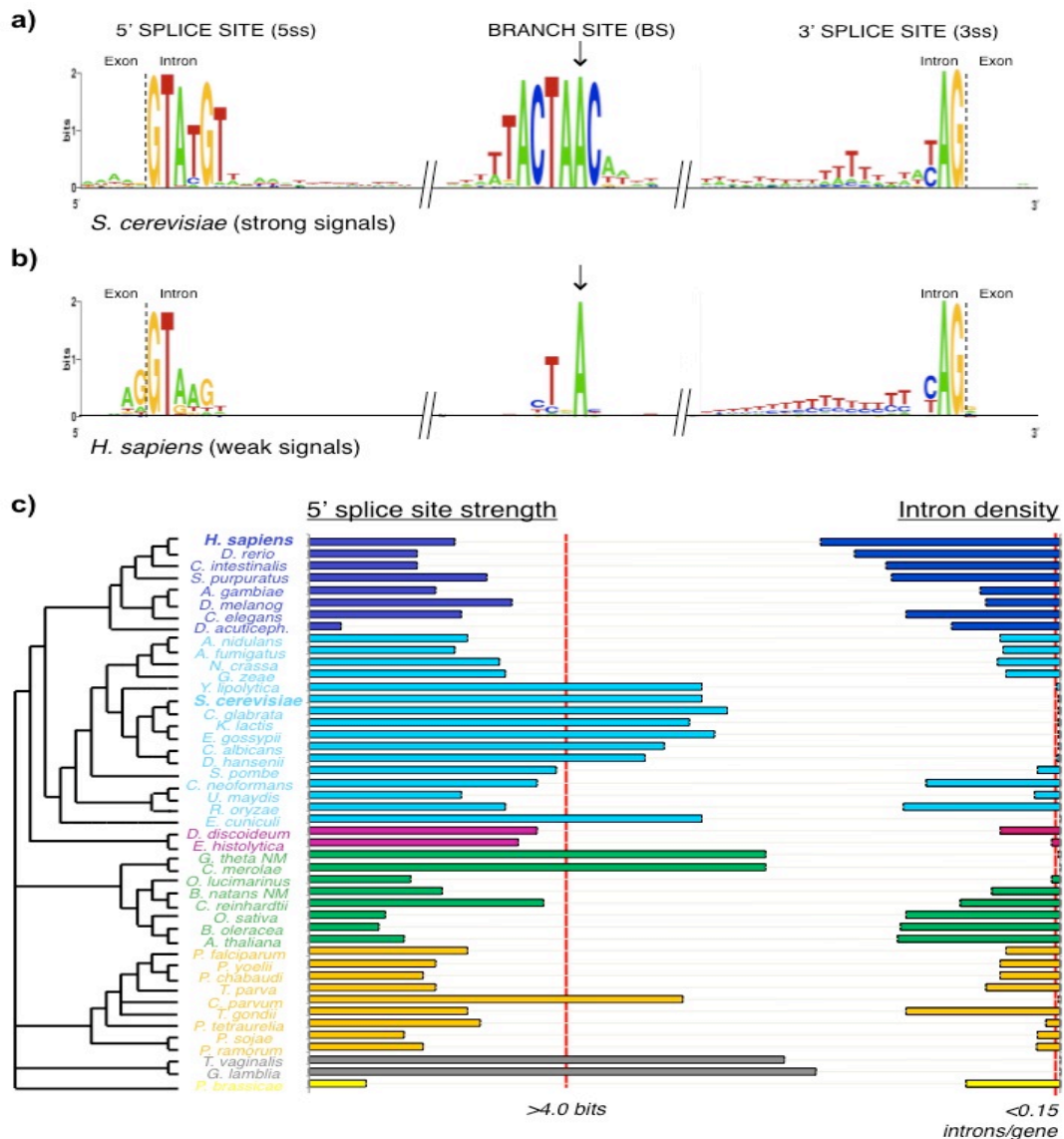
Some eukaryotic species, like *S. cerevisiae*, have strong consensus over 6 nucleotides at the 5'ss and over 7 nucleotides at the BS (Figure 2a). In contrast, metazoans, plants and most eukaryotic species have much weaker consensus signals at both sites (Figure 2b).

To compensate for this divergence there are proteins called splicing factors, which can bind to motifs in the pre-mRNA called splicing enhancers. These can be exonic (exonic splicing enhancers or ESEs) or intronic (intronic splicing enhancers or ISEs) and function as activators of splicing, facilitating the recognition of exons. One of these factors is the family of arginine-serine (RS) rich proteins (SR proteins), which usually bind to ESEs. There are also silencers in exons (ESSs) and introns (ISSs), which function as repressors of splicing. These silencers are usually recognised by members of the family of heterogeneous nuclear ribonucleoproteins (hnRNPs) and generally block the recognition of splice-sites. Splicing factors typically contain one or more RNA binding domains (RBDs), which are mainly of two types, the RNA recognition motif (RRM) and the KH type. However, RNA specificity differs among RBDs. Some of them bind to well-defined motifs, whereas other recognize large variety of sequences, illustrating once more the divergent evolution of splicing signals. Furthermore, several experimental and computational analyses indicate that the pre-mRNA is densely packed with possible regulatory sequences, besides many potential splice-sites, highlighting the complexity of how gene structures are defined in the DNA.

**3.2. Coevolution of splicing factors and signals** Recent analyses have shown that weak consensus signals are widespread across eukaryotic groups, and that species with strong signals are usually exceptions within their groups (3-6). For instance, 5ss and BS are highly conserved in the Saccharomycetaceae but not in other fungi, as for example, *Rhizopus oryzae* and *Batrachochytrium dendrobatidis*. Species with strong consensus belong to widely diverged eukaryotic groups and are intermingled in the eukaryotic tree (Figure 2c), suggesting that they have convergently strengthened their splicing signals. Interestingly, the U1 and U2 snRNA sequences complementary to the 5ss and BS, respectively, are conserved across eukaryotes. Thus, the variability observed in these signals cannot be (entirely) due to differences in the base pairing with the corresponding snRNA.

Similarly, the PPT is variable across eukaryotes. Metazoans and plants tend to have long tracts between the BS and the 3ss, whereas fungi have weaker ones and often in other regions of the introns. Differences in PPT strength and distribution may be explained by the presence or absence of the corresponding factors and by their sequence evolution.

In *S. cerevisiae*, for instance, there is not always a PPT signal between the BS and the 3ss, which agrees with the fact that the homolog of U2AF65 in this species, MUD2, lacks the PPT binding domain. Indeed, not only in yeast, but also across a wide range of eukaryotic species, changes in the PPT signal correlate with changes in key residues in the domains in U2AF2 (4).



**Figure 2. Splicing signal evolution across eukaryotes.** **a)** Intron sequences in the budding yeast *S. cerevisiae* show strict adherence to a sequence consensus. Three main signals are shown: 5' splice site, branch site (the arrow indicates the active adenosine) and 3' splice site. **b)** Sequence profile for the same signals in human, showing much weaker consensus. **c)** Eukaryotic tree with representative species showing differences in 5ss strength and intron densities. 5ss strength is measured as information content (IC) of the sequence consensus (in bits); higher IC indicates higher adherence to consensus. Intron densities are shown as average number of introns per gene (introns/gene). Cut-off of >4.0 bits and <0.15 introns/gene are used to designate strong signals and extremely intron poor species, respectively (red lines). Different colors represent different eukaryotic supergroups: fungi (light blue), animals (dark blue), amebozoans (purple), plants and green and red algae (green), chromoalveolates (orange), excavates (grey), rizharians (yellow). Based on (5).

Moreover, all organisms for which the U2AF heterodimer had retained its functionality contain strong PPT signals between the BS and the 3ss (4). On the other hand, the inability of U2AF2 to bind PPTs in some species, like

*Debaryomyces hansenii* and *Yarrowia lipolytica* agrees with the lack of PPT signals in these organisms. We also observed that a gradual decrease in the conservation of the RNA binding domains in U2AF2, with respect to human, correlates with the gradual decrease in strength of the PPT. In fact, various residues known to be critical for U2AF2 binding in metazoans are not conserved among fungi, which agree with the decreasing strengths of PPTs observed.

Indeed, not only in yeast, but also across a wide range of eukaryotic species, changes in the PPT signal correlate with changes in key residues in the domains in U2AF2 (4). Moreover, all organisms for which the U2AF heterodimer had retained its functionality contain strong PPT signals between the BS and the 3ss (4). On the other hand, the inability of U2AF2 to bind PPTs in some species, like *Debaryomyces hansenii* and *Yarrowia lipolytica* agrees with the lack of PPT signals in these organisms. We also observed that a gradual decrease in the conservation of the RNA binding domains in U2AF2, with respect to human, correlates with the gradual decrease in strength of the PPT. In fact, various residues known to be critical for U2AF2 binding in metazoans are not conserved among fungi, which agree with the decreasing strengths of PPTs observed.

SR proteins also show an interesting evolutionary pattern across eukaryotes. In metazoans there are nine families of SR protein coding genes and six of them have two or more members in mammals. In contrast, no SR proteins have been found in *S. cerevisiae* and only two are known in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. An evolutionary study with 22 eukaryotic species (Figure 3a) (6) showed that fungi and protists have SR protein homologs, but these do not correspond to more than 2 or 3 of the 9 known families (Figure 3b). Thus, the diversity of SR proteins seems to have increased in metazoans, and especially in vertebrates with the two rounds of whole genome duplication.

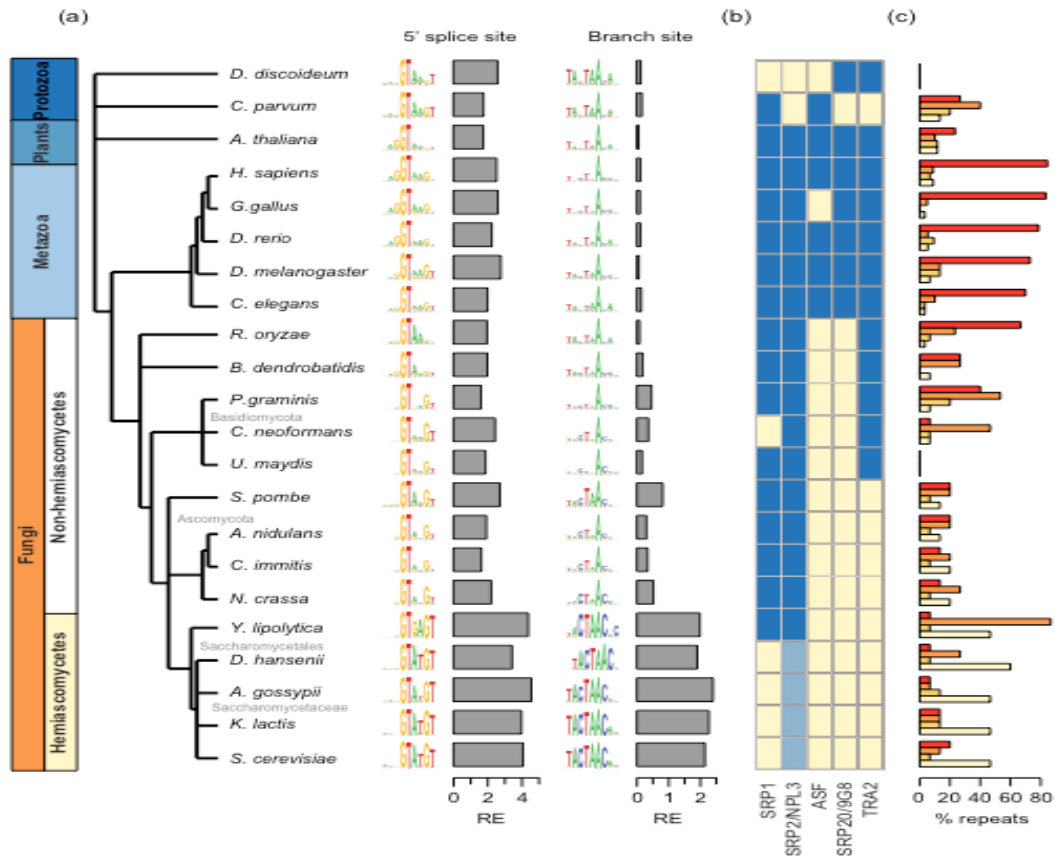
SR proteins have a typical domain structure consisting of one or two RRM domains at the N-terminus and one arginine-serine rich domain (RS domain) at the C-terminus. This RS domain has been described as a protein-protein interaction domain, but it can also contact the BS during spliceosome assembly and stabilize its recognition by the U2 snRNA, promoting the recognition of suboptimal BSs. The RRM domains are well conserved across eukaryotes, indicating that the ability to bind to RNA has been present in the ancestral eukaryote. However, the RS domain shows greater variability. All SR protein homologs have an R-rich region at the C-terminal, but in most fungi there are aspartic (D) and glutamic (E) acids instead of S, and in the group of the Saccharomycetales there was an expansion of arginine-glycine repeats.

Looking at the splicing signals, the degeneracy of both the 5ss and the BS appears to correlate with the presence of SR proteins and the density of RS repeats in their C-terminus (Figure 3c). Interestingly, species with highly conserved BS motif either lack SR proteins or their SR protein homologs have RD or RE repeats instead. This agrees with the proposed involvement of the RS domain in the stabilization of the BS recognition. Moreover, SR protein homologs lacking RS repeats may also be an indication that in some species they are not involved at all in splicing regulation.

These analyses suggest that splicing factors were present in the ancestral eukaryotes. Moreover, it appears that their ability to regulate splicing

has been expanded in metazoans and lost in some fungi during evolution. These results also suggest that the expansion of RS repeats in SR proteins played a significant role in the relaxation of the splicing signals and in the origin of regulated splicing.

**Figure 3. Co-evolution of splicing signals and SR proteins. (a)** For each species sequence logos of the 5ss (left) and the BS (right) are shown. The height of the letters represents the information content in bits at each position. Next to each logo, relative entropy values (RE) are



given (in bits), calculated with respect to randomized introns from the same species. **(b)** Three-colour heat-map indicating presence (dark blue) or absence (yellow) of SR protein homologs in each species for the families SRP1 (SC35, SRp46), SRP2 (SRp40, SRp55, SRp75), ASF (ASF, SRp30C), SRP20/9G8 and TRA2. No homologs were found outside metazoans and plants for the p54/SRp86, RY1, SRm300 and Topol-B families. Light blue indicates cases for which NPL3 homologs were found. **(c)** For each species, percentage of repeats in the C-terminus for the SRP2 and NPL3 homologs. Horizontal bars indicate the RS (red), RD (dark orange), RE (light orange) and RG (yellow) repeats in the C-terminus. The density is calculated as the maximum obtained using a 30-position sliding window in the C-terminal region beyond the 2<sup>nd</sup> RRM. Based on (6).

Interestingly, not only splicing signals and factors have co-evolved during eukaryotic evolution, but also the evolution of intron numbers seems to correlate with these patterns. A 50-species genome-wide survey of intron signals (5) showed that only the extremely intron-poor species (i.e. those species that have lost nearly all their introns) have evolved strong consensus splicing signals, in

contrast to intron-rich species (Figure 2c). In the case of 5ss, there is a one-to-one correspondence between intron number and signal strength, with all extremely intron-poor species have evolved strict adherence to sequence consensus (3). These intron-poor species belong to different eukaryotic groups and have therefore convergently evolved similar splicing features, suggesting that general evolutionary forces act on the evolution of introns and splicing in all eukaryotic groups.

Importantly, these results also suggest that intron-rich eukaryotic ancestors had weak splicing signals, similar to modern plant and metazoans, which has important implications for the origin of alternative splicing (AS) and transcriptional variation.

**3.3. The origin and evolution of alternative splicing.** One of the most interesting phenomena associated with introns is the AS. AS consists in the differential processing of the introns and exons of a gene to generate different mRNA transcripts from the same gene. Through this mechanism, eukaryotic cells are capable of dramatically increasing their transcriptome and proteome complexity. Recent studies show that ~95% of human genes are alternatively spliced, and relatively high AS frequencies have also been described in many other species belonging to all major eukaryotic groups.

Widespread AS is associated with high intron densities and weak splicing signals, which are the properties that we have related above to the eukaryotic ancestors. Thus there is the possibility that AS originated early in evolution.

Furthermore, ancestral genes show high levels of AS in modern eukaryotes (7). On the other hand, it is uncertain the importance that AS had in early eukaryotic evolution. In animals, despite some (perhaps most) AS events are likely non-functional, this mechanism is known to be essential for several biological processes, ranging from sex determination to neural function, and have likely contributed to the evolution of organism complexity.

#### 4. CONCLUSIONS

Comparative genome-wide studies among a broad range of eukaryotes have concluded that eukaryotic ancestors already had complex spliceosomes and that their genes contained relatively high intron densities with weak splicing signals. Ancestral eukaryotic splicing thus seemed more similar to that observed in extant metazoans and plants than that from some unicellular organisms as yeasts, previously thought to represent the ancestral condition. Variations in the splicing properties have been related to the lifestyle of organisms and this may have triggered a simplification of the splicing machinery in some single cell eukaryotes. On the other hand, the proliferation of splicing factors during the evolution of eukaryotes, especially in metazoans, probably released the spliceosome from the efficient recognition of the splicing signals, allowing even further degeneracy of signals and wider usage of AS.

In conclusion, the study of splicing along eukaryotic history has shown that intron densities, splicing signals and factors have all co-evolved during the evolution of eukaryotes, together shaping genome architecture and influencing its function.

**5. ACKNOWLEDGEMENTS.** We would like to thank our collaborators, M. Plass, E. Agirre, J. Silva, G. Ast, S. Schwartz, F. Câmara, D. Reyes, S.W. Roy, J.L. Rukov and D. Penny, who participated in the work described in this manuscript. We thank M. Plass and K. Trachana for their comments on the manuscript. EE is funded by ICREA, Eurasnet and the Ministry of Science with grant BIO2008-01091; MI is funded the Ministry of Science and Innovation, through the FPI grant [BFU2005-00252].

## 6. REFERENCES

1. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001 Feb 15;409(6822):860-921
2. Collins LJ, Penny D. 2005. Complex spliceosomal organization ancestral to extant eukaryotes. *Mol Biol Evol*. 22(4):1053-66
3. Irimia M, Penny D, Roy SW. 2007. Co-evolution of genomic intron number and splice sites. *Trends Genet*. 23(7):321-5
4. Schwartz SH, Silva J, Burstein D, Pupko T, Eyraş E, Ast G. 2008. Large-scale comparative analysis of splicing signals and their corresponding splicing factors in eukaryotes. *Genome Res*. 18(1):88-103.
5. Irimia M, Roy SW. 2008. Evolutionary convergence on highly-conserved 3' intron structures in intron-poor eukaryotes and insights into the ancestral eukaryotic genome. *PLoS Genetics*. 4(8):e1000148
6. Plass M, Agirre E, Reyes D, Camara F, Eyraş E. 2008. Co-evolution of the branch site and SR proteins in eukaryotes. *Trends Genet*. 24(12):590-4.
7. Irimia M, Rukov JL, Penny D, Roy SW. 2007. Functional and evolutionary analysis of alternatively spliced genes suggests an early eukaryotic origin of alternative splicing. *BMC Evol Biol*. 7:188

## 7. RECOMMENDED READING

- Ast G. 2004. How did alternative splicing evolve? *Nat Rev Genet*. 5(10):773-82.
- Xing Y, Lee C. 2006. Alternative splicing and RNA selection pressure - evolutionary consequences for eukaryotic genomes. *Nat Rev Genet*. 7(7): 499-509.
- Izquierdo JM, Valcárcel J. 2006. A simple principle to explain the evolution of pre-mRNA splicing. *Genes Dev*. 20(13): 1679-84.

---

# 1.4

## La Colonización y la Hibridación como Factores de Evolución por Transposición

M<sup>a</sup> Pilar García Guerreiro y Antonio Fontdevila

*Grup de Biologia Evolutiva. Departament de Genètica y Microbiologia. Facultat de Biociències. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193. Bellaterra. Barcelona. España*

### RESUMEN

Los elementos transponibles (ETs) constituyen una fracción importante de los genomas de todos los organismos estudiados. La inducción de la movilización de estos elementos puede tener un origen espontáneo, o deberse a causas ambientales y fenómenos poblacionales como la hibridación interespecífica. Puesto que en la naturaleza individuos, poblaciones y especies tienen que enfrentarse a estos procesos, los ETs pueden haber tenido un impacto significativo en la evolución del genoma del huésped. Dado su carácter invasivo han sido a menudo considerados parásitos genómicos. Sin embargo, desde su descubrimiento también se ha pensado que pueden haber jugado un papel preponderante en la capacidad de las especies a adaptarse con éxito a los cambios ambientales, principalmente como elementos reguladores. En este capítulo nos centraremos prioritariamente en cómo los fenómenos colonizadores y de hibridación interespecífica inciden en las tasas de ocupación y transposición de los ETs. En particular, enfatizaremos su papel en la evolución del genoma ilustrando ejemplos de cambios en las tasas de ocupación de diferentes elementos transponibles durante la colonización de especies invasivas de *Drosophila*. Finalmente, mostraremos evidencias experimentales de aumentos de tasas de transposición durante cruzamientos interespecíficos en el mismo género de díptero.

### 1. INTRODUCCIÓN

Los elementos transponibles (ETs), descubiertos por Barbara McClintock hace ya más de medio siglo, son secuencias de DNA capaces de desplazarse (transponerse) en el genoma. Aunque representan una porción importante del genoma de casi todos los organismos, han sido considerados durante mucho tiempo como secuencias enigmáticas cuyo origen evolutivo estaba sujeto a la especulación. Parecía claro que los ETs cumplían las condiciones de elementos parásitos del genoma (invasión por multiplicación) y así fueron calificados inicialmente. Sin embargo, los sucesivos avances de la biología molecular comenzaron a revelarnos muy pronto diferentes vías a través de las cuales estos elementos parásitos pudieron haber sido co-optados por el genoma e influenciado su evolución. Este fenómeno, conocido como “domesticación molecular”, ha permitido que su dispersión a lo largo del tiempo entre diferentes especies genere un amplio potencial regulador en el genoma. Concretamente,



en el genoma humano, entre el 18 y el 33% de los sitios de unión de 5 importantes factores de transcripción corresponden a ETs. El grupo de genes controlados por estos factores de transcripción diferirá de unas especies a otras, pudiendo constituir un importante motor en la evolución y la diversificación de las mismas. Es necesario puntualizar que la magnitud de la implicación de los ETs en tanto que secuencias de valor evolutivo sea incluso mucho mayor de lo detectado hasta ahora, dado que muchos ETs se escinden dejando “trazas” en el genoma, cuyos cambios a través del tiempo los vuelve irreconocibles.

El efecto de los ETs no implica solamente a su papel de secuencias reguladoras, sino también a su acción mutagénica por inserción en secuencias codificadoras de genes, y en la producción de duplicaciones, inversiones y otras reordenaciones cromosómicas. Se calcula que en *Drosophila* el 80% de las mutaciones espontáneas visibles son debidas a inserciones de ETs, muchas de las cuales pueden ser deletéreas. Es interesante señalar que no todos los efectos mutacionales son adversos si no que se han reportado casos de inserciones adaptativas recientes que han podido contribuir a la adaptación de *D. melanogaster* durante su expansión desde el continente africano (1). Todas estas evidencias favorecen el papel adaptativo de los ETs.

La capacidad de movimiento de los ETs les confiere la posibilidad de insertarse en nuevos lugares del genoma y, por consiguiente, la capacidad de modificar la actividad tanto de los genes en los que se insertan como la de los genes colindantes. Además, la tasa de movilización (transposición) en el genoma puede incrementarse de forma extraordinaria bajo ciertas condiciones genómicas y ambientales asociadas a la colonización de nuevos hábitats y a la hibridación interespecífica. Durante los procesos de colonización, las especies se ven confrontadas a nuevas condiciones ecológicas, demográficas y, en general, ambientales que podrían inducir la transposición. Además, otra de las características de la colonización es la oportunidad de cruzamiento con las especies autóctonas. La hibridación es un proceso inductor de estrés genómico, tanto en animales como en vegetales, causante de inestabilidad genómica acompañada con frecuencia de incrementos de las tasas de transposición. Nuestros estudios en las especies invasivas *D. buzzatii* (2,3) y *D. subobscura* (4), que han colonizado el Viejo y el Nuevo Mundo, respectivamente, muestran unas altas frecuencias de ocupación de diferentes elementos transponibles en las poblaciones colonizadoras comparadas con las originales. Hay indicios también de que de manera paralela existe un incremento de las tasas de transposición hacia lugares cromosómicos determinados o “puntos calientes”.

Incrementos significativos de las tasas de transposición del retrotransposón *Osvaldo* han sido observados durante los cruces entre las especies hermanas *D. buzzatii* y *D. koepferae* (5, 6). Aunque la transposición por hibridación puede no conducir directamente a la especiación, es una fuente de variabilidad genética que bajo selección puede contribuir a una mejor adaptación y éxito de los híbridos en la naturaleza, y a su eventual especiación (7). Se desconocen con exactitud los mecanismos que inducen los fenómenos de transposición durante la colonización y la hibridación entre especies. Sin embargo, cada vez queda más patente la importancia del papel de los factores epigenéticos asociados a la conformación de la heterocromatina y a mecanismos de RNA de interferencia (RNAi) en la regulación de la

transposición. En híbridos, en los cuales los ETs presentaran una configuración diferente, no sería de extrañar que mostraran también patrones diferentes de regulación. Asimismo, las poblaciones colonizadoras sometidas a diferentes condiciones ambientales podrían verse afectadas por modificaciones epigenéticas implicadas en la transposición. Las interacciones de los ETs con el genoma huésped y el ambiente afectan al modo en que los genes codifican para caracteres fenotípicos que serán posteriormente detectados por la selección natural. Estos ejemplos constituyen una prueba de cómo la transposición puede verse inducida por fenómenos poblacionales y de hibridación y así contribuir al incremento de la variabilidad genética de las poblaciones y por ende a la evolución de las mismas.

## 2. OBJETIVOS

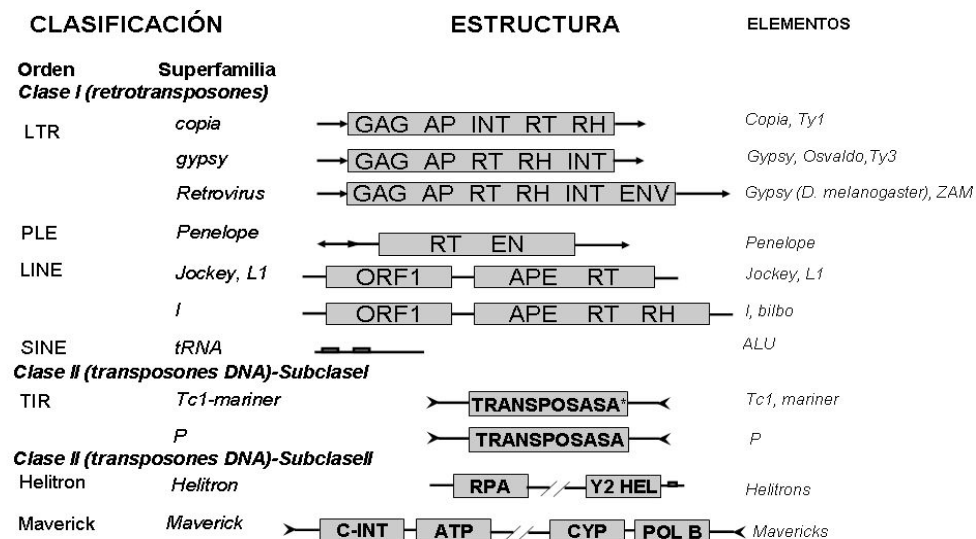
El objetivo de este capítulo es el estudio de los efectos de la colonización y la transposición interespecífica en la distribución y tasas de transposición de diferentes ETs en las especies colonizadoras *D. buzzatii* y *D. subobscura*. Si bien el papel de los ETs como factores promotores de mutación está bien aceptado, su implicación en la evolución de las especies es aún un tema de debate. Los fenómenos de colonización e hibridación a los cuales se ven sometidas las especies invasivas, son conocidos factores de estrés y como tales podrían contribuir a un incremento de las tasas de transposición de algunos elementos transponibles. Dado que la movilización de los ETs está estrechamente relacionada con incrementos de las tasas de mutación espontánea, podemos pensar que ciertas mutaciones podrían tener una ventaja selectiva y ser favorecidas contribuyendo así al potencial evolutivo de las poblaciones implicadas en estos fenómenos. Nuestra principal prioridad es comparar la distribución cromosómica de diferentes ETs en poblaciones originales y colonizadoras de *D. buzzatii* y *D. subobscura* a fin de comprobar si existen diferencias. Estos diferentes patrones de distribución serán contrastados con los modelos poblacionales derivados de los factores asociados a la colonización como la deriva genética fundadora y/o la inducción de las tasas de transposición en la colonización. Para completar la última parte de los objetivos se evaluará el efecto de la hibridación entre las especies *D. buzzatii* y *D. koepferae* en las tasas de transposición del retrotransposón *Osvado*.

## 3. RESULTADOS

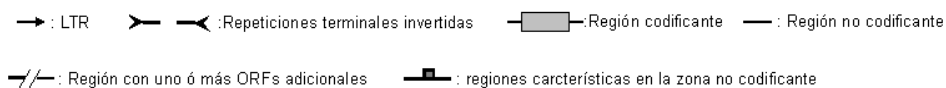
**3.1 Efectos de la colonización en la distribución de los ETs en especies invasivas de *Drosophila*.** Los ETs son importantes componentes del genoma que a lo largo de la evolución han contribuido sustancialmente al incremento del tamaño del mismo. Las diferentes oleadas de invasión y pérdidas de ETs pueden haber jugado un papel primordial en los procesos de especiación. La comprensión de los factores implicados en la distribución de los ETs en poblaciones naturales es un paso importante en la evaluación de su papel en la evolución. *D. buzzatii* es una especie originaria de Argentina y Bolivia que ha

colonizado la cuenca mediterránea (hace 300 años) y Australia (hace 70 años). Estas dos colonizaciones están asociadas a la propagación de especies de cactus del género *Opuntia*, en el Viejo Mundo (con sus insectos fitófagos) después del descubrimiento de América, y a la introducción masiva de insectos parásitos en cactus en descomposición para el control de la proliferación de *Opuntia*, en Australia. En cambio, *Drosophila subobscura* es una especie paleártica con un rico polimorfismo de inversiones y una amplia distribución en Europa, que ha colonizado el continente americano hace sólo 30 años, probablemente debido a la actividad comercial humana. Ambas especies han mostrado una rápida expansión y adaptación a los nuevos ambientes colonizados.

Hace más de una década, basándose en estudios poblacionales con *Drosophila melanogaster*, la idea generalmente aceptada era que la tasa de ocupación de los ETs era baja debido a su efecto negativo en la aptitud del hospedador. Hoy en día esta idea está cambiando en base a estudios que demuestran que algunos lugares en esta especie pueden tener un valor adaptativo (1), y a datos encontrados en otras especies de *Drosophila*.



**Características estructurales**



GAG: proteína de la cápside; AP: Aspartic proteasa; INT: integrasa; RT: Transcriptasa reversa; RH: RNasa H; YR: Tirosin recombinasa; ENV: proteína de envuelta; EN: Endonucleasa; ORF open reading frame de función desconocida; APE: Apurinic endonucleasa; TRANSPOSASA\*: transposasa con el motivo DDE; RPA: Proteína A de replicación; HEL: helicasa; C-INT: C integrasa; ATP: ATPasa de empaquetamiento; CYP: Cistein proteasa; POL B: DNA polimerasa B, Y2: Tirosin recombinasa con el motivo YY.

**Tabla: Clasificación de los ETs según su estructura molecular.** Los elementos se dividen en dos grandes familias de acuerdo a la presencia o ausencia de RNA intermediario durante el proceso de transposición. Cada clase se divide a su vez en subclases, órdenes y superfamilias.

Nuestros estudios con *D. buzzatii* se centran en la distribución de los elementos *Oswaldo* y *blanco*, dos retrotransposones con y sin LTRs, respectivamente, y con *D. subobscura* en los elementos *gypsy* y *bilbo* (véase Tabla de clasificación), también dos retrotransposones con y sin LTRs, respectivamente. Nuestros resultados muestran un patrón de distribución de estos ETs diferente entre poblaciones originales y colonizadoras. Mientras que las poblaciones originales presentan baja frecuencia de ocupación de ETs en la mayor parte de los lugares cromosómicos, en las poblaciones colonizadoras el perfil de ocupación es bimodal con lugares de alta y baja frecuencia.

El proceso de colonización de estas especies podría explicar también estas distribuciones diferenciales observadas. Una explicación posible es que la presencia de lugares de alta ocupación se deba al efecto de la deriva fundadora producido durante la colonización ya que solo afectaría a las poblaciones colonizadoras (ver más adelante). Además, en *D. subobscura*, caracterizada por un rico polimorfismo de inversiones, no se observan asociaciones entre inserciones específicas y ordenaciones cromosómicas en las poblaciones colonizadoras. Este resultado contradice en gran parte otra hipótesis explicativa de que los ETs se acumulan en regiones de baja recombinación tales como inversiones y puntos de rotura.

**3.2 ¿Hipótesis fundadora o inestabilidad de transposición durante la colonización?** En vista de los resultados previamente mencionados es evidente que la colonización afecta la distribución de los ETs. Nos planteamos dos hipótesis para explicar nuestros resultados: la hipótesis fundadora y la hipótesis inestable. La primera atribuye las diferencias de distribución de los ETs en poblaciones originales y colonizadoras a la deriva genética ocurrida durante el proceso fundacional que incrementaría la frecuencia de determinados lugares cromosómicos ya presentes en los individuos fundadores. La segunda presupone que durante la colonización se producen incrementos de las tasas de transposición debido a los cambios ambientales encontrados por los colonizadores. Aunque nuestros análisis poblacionales (2, 3, 4) sugieren repetidamente la hipótesis fundadora, para poder distinguir entre ambas hipótesis ha sido preciso un estudio molecular.

Para ello se secuenciaron diferentes copias del retrotransposón *Oswaldo* (dos de alta y una de baja ocupación) y sus regiones flanqueantes en diferentes poblaciones colonizadoras de *D. buzzatii* (8). Los lugares de alta ocupación contenían copias con deleciones e inserciones dentro del elemento, indicando que se trata de copias antiguas degeneradas. Las secuencias flanqueantes eran idénticas en las diferentes poblaciones estudiadas sugiriendo un origen común ocurrido durante el proceso fundador de la colonización. Además, la edad estimada de estas inserciones oscilaba entre 0.2 y 3 millones de años que es mucho mayor que la edad estimada de la colonización de la cuenca mediterránea por *D. buzzatii* (hace 300 años). Sin embargo, el lugar de baja ocupación tiene una LTR casi idéntica al elemento *Oswaldo* activo (aislado de un lugar de reciente transposición ocurrido en nuestro laboratorio), lo que sugiere que puede tratarse de un lugar de transposición reciente. Estos resultados constituyen la primera evidencia molecular de que la deriva fundadora puede ser el factor principal en la distribución de los ETs en poblaciones colonizadoras.

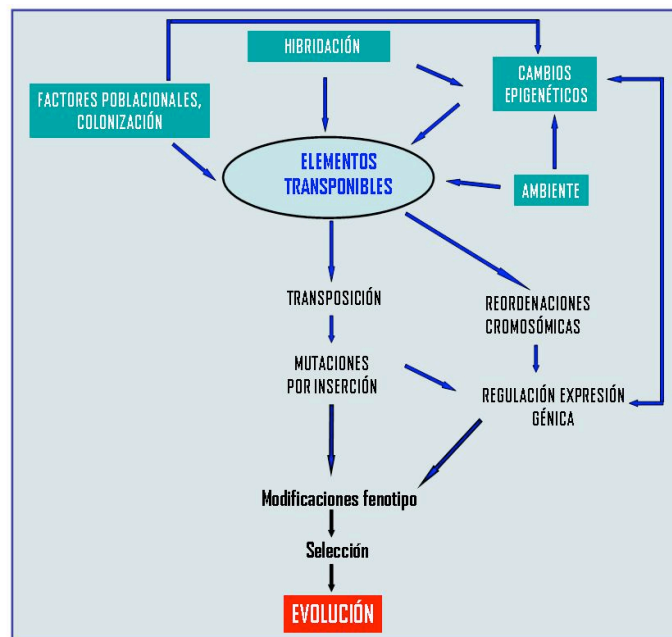
Sin embargo, no podemos descartar completamente la eventual existencia de fenómenos de transposición durante la colonización. Nuestros estudios más recientes muestran la existencia de un lugar de alta ocupación de *Osvaldo* común en poblaciones colonizadoras de Australia y de la Península Ibérica. Además, en *D. subobscura* se observan algunos lugares de mediana ocupación del elemento *bilbo* que son comunes para las poblaciones originales y colonizadoras. Estos lugares observados en ambas especies pueden constituir puntos de atracción para los ETs (puntos calientes) y están siendo objeto de estudio actualmente.

**3.3 El estrés genómico causado por hibridación como factor de evolución por transposición.** La inestabilidad genómica, observada por el incremento mutacional, asociada a la hibridación interespecífica fue señalada hace más de medio siglo en *Drosophila* y posteriormente en plantas y otras especies de dípteros. Sin embargo, no se apuntó la posibilidad de implicación de los elementos transponibles en estos episodios de inestabilidad genómica hasta 30 años después. La primera observación *directa* de incremento de tasas de transposición fue realizada por nuestro grupo de investigación en híbridos entre las especies hermanas *D. buzzatii* y *D. koepferae*. El cruce de estas dos especies produce machos estériles y hembras fértiles que retrocruzadas durante sucesivas generaciones dan lugar a individuos introgresados con secuencias de *D. koepferae* en un fondo genómico mayoritariamente de *D. buzzatii*. Nuestro grupo (5, 6) ha demostrado que la tasa de transposición de *Osvaldo* en estos individuos introgresados alcanza valores de  $10^{-2}$  transposiciones por elemento y por generación, un orden superior al de los individuos parentales ( $10^{-3}$ ). Estos eventos de transposición no parecen ocurrir de manera continua si no en forma de explosión de modo que no todos los individuos están afectados y los que lo están presentan varios eventos de transposición simultáneos.

El ejemplo de *Osvaldo* no constituye un caso aislado, sino que eventos de transposición asociados a cruces entre especies están a la orden del día en plantas, mamíferos y otras especies de dípteros. En efecto, la posibilidad de que la hibridación podría activar transposones inactivos como consecuencia de la reestructuración del genoma ya había sido señalada por Barbara McClintock. Además los ETs pueden predisponer el genoma a reordenaciones cromosómicas que faciliten la adaptación y la especiación. La transposición en híbridos tendría entonces un importante papel en la reorganización del genoma y, en condiciones ecológicas determinadas, podría contribuir a su adaptación mediante la fijación de nuevas reorganizaciones génicas. Esta adaptación permitiría a los híbridos establecerse preferentemente en determinados ambientes favoreciendo la persistencia de nuevas especies híbridas (7, 9).

Se desconocen con exactitud las posibles causas de las explosiones de transposición ocasionadas por estrés, tanto genómico como ambiental. A menudo, la acumulación de disfunciones en los híbridos ocurre no solo por la presencia de alelos incompatibles sino por un conjunto de procesos asociados a la activación de la transcripción de los ETs endógenos. Cuando dos genomas diferentes se combinan para formar un cigoto híbrido, éste debe de responder a un cambio masivo de los mecanismos regulatorios debido a este “shock genómico”. ¿Cuáles son entonces los mecanismos implicados en los procesos de transposición en los híbridos? Aunque se ha especulado mucho sobre ello,

hoy en día es prácticamente imposible separar el papel de la transposición de los mecanismos epigenéticos asociados. Los más importantes son los que afectan al silenciamiento génico post-transcripcional mediado por RNAs de interferencia cortos (siRNA), la metilación de las regiones promotoras y la remodelación de la cromatina. Por ejemplo se ha observado que la hibridación en plantas y animales puede alterar los patrones de metilación del DNA y el “imprinting”. En este sentido se ha reportado un caso de activación de retroelementos por hipometilación del DNA en cruzamientos entre distintas especies de wallabies (marsupiales próximos a los canguros) (10). La falta de represión de los ETs en los híbridos puede ser debida además a una ausencia de especificidad de los RNAs de interferencia aportados por el óvulo. Este fenómeno ha sido señalado como la causa de la movilización del elemento *Penelope* en cruzamientos entre diferentes cepas de *D. virilis*. Además, descubrimientos recientes han puesto de manifiesto la importancia de las proteínas Piwi en la espermatogénesis y en la mediación del silenciamiento de los elementos transponibles a través de RNAs cortos (piRNAs) defendiendo la línea germinal de las movilizaciones incontroladas. No sería extraño pensar que en los cruces interespecíficos, cuya cantidad de siRNAs y capacidad de represión puede ser diferente, estén interviniendo los mismos mecanismos. Esto explicaría, al menos en parte, los fenómenos de esterilidad y aumentos de las tasas de transposición asociados a la hibridación interespecífica.



**Figura:** Esquema de los mecanismos que pueden activar los ETs.

#### 4. CONCLUSIONES

Es evidente que la mayor parte de los genomas contienen un gran número de ETs. Estos elementos lejos de ser únicamente secuencias inútiles cuyo único

objetivo es perpetuarse en el genoma, parecen tener un destino evolutivo más prometedor. El creciente aporte de evidencias sobre el impacto de los ETs como factores de evolución y remodelación del genoma, subraya su enorme potencial como agentes promotores de evolución de las especies. A lo largo de este capítulo hemos hecho especial hincapié en los fenómenos de colonización y de hibridación entre especies como factores promotores de transposición. Estos fenómenos no solo producen constantes efectos adversos sino que pueden contribuir al incremento de la variabilidad genética y crear nuevas posibilidades de actuación por parte de la selección natural, como sugieren los resultados obtenidos por nuestro grupo. Así, bajo ciertas condiciones demográficas y/o ecológicas, determinadas características genéticas se verían favorecidas conduciendo a fenómenos de especiación.

Existen una gran cantidad de mecanismos asociados a la desregulación de la transposición durante los episodios de explosiones de transposición (véase Figura 1). Sin embargo, existe una falta de comprensión de cómo estos mecanismos se desencadenarían en situaciones de estrés. Las investigaciones en este sentido son el objetivo de nuestros futuros proyectos de investigación y suponen un paso adelante en la comprensión de las interacciones entre el genotipo y el ambiente y las relaciones entre el genotipo y el fenotipo.

**5. AGRADECIMIENTOS.** Este artículo resume el trabajo de muchos componentes, pasados y presentes, de nuestro Grupo de Biología Evolutiva, que comprende investigadores de la Universidad Autònoma de Barcelona y de la Universidad de Barcelona. También es el resultado de amplias discusiones con los investigadores del grupo. A todos ellos va nuestro reconocimiento. También tenemos que agradecer la financiación económica continuada del Gobierno de España a través del ahora Ministerio de Ciencia e Innovación, de la Generalitat de Catalunya, y de la Unión Europea. Finalmente, algunos investigadores extranjeros, entre los que destacan los profesores Christian Biémont (Lyon, Francia), John McDonald (Atlanta, USA) y Pierre Capy (Gif-sur-Yvette, Francia) han enriquecido con su colaboración e ideas nuestro trabajo.

## 6. REFERENCIAS

1. González, J *et al.* **2008.** High rate of recent transposable element-induced adaptation in *Drosophila melanogaster*. ***PLoS Biology***, 6: 2109-2129.
2. Labrador, M *et al.* **1998.** The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. XXXIV. The distribution of the retrotransposon Osvaldo in original and colonizing populations. ***Mol Biol Evol***, 15: 1532-1547.
3. García Guerreiro, MP, Fontdevila, A. **2001.** Chromosomal distribution of the transposable elements Osvaldo and Blanco in original and colonizer populations of *Drosophila buzzatii*. ***Genet Res Camb***, 77: 227-238.
4. García Guerreiro *et al.* **2008.** Distribution of the transposable elements bilbo and gypsy in original and colonizing populations of *Drosophila subobscura*. ***BMC Evolutionary Biology***, 8:234.
5. Labrador, M, Fontdevila, A. **1994.** High transposition rates of Osvaldo, a new *Drosophila buzzatii* retrotransposon. ***Mol Gen Genet***, 245:661-674.
6. Labrador, M *et al.* **1999.** Interspecific hybridization increases transposition rates of Osvaldo. ***Mol Biol Evol***, 16: 931-937.
7. Fontdevila, A. **2005.** Hybrid genome evolution by transposition. ***Cytogenet Genome Res***, 110: 49-55.

8. García Guerreiro, MP, Fontdevila, A. 2007. The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. XXXVI. Molecular structural analysis of Osvado retrotransposon insertions in colonizing populations unveils drift effects in founder events. **Genetics**, 175: 301-310.
9. Fontdevila, A. **2004**. Introgression and hybrid speciation via transposition. En: *Evolution: From molecules to ecosystems*. Oxford University Press.
10. Waugh O'Neill, RJ *et al.* **1998**. Undermethylation associated with retroelement activation and chromosome remodeling in an interspecific mammalian hybrid. **Nature**, 393:68-72.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- McClintock, B. **1984**. The significance of responses of the genome to challenge. **Science**, 226: 796-810.
- Fontdevila, A and Moya, A. **2003**. *Evolución: Origen, adaptación y diversificación de las especies*. Síntesis. Madrid.
- Volff, JN Ed. **2005**. *Retrotransposable Elements and Genome Evolution*. Karger Basel.



---

# 1.5

## **Evolución Molecular y Adaptación en las Familias Multigénicas del Sistema Quimiorreceptor de los Insectos**

**Julio Rozas<sup>1,2</sup>, Alejandro Sánchez-Gracia<sup>3</sup> y Filipe G. Vieira<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>*Departament de Genètica. Universitat de Barcelona. Diagonal 645. 08028 Barcelona, España.*

<sup>2</sup>*Institut de Recerca de la Biodiversitat de la Universitat de Barcelona.* <sup>3</sup>*Institut de Biologia Evolutiva (CSIC-UPF), 08003 Barcelona, España.*

### **RESUMEN**

La quimiorrecepción es un proceso esencial para la supervivencia de los organismos, e incluye los sentidos del gusto y del olfato. Muchas de las proteínas implicadas en las primeras etapas del reconocimiento de los estímulos químicos forman parte de familias multigénicas; estas familias incluyen las OBPs (Odorant-Binding Proteins), los ORs (Odorant Receptors) y los GRs (Gustatory Receptors). En este trabajo revisamos las investigaciones genómicas recientes sobre la evolución molecular de estas familias multigénicas en los insectos. Los resultados apoyan el modelo de “nacimiento y muerte” para la evolución de estas familias de genes, además de detectar cambios adaptativos. Estos estudios indican que el número de genes de estas familias resultaría del proceso estocástico de ganancia y pérdida de genes, aunque limitado por un conjunto mínimo de genes requeridos para realizar la actividad quimiorreceptora. Este proceso dinámico de ganancias y pérdidas de genes puede proporcionar una considerable fuente de variación que podría facilitar el cambio adaptativo.

### **1. INTRODUCCIÓN**

Todos los animales poseen órganos especializados que les permiten detectar y responder a estímulos del ambiente externo. El sistema quimiorreceptor es probablemente uno de los sentidos más primitivos, e incluye el olfato y el gusto. El olfato permite el reconocimiento de moléculas volátiles que confieren al organismo la capacidad de detectar alimento, predadores o pareja; el gusto, por otro lado, interviene en la detección de sustancias solubles que, además de inducir comportamientos asociados con la alimentación, puede provocar respuestas relacionadas con el cortejo y la reproducción. La quimiorrecepción, por lo tanto, es un proceso biológico crítico para la supervivencia y la reproducción de los organismos.

En los insectos, el primer paso en la recepción de la señal química del exterior se efectúa en los sensilios, unas estructuras cuticulares porosas presentes en diversas partes del cuerpo (por ejemplo en las antenas, el bulbo maxilar, la proboscis, los tarsos o la cutícula dorsal). La morfología de los sensilios difiere según su localización o su asociación con un determinado

sistema sensorial; así mientras los sensilios olfativos presentan numerosos poros, los gustativos sólo tienen uno localizado en la parte apical (1). Los primeros sucesos moleculares en la identificación de las señales químicas (eventos perirreceptores) ocurren en la siguiente secuencia: 1) entrada de la sustancia que actúa como señal química a través de los poros de los sensilios; 2) transporte de la misma a través del lumen acuoso de los sensilios (o linfa sensiliar); este transporte es facilitado por las OBPs -unas proteínas globulares muy abundantes en este medio-; y 3) interacción de dicha sustancia con los receptores olfativos (o gustativos) localizados en la membrana dendrítica de la neurona sensorial asociada al sensilio (2). Mientras que los sensilios olfativos contienen dendritas de un número reducido de neuronas (entre una y cinco), los sensilios gustativos pueden estar inervados por múltiples neuronas quimiosensoriales, además de una de tipo mecanosensorial. Tras la interacción con los receptores se produce la conversión de la señal química en eléctrica. Los receptores, mediante la despolarización de la membrana, generan potenciales de acción que son transmitidos por la membrana axonal hasta las estructuras del sistema nervioso central (primero hasta los glomérulos que forman los lóbulos antenales y de ahí hacia otras partes del cerebro) donde se interpreta la información (3).

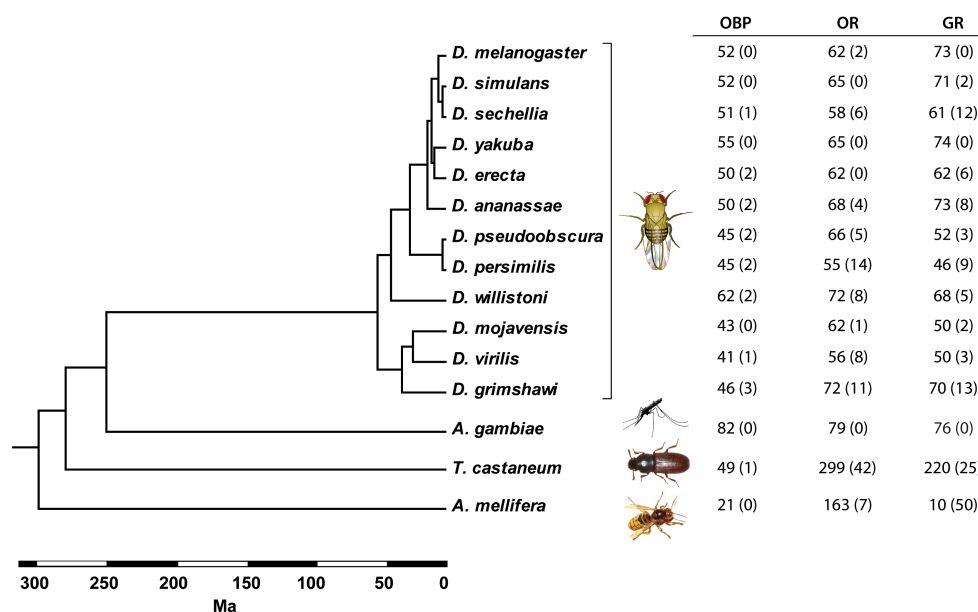
En *Drosophila melanogaster* diversos estudios genéticos y electrofisiológicos han establecido con cierto detalle la función de algunas de las moléculas del sistema quimiorreceptor. Por ejemplo, se ha determinado el papel de la proteína Obp76a (también denominada LUSH) y del receptor OR67d en la detección de la feromona cVA (11-cis-vaccenyl acetate), una feromona específica de machos implicada en varios procesos como la agregación social y el comportamiento durante el cortejo (4). Así se ha comprobado que las dos proteínas se expresan únicamente en un tipo específico de sensilios antenales (los sensilios tricoideos T1), sensilios que contienen neuronas que específicamente se activan por la feromona cVA. A nivel genómico se ha determinado que varias de las proteínas implicadas en la quimiorrecepción (e.g. OBP, OR y GR) están codificadas por un número elevado de genes formando familias multigénicas (5-7).

## 2. OBJETIVOS

El análisis comparativo de la secuencia genómica de especies cercanas permite estudiar la evolución de familias de genes tanto a nivel estructural como funcional. En este artículo revisaremos el conocimiento actual sobre la evolución molecular de las 3 familias principales del sistema quimiorreceptor surgidos del análisis de la secuencia completa del genoma de 15 especies de insectos (12 del género *Drosophila* junto con *Anopheles gambiae*, *Tribolium castaneum* y *Apis mellifera*) (8). En particular, abordaremos: 1) el proceso de origen, divergencia y pérdida de genes en estas familias, y 2) el impacto de la selección natural y de los procesos adaptativos en su evolución.

### 3. RESULTADOS

**3.1. Organización genómica.** El análisis bioinformático de la información genómica ha permitido la anotación del conjunto de genes en las 3 familias multigénicas del sistema quimiorreceptor (5-7). Se han identificado tanto los posibles genes funcionales, como los no funcionales (o pseudogenes) (Figura 1). A pesar de que el ancestro común de las 12 especies de *Drosophila* se remonta a tan sólo unos 60 millones de años, se observa una cierta variación en el número de genes dentro de cada familia. Curiosamente, el número total de genes de las 3 familias es bastante parecido (entre 40 a 70 copias). Al incorporar la información genómica de *A. gambiae*, *T. castaneum* y *A. mellifera*, emerge un patrón distinto, detectándose una variación importante del número de genes tanto entre las especies como entre las familias. Por ejemplo, mientras *D. melanogaster* tiene 52 OBPs, *A. mellifera* sólo tiene 21; además la relación entre el número de genes de las familias difiere ampliamente entre los insectos (por ejemplo, *Drosophila* muestra un número similar de genes de ORs y GRs, *A. mellifera*, en cambio, presenta un número muy inferior de GRs).



**Figura 1. Número de genes de las 3 familias multigénicas.** Panel izquierda. Filogenia aceptada de las especies de insectos estudiadas. Ma, Millones de años. Panel derecha. Número de genes funcionales y de pseudogenes (en paréntesis).

Un aspecto interesante es que los genes de estas familias no se encuentran dispersos por el genoma, sino que tienden a estar agrupados (en *clusters*). Este patrón, no obstante, no es idéntico en todas las familias, siendo mucho más evidente en la familia de las OBPs (un 69% de los genes de *D. melanogaster* se encuentran formando 10 *clusters* -de 2 a 6 genes-). Este agrupamiento en *clusters* tiene su origen en la generación de los nuevos genes por duplicaciones génicas en tándem (ver más abajo). Los genes de las OBPs,

sin embargo, están más próximos entre sí de lo que se esperaría por azar (tras las potenciales reordenaciones generadas por las inversiones o translocaciones cromosómicas). Esta organización de los genes en *clusters* podría estar mantenida por la presencia de elementos reguladores de la expresión génica comunes. Los genes de los receptores, por el contrario, están más dispersos por el genoma. El diferente patrón de expresión génica entre los genes de OBPs y receptores podría estar en la base de estas diferencias. Así, un determinado gen de las OBPs se puede expresar en varios tipos de sensilios, y varias OBPs pueden estar expresadas en el mismo sensilio. Por el contrario, el patrón de expresión de los receptores (tanto ORs como GRs) es mucho más preciso; una misma neurona sensorial normalmente no expresa más de dos receptores.

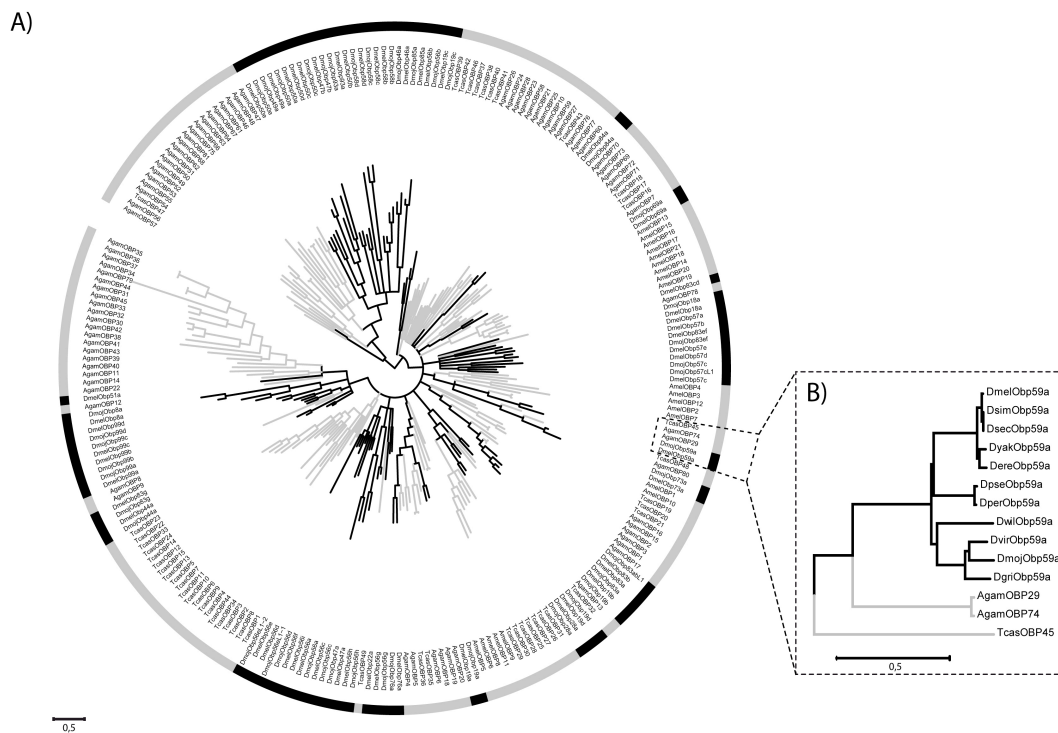
**3.2. Análisis filogenético.** El análisis de las relaciones filogenéticas del conjunto total de miembros de una misma familia nos permite identificar con precisión los genes ortólogos en las diferentes especies (Figura 2). Nuevamente, los 12 genomas de *Drosophila* y los 15 de los insectos muestran patrones aparentemente distintos. En *Drosophila* se pueden identificar los ortólogos de un gran número de miembros. Sin embargo, cuando incluimos los genomas de los otros 3 insectos apenas se detectan grupos de ortología que incluyan todas las especies. Es más, sólo se pueden reconocer 10 grupos de ortología (2 en OBPs, 3 en ORs y 5 en GRs) entre los dípteros (*Drosophila* y *A. gambiae*; su ancestro común se remonta a 250 millones de años). Este patrón se hace más patente en la distribución de los genes en subfamilias (grupos filogenéticos en los que normalmente se dividen estas familias multigénicas). Esta clasificación, aunque basada en criterios filogenéticos, es arbitraria pero puede aportar información relevante sobre la divergencia funcional de los genes. Este análisis muestra la existencia de varias expansiones y contracciones en el número de genes de las subfamilias. De aquí que existan pocos grupos de ortólogos que abarquen todas las especies.

Existen algunos genes, no obstante, que se han mantenido en varias (o todas) las especies de insectos (por ejemplo, los genes *Or83b*, *Gr21a*, *Gr63a* y *Obp73a*). El gen *Or83b* tiene una secuencia muy conservada y muestra una posición basal en el árbol filogenético de los receptores; esta alta conservación (tasa de evolución reducida) es consistente con su importante función (se expresa en todas las neuronas sensoriales olfativas, y actúa como co-receptor olfativo). Los genes *Gr21a* y *Gr63a* intervienen probablemente en el reconocimiento del CO<sub>2</sub>, una función con una clara importancia ecológica. El gen *Obp73a* está presente incluso en especies de insectos tan alejados de los dípteros como el piojo. A pesar de exhibir las típicas características de las OBPs, este gen no fue identificado en los primeros análisis de *Drosophila*; se caracterizó posteriormente por su similitud con las OBPs de otros insectos. Este mantenimiento a lo largo de la evolución sugiere que el gen *Obp73a* posee alguna función importante, aunque desconocida.

El análisis filogenético ha aportado también información relevante sobre el origen de los genes de estas familias. Así, las copias duplicadas más recientes suelen presentar un parálogo filogenéticamente próximo y físicamente cercano en el cromosoma y, además, los genes de un mismo *cluster* suelen pertenecer a una misma subfamilia filogenética; resultado que soportaría un

origen de los nuevos genes por duplicación génica en tándem. Además, el ancestro común de los ortólogos de una subfamilia determinada de *Drosophila* es mucho más reciente que el de los parálogos (que se remonta al origen de los insectos). Por último, la topología de los árboles filogenéticos basados en ortólogos normalmente coincide con el aceptado para las especies, no detectándose eventos de conversión génica entre parálogos. Todo ello sugiere que los genes del sistema quimiorreceptor han divergido gradualmente desde su origen por duplicación génica.

La secuenciación del genoma completo en especies con un tiempo de divergencia relativamente reducido (como en las 12 de *Drosophila*) permite realizar un estudio pormenorizado de los sucesos de generación y pérdida de genes y de pseudogenes a lo largo de la filogenia, así como estimar el número más probable de genes presentes en los nodos internos. En *Drosophila* la evolución de estas familias multigénicas se caracteriza por un gran dinamismo en cuanto a la generación y pérdida de genes y pseudogenes, y todo ello a pesar de que las especies actuales presentan un número similar de genes.

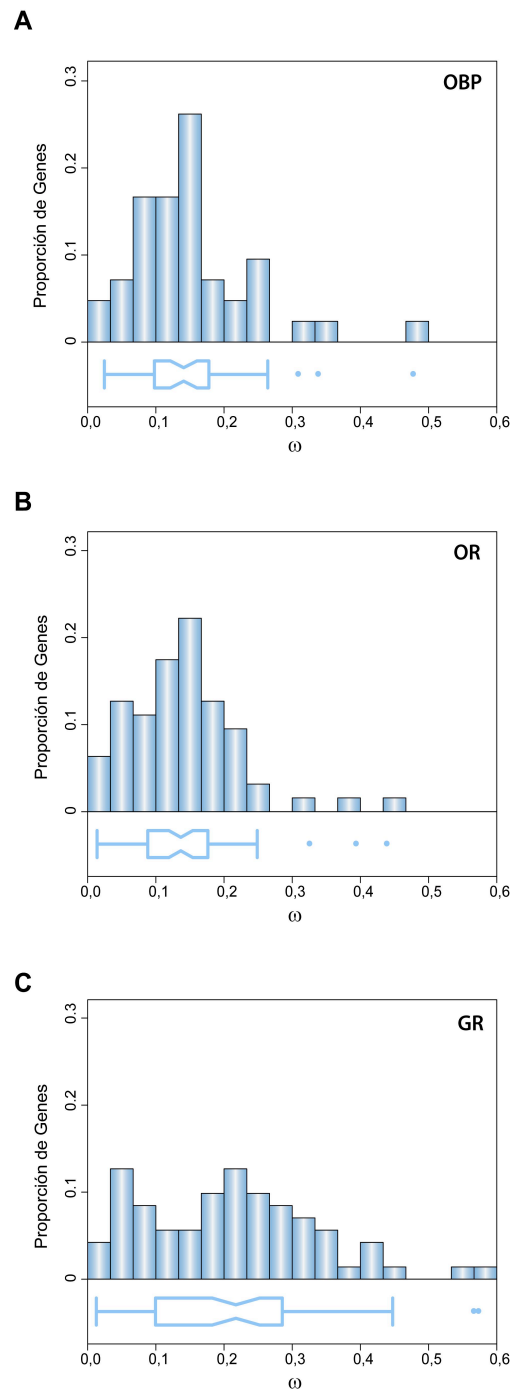


**Figura 2. Árbol filogenético de las OBPs de insectos.** Panel A). Secuencias de *D. melanogaster* y *D. mojavensis* (ramas en negro), y *A. gambiae*, *T. castaneum* y *A. mellifera* (ramas en gris). La barra de escala representa 0,5 sustituciones de amino ácido por posición. B) Análisis filogenético detallado del grupo de ortología del gen *Obp59a* (este gen no se encuentra en *A. mellifera*).

Este patrón, sin embargo, no es idéntico en todas las familias; por ejemplo la familia de los GRs muestra una tasa de pérdidas claramente más elevada. Estos eventos, además, tampoco se detectan homogéneamente a lo largo de la evolución; así, las pseudogenizaciones son más abundantes en las ramas terminales del árbol. Este análisis exhaustivo, no obstante, no se puede realizar al incluir la información genómica de los otros 3 insectos; el gran número de ganancias y pérdidas de genes, que evidencian el gran dinamismo de estas familias, impiden identificar con fiabilidad los diferentes eventos evolutivos.

Recapitulando, el análisis filogenético en las 3 familias multigénicas revela que: 1) a corto plazo (dentro del género *Drosophila*) se pueden identificar ortólogos en un importante número de casos; 2) la filogenia reconstruida con ortólogos coincide con la aceptada de las especies; 3) no se detecta conversión génica entre parálogos; 4) se detectan sucesos de ganancias y pérdidas de genes en varios linajes; 5) se identifican varios pseudogenes; y 6) se observa un patrón aparentemente discordante entre la evolución a corto plazo y largo plazo (en el conjunto de los insectos). Todas estas evidencias apoyan con fuerza al modelo de nacimiento y muerte (BD, *Birth-and-Death*) como el que mejor explicaría la evolución de estas familias multigénicas. Concretamente, los datos apuntan a que: 1) los genes se originarían por duplicación génica en tándem; 2) divergirían en secuencia progresivamente e independientemente de la de otros genes; 3) su destino evolutivo sería la pérdida del genoma por una delección de DNA, o transitoriamente por una pseudogenización. Bajo este modelo, la estimación de la tasa de nacimiento y muerte ( $\lambda$ , por gen y por millón de años) para estas familias (OBPs,  $\lambda = 0,005$ ; ORs,  $\lambda = 0,006$ ; GRs,  $\lambda = 0,011$ ) revela, con claridad, una evolución muy dinámica (la  $\lambda$  media de *Drosophila* es 0,001); las tres familias del sistema quimiorreceptor están renovando constantemente sus genes, con nuevas copias que reemplazan continuamente a las que se pierden.

**3.3. Selección natural y adaptación.** El análisis comparativo de la divergencia sinónima ( $d_S$ ) y no sinónima ( $d_N$ ) permite relacionar la divergencia nucleotídica (y proteica) con la diversificación funcional. De hecho, la razón entre estos estimadores ( $\omega = d_N/d_S$ ) es uno de los métodos más potentes para detectar el impacto de la selección natural (tanto positiva como negativa) sobre la región codificadora de los genes. En ausencia de selección el valor esperado de  $\omega$  es 1; valores significativamente menores (o mayores) de 1 son indicativos de selección negativa (o positiva). Las estimaciones medias de  $\omega$  en las tres familias quimiorreceptoras de *Drosophila* muestran a la selección purificadora (o negativa) como la principal fuerza evolutiva (OBPs,  $\omega = 0,15$ ; ORs,  $\omega = 0,14$ ; GRs,  $\omega = 0,22$ ) (Figura 3). Estos niveles de restricción funcional, además, difieren significativamente entre los genes de una misma familia; un resultado que apunta a una potencial diferenciación funcional. Entre los genes con un mayor nivel de restricción funcional (valores de  $\omega$  reducidos) se encuentran los de *Obp83b* ( $\omega = 0,024$ ), *Obp83a* ( $\omega = 0,031$ ), *Or83b* ( $\omega = 0,014$ ), *Gr21a* ( $\omega = 0,022$ ) y *Gr63a* ( $\omega = 0,044$ ). Los niveles de restricción funcional no sólo difieren entre genes de una misma familia, sino también entre las diferentes posiciones de la secuencia codificadora. En algunos ORs y GRs, de hecho, se



**Figura 3. Distribución de los valores de  $\omega$ .** A) OBPs; B) ORs; C) GRs. El diagrama de cajas (box-plot) muestra la mediana y los percentiles 25 y 75. La barra de dispersión muestra los puntos incluidos dentro de 2 desviaciones estándar.

ha podido detectar la marca molecular imprimida por la selección positiva; lo que indicaría, por tanto, una evolución de tipo adaptativo. La huella de la

adaptación molecular se ha podido detectar incluso en residuos de la región del bolsillo de unión a odorantes de algunas OBPs. Como los cambios en esta parte de la molécula probablemente afecten la sensibilidad o especificidad en la detección de odorantes, estas regiones podrían ser más propensas a evolucionar por selección adaptativa.

Se ha determinado, asimismo, que los niveles de constricción funcional también difieren entre los diferentes linajes del grupo *melanogaster* de *Drosophila*. Por ejemplo, el impacto de la selección purificadora es menor en las especies especialistas (*D. sechellia* y *D. erecta*) que en las generalistas (*D. melanogaster*, *D. simulans*, *D. yakuba* y *D. ananassae*). Las especialistas, además, presentan una mayor tasa de pérdida de genes de receptores. Actualmente no se conoce con certeza cuál ha sido el principal factor que ha generado esta relajación de la selección natural en los especialistas (5,7,9). Esta podría haber sido promovida por el cambio hacia una dieta más especializada (10). Sin embargo, otro estudio más amplio (7) también detecta una mayor relajación en especies endémicas y apunta a la reducción en el tamaño efectivo poblacional de las especies como principal responsable.

#### 4. CONCLUSIONES

En su conjunto, los resultados basados en el análisis de la secuencia genómica completa de varias especies de insectos apoyan el modelo BD como el que mejor explicaría la evolución de las familias del sistema quimiorreceptor de estos organismos. Los genes se originarían por duplicación génica y divergirían gradualmente en secuencia, diversificándose funcionalmente, hasta su eventual pérdida del genoma. A largo plazo, este proceso de BD podría generar cambios importantes en el tamaño de las familias (número de genes) que se visualizarían como expansiones o contracciones de las subfamilias. El tamaño de las familias, por lo tanto, resultaría de un equilibrio entre el proceso de BD y el mantenimiento de los genes necesarios para la correcta función del sistema quimiorreceptor. Este proceso dinámico de BD tiene importantes consecuencias en la evolución y adaptación: las ganancias y pérdidas de genes representan una considerable fuente de variación para el cambio evolutivo. Y dado el papel crucial del sistema quimiorreceptor en la supervivencia y reproducción de los individuos, esta variación podría ser fundamental para facilitar el cambio adaptativo. Así, por ejemplo, cambios que afecten la sensibilidad o especificidad en la detección de feromonas o de sustancias relacionadas con la alimentación o la oviposición podrían ser beneficiosos tras modificaciones en las interacciones ecológicas.

**5. AGRADECIMIENTOS.** Este trabajo ha sido financiado por la Dirección General de Investigación (proyecto BFU2007-62927).



## 6. REFERENCIAS

1. Shanbhag, S. R., Müller B., Steinbrecht, R. A. **1999**. Atlas of olfactory organs of *Drosophila melanogaster*. I. Types, external organization, innervation and distribution of olfactory sensilla. *Int. J. Insect Morphology Embryology*, 28: 377-397.
2. Vogt, R. G. **2004** Molecular basis of pheromone detection in insects. En *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, Pharmacology and Molecular Biology*. Elsevier.
3. Couto, A., Alenius, M., Dickson B. J. **2005**. Molecular, anatomical, and functional organization of the *Drosophila* olfactory system. *Curr. Biol*, 15: 1535-1547.
4. Laughlin, J. D., Ha, T. S., Jones, D. N. M., Smith, D. **2008**. Activation of pheromone-sensitive neurons is mediated by conformational activation of Pheromone-Binding Protein. *Cell*, 133: 1255–1265.
5. McBride, C. S. and Arguello, J. R. **2007**. Five *Drosophila* genomes reveal nonneutral evolution and the signature of host specialization in the chemoreceptor superfamily. *Genetics*, 177: 1395-1416.
6. Vieira, F. G., Sanchez-Gracia, A. and Rozas, J. **2007**. Comparative genomic analysis of the Odorant-binding protein family in 12 *Drosophila* genomes: purifying selection and birth-and-death evolution. *Genome Biology*, 8: R235.
7. Gardiner, A., et al. **2008**. *Drosophila* chemoreceptor gene evolution: selection, specialization and genome size. *Mol. Ecol.*, 17: 1648-1657.
8. Clark, A. G., et al. **2007**. Evolution of genes and genomes on the *Drosophila* phylogeny. *Nature*, 450: 203-218.
9. McBride, C. S. **2007**. Rapid evolution of smell and taste receptor genes during host specialization in *Drosophila sechellia*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104: 4996-5001.
10. Matsuo, T., et al. **2007**. Odorant-binding proteins *OBP57d* and *OBP57e* affect taste perception and host-plant preference in *Drosophila sechellia*. *PLoS Biol.*, 5. e118.

## 8. LECTURAS RECOMENDADAS

- Nei, M. and Rooney, A. P. **2005**. Concerted and birth-and-death evolution of multigene families. *Annu. Rev. Genet.*, 39: 121-152.
- Vosshall, L. B. and Stocker, R. F. **2007**. Molecular architecture of smell and taste in *Drosophila*. *Annu. Rev. Neuroscience*, 30: 505-533.
- Yang, Z. **2007**. Adaptive Molecular Evolution. Chapter 12. En. *Handbook of Statistical Genetics*. John Wiley & Sons. Third Edition.

---

# 1.6

## Genómica Comparativa y Selección Natural. Aplicaciones en el Genoma Humano

François Serra<sup>1</sup>, Leonardo Arbiza<sup>2</sup> y Hernán Dopazo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Genómica Comparativa. Departamento de Bioinformática y Genómica. Centro de Investigación Príncipe Felipe. Valencia. España. <sup>2</sup>Departamento de Bioquímica, Genética e Inmunología, Universidad de Vigo, 36310 Vigo, España.

### RESUMEN

La búsqueda de los eventos adaptativos a nivel molecular que ha diferenciado el genoma humano del de nuestro pariente vivo más cercano, el chimpancé, ha sido una de las áreas de mayor investigación en genómica comparativa. Paralelamente, la predicción funcional de variantes genéticas en nuestra especie ha sido un área de intenso desarrollo en bioinformática. En este trabajo discutiremos resultados previos y otros más recientes que dan cuenta de estos desarrollos. Veremos que en todos los casos la estimación de las presiones selectivas a nivel de los genes individuales o de los residuos de las proteínas son el denominador común para discutir ambos aspectos. Finalmente mostraremos cómo el análisis de estas presiones selectivas por grupos funcionales de genes resulta una alternativa viable y con suficiente poder estadístico para el análisis de la adaptación y de las restricciones evolutivas a nivel genómico.

### 1. INTRODUCCIÓN

Una vez establecido el consenso que el cambio evolutivo puede describirse a nivel genético a través del cambio de las frecuencias de los alelos génicos en el seno de las poblaciones (1), y que la mayor parte del cambio genético a nivel molecular es neutro (2), o ligeramente neutro en relación al éxito reproductivo (3), la búsqueda de variación adaptativa a nivel molecular, ya sea en forma de selección direccional o estabilizadora, sería el objetivo de los genetistas de poblaciones durante las siguientes décadas.

El éxito en esta tarea se restringiría, después de muchos esfuerzos, a escasos ejemplos en diferentes grupos de proteínas correspondientes a diversos organismos. Entre los ejemplos más conocidos de esta pionera bibliografía figuran: el complejo mayor de histocompatibilidad de vertebrados, proteínas inmunogénicas del parásito de la malaria, del virus de HIV, de la hepatitis C, genes de auto-incompatibilidad de plantas con flores, la enzima Adh en *Drosophila*, la lisina en moluscos gasterópodos de la familia *Halitidae*, las isozimas de mamíferos primates y bovinos y los receptores olfativos de peces (véase Hughes, 1999 para una discusión detallada de estos casos). No obstante no sería hasta el año 1996 cuando Endo et al., (4) realizarían la

primera búsqueda “masiva” de evidencias de selección positiva en bases de datos utilizando la comparación de secuencias entre especies bajo la condición que  $dN > dS$ . Los resultados fueron un tanto decepcionantes, sólo 17 comparaciones homólogas (0,5% del total analizado) presentaban evidencias suficientes de adaptación darwiniana a nivel molecular.

La mayoría de los autores objetaron estos resultados señalando que la condición  $dN > dS$ <sup>§</sup> correspondía a un escenario demasiado conservador para la detección de la selección positiva. Concretamente, tanto en el estudio masivo de Endo et al., como en muchos otros hasta esa fecha la aplicación de los métodos denominados de conteo (véase, Yang, 2006, página 50), el cambio no-sinónimo se promedia a lo largo de todo el gen pudiendo ocultar verdaderos casos de adaptación molecular sobre pocos residuos proteicos, no necesariamente asociados al cambio general de la secuencia.

No obstante, la aparición de los modelos de evolución de codones junto con los métodos de máxima verosimilitud para la reconstrucción de filogenias sembró el camino para el desarrollo posterior de los modelos estadísticos de evolución adaptativa sobre sitios y linajes específicos (Yang, 2006). Esto aumentaría el poder de detección de la selección natural sobre las secuencias génicas permitiendo la puesta a prueba de hipótesis específicas utilizando modelos nulos y alternativos que podrían contrastarse de manera numérica a través del test de razones de verosimilitud (véase Capítulo 1.1 de este libro).

De manera paralela a estos desarrollos estadísticos la genómica nos ofrecía el primer borrador del genoma humano y por lo tanto el sueño del descubrimiento de todos los eventos adaptativos ocurridos en nuestro genoma estaría al alcance de la mano.

## 2. OBJETIVOS

En este trabajo presentamos los resultados principales que hemos aportado en la comprensión de esta búsqueda, circunscribiéndonos exclusivamente a los eventos de selección positiva ancestral de regiones codificantes del genoma humano en comparación con chimpancé, rata y ratón. Posteriormente discutiremos las aplicaciones evolutivas que en un contexto biomédico hemos desarrollado basándonos en la búsqueda de selección purificadora para predecir mutaciones patológicas en el genoma humano y en otros mamíferos. Finalmente, y como solución a la ausencia de señal adaptativa significativa sobre funciones génicas característica de todos los estudios de adaptación a nivel genómico presentaremos una metodología para el estudio de la adaptación basada sobre módulos funcionales (Ontologías génicas, rutas metabólicas y génicas) aplicada a los genomas de primates, roedores. Esta

---

<sup>§</sup> Esta condición introducida inicialmente por Hill y Hastie en 1987 (*Nature* 326: 96-99) para deducir eventos de selección direccional utilizando la comparación de al menos dos secuencias homólogas de un gen establece que, el número de cambios no-sinónimos por sitio no-sinónimo (tasa  $dN$ ), sea mayor que el número de cambios sinónimos por sitio sinónimo ocurrido en la comparación de secuencias (tasa  $dS$ ). Este último es un parámetro de referencia asociado al cambio evolutivo esperado bajo condiciones de neutralidad selectiva. Es muy común expresar esta condición como  $\omega = dN/dS > 1$ . Donde  $\omega$  representa una tasa de tasas evolutivas (véase Z. Yang, 2006, Cap. 2).

metodología utilizada previamente en genómica funcional y basada en el análisis de conjuntos de genes no solo muestra resultados consistentes con los hallados previamente en genómica comparativa sino que es más sensible y robusta para el análisis de selección en los sistemas genómicos.

### 3. RESULTADOS

**3.1. Selección Positiva Ancestral en el Genoma Humano.** El primer estudio donde se abordó la búsqueda masiva de eventos de selección positiva en el genoma humano se publicó en diciembre de 2003 (5). Este daba cuenta del análisis por métodos de máxima verosimilitud de 7.645 trios de genes ortólogos de humano, chimpancé y ratón. En él se deducía que para más de 1.500 genes de cada una de los linajes de primates eran casos confirmados de selección positiva. Bajo este conjunto se encontrarían genes humanos pertenecientes a enfermedades mendelianas, receptores olfativos, genes del metabolismo celular, reproducción, neurogénesis y específicos de funciones auditivas. No obstante, este 20% de genes resultaría sospechosamente abultado. Más aún, la asignación de genes de selección positiva a clases funcionales no se había filtrado para rechazar los posibles falsos positivos generalmente asignados por azar dadas las múltiples pruebas estadísticas realizadas en los estudios genómicos. Los resultados posteriores confirmarían que solo el 5% del conjunto inicial de secuencias codificantes en mamíferos portan evidencias de señal adaptativa y que en ningún caso este conjunto de genes se asocia a clases funcionales mas allá de lo esperado por azar.

A diferencia de los estudios previos nuestro análisis de presiones selectivas sobre genomas de mamíferos (6) se caracterizaría por la búsqueda y diferenciación de casos de selección positiva fuerte y débil (incluyendo en este último término posibles casos de relajación de las presiones selectivas, -pseudogenización-), sumadas a las diferencias de reloj molecular y la asignación de clases funcionales mediante corrección de múltiples test. Para ello analizamos más de 13.000 genes ortólogos de los genomas de humano, chimpancé, rata, ratón y perro, aplicando métodos de máxima verosimilitud con modelos de rama por sitio y test de razones de verosimilitud para rechazar el modelo nulo.

Los resultados fueron sorprendentes en el sentido que encontramos que chimpancé había acumulado un número mayor de genes bajo el control de la selección positiva que los observados en humano desde la separación de ambos linajes a partir de su ancestro común (577 versus 108). Este mismo resultado se observó para los casos de selección débil (245 versus 122), y los derivados del test de tasas relativas donde el 9.5% de los genes de chimpancé en contraposición al 6.5% de los genes humanos se alejaban de lo estrictamente esperado por reloj molecular. Curiosamente, la tasa de cambio sinónimo (dS) y no-sinónimo (dN) no mostrarían diferencias significativas a nivel genómico entre ambas especies ( $p=0.88$ ,  $p=0.77$ , respectivamente).

Al momento de preguntarnos por la existencia de clases funcionales preferenciales en estos conjuntos de genes la respuesta fue una sola y común para todos, la ausencia de asignaciones significativas para cualquiera de las clases más comunes luego de las necesarias correcciones por múltiples test. La

Tabla muestra el análisis funcional de los genes de selección positiva asignados a humano y chimpancé. En ella todos los porcentajes no alcanzaron a superar los valores de distribución aleatoria de genes por clases para el genoma de cada una de las especie ( $p^{correctada} > 0.05$ ). Más aún, este conjunto de clases es el mismo en términos generales para los genes fuera del reloj molecular y bajo condiciones de selección positiva débil. Sin embargo y de manera notable, la última columna de la tabla muestra que a pesar de que los genes seleccionados positivamente pertenecen a clases similares entre especies, estos no son ortólogos. Es decir que la selección parece haber dado más cuenta a la clase que al gen individual (nos referiremos a esto nuevamente en el punto 3.3).

Términos de Ontología Génica (GO)	Humanos	Chimpancé	N
<i>Metabolismo celular de proteínas</i>	16.7 (7)	31.0 (102)	3
<i>Ruta de señalización de proteínas-G *</i>	21.4 (9)	6.1 (20)	0
<i>Percepción sensorial</i>	16.7 (7)	3.6 (12)	0
<i>Transcripción</i>	11.9 (5)	14.3 (47)	0
<i>Regulación de la transcripción</i>	11.9 (5)	15.2 (50)	0
<i>Catabolismo celular de macromoléculas</i>	9.5 (4)	13.9 (46)	0
<i>Respuesta inmune</i>	7,1 (3)	9.42 (31)	1
<i>Transporte de proteínas</i>	7,1 (3)	4.9 (16)	0
<i>Transporte intracelular de proteínas</i>	4.7 (2)	4.9 (16)	1

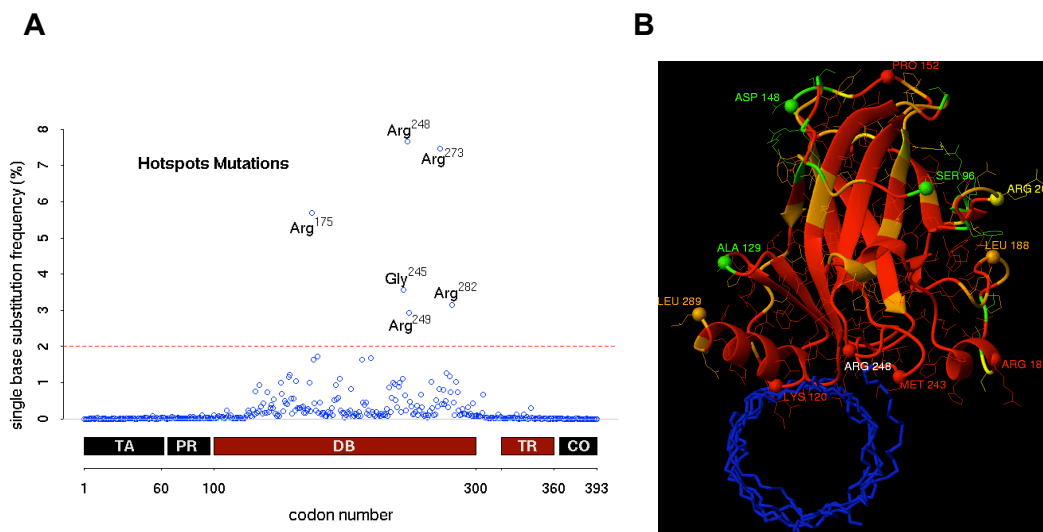
**Tabla. Análisis funcional de los genes de selección positiva.** Los números representan el porcentaje de genes de selección positiva correspondiente a cada categoría de GO. Entre paréntesis se muestra el número total de genes de selección positiva por clase. La columna N muestra el número de genes ortólogos (heredados a través de un ancestro luego de un proceso de especiación) seleccionados positivamente por categoría en ambas especies. \* *Ruta de señalización de proteínas-G acopladas a receptores.*

**3.2. Presiones Selectivas y Aplicaciones Biomédicas.** La forma más frecuente de selección natural en las poblaciones naturales no es de ningún modo positiva, sino por el contrario, purificadora. Es decir, aquella que elimina de la población las mutaciones deletéreas que reducen el éxito reproductivo de sus portadores. Esta forma de selección es la organizadora del mundo biológico ya que entre otras cosas garantiza que la herencia sea fidedigna, que los hijos se parezcan a sus padres, que la adaptación sea eficiente y que la naturaleza muestre una organización jerárquica.

En el año 2005 comenzamos a trabajar con una idea muy simple que nos llevaría a predecir enfermedades mendelianas en el genoma humano y de otras especies de mamíferos. La idea básica consiste en que la selección purificadora debe ser mayor en aquellos residuos de las proteínas que con mayor incidencia producen efectos deletéreos en sus portadores, por ejemplo, enfermedades con alta incidencia en el éxito reproductivo. Nuevamente, la aplicación de métodos de comparación de secuencias biológicas y la cuantificación de presiones selectivas por métodos de máxima verosimilitud

serían la clave para cuantificar estas presiones. En este caso la norma esperada es inversa a la descrita en los casos de selección positiva ya que el cambio no-sinónimo es rechazado de manera mucho más frecuente de lo esperado por azar, o lo que es lo mismo,  $dN < dS$  ( $dN/dS < 1$ ).

**3.2.1. Análisis evolutivo de p53.** La proteína p53 es un regulador clave del ciclo celular y por lo tanto la llave maestra del control reproductivo de la célula. Esta proteína frecuentemente se encuentra mutada de su forma convencional (funcional) en pacientes con distintos tipo de cáncer. El análisis de la base de datos que contiene todas las mutaciones observadas en esta proteína mostró que es el dominio de unión al DNA el que contiene el mayor número de mutantes en pacientes enfermos de cáncer. En particular 6 residuos de este dominio eran muchos más frecuentes en estos pacientes (Figura 1A). El análisis de las presiones selectivas confirmaba que no había ningún residuo de selección positiva en p53 y que la mayoría de sus amino ácidos habían cambiado bajo un estricto control de la selección purificadora (Figura 1B). Estas presiones son mayores en los residuos que están en contacto con el ADN y los que mantienen la estructura (estructuras beta plegadas centrales) y menores en la periferia del dominio.



**Figura 1. Mutantes y presiones selectivas en p53.** (A). Distribución de frecuencia de mutaciones en los diferentes residuos de los cinco dominios de la proteína. Las mutaciones del dominio de unión al DNA (DB) es el que más frecuentemente se asocia a pacientes con cáncer. (B). Estructura terciaria del dominio de unión en asociación con el ADN (hebra azul). Note que todos los residuos que están en contacto con el ADN bloqueando la apertura de la doble hélice están coloreados en rojo notando que  $dN/dS < 0.1$ , los residuos naranjas, amarillos y verdes muestran presiones selectivas de menor intensidad ( $dN/dS > 0.1$ ). Detalles en referencia 7.

Una vez computadas las presiones selectivas de todos los residuos para una proteína podemos preguntarnos que valor de  $dN/dS$  se asocia más frecuentemente a pacientes con enfermedad. La respuesta a esta pregunta

requiere grandes cantidades de datos y para ello se realizó un análisis estadístico inicial con 264 genes asociados a enfermedades humanas (7) y posteriormente con todos los residuos asociados a enfermedades colectados por la base de datos Uniprot (8). En ambos casos la respuesta era la misma, los residuos que mostraban presiones selectivas ( $dN/dS$ ) menores a 0.1 se asociaban de manera muy significativa ( $p < 0.001$ ) a residuos de proteínas en pacientes enfermos. Lo que seguiría sería la aplicación de este predictor evolutivo a escala genómica.

**3.2.2. La extensión del método a escala genómica.** La forma de variación genética más frecuente en un genoma es la debida a polimorfismos de un único nucleótido (SNP's: Single Nucleotide Polymorphisms). Una vez finalizada la segunda fase del proyecto HapMap (proyecto dedicado a la detección y análisis de variación genética en poblaciones humanas) se reportaron más de 3 millones de SNP's en el genoma humano. Muchas de estas variantes son codificantes (afectan proteínas) y la evaluación de sus efectos en términos de enfermedades pueden predecirse por medio de las presiones selectivas que han actuado durante millones de años de evolución mamífera. La pregunta en este caso es si un SNP que cambia un nucleótido en el ADN lo hace cambiando un amino ácido sujeto a presiones fuertes o débiles de selección purificadora. Los análisis anteriores indicaban que si lo hacían sobre residuos donde  $dN/dS < 0.1$  probablemente se asocie a enfermedad.

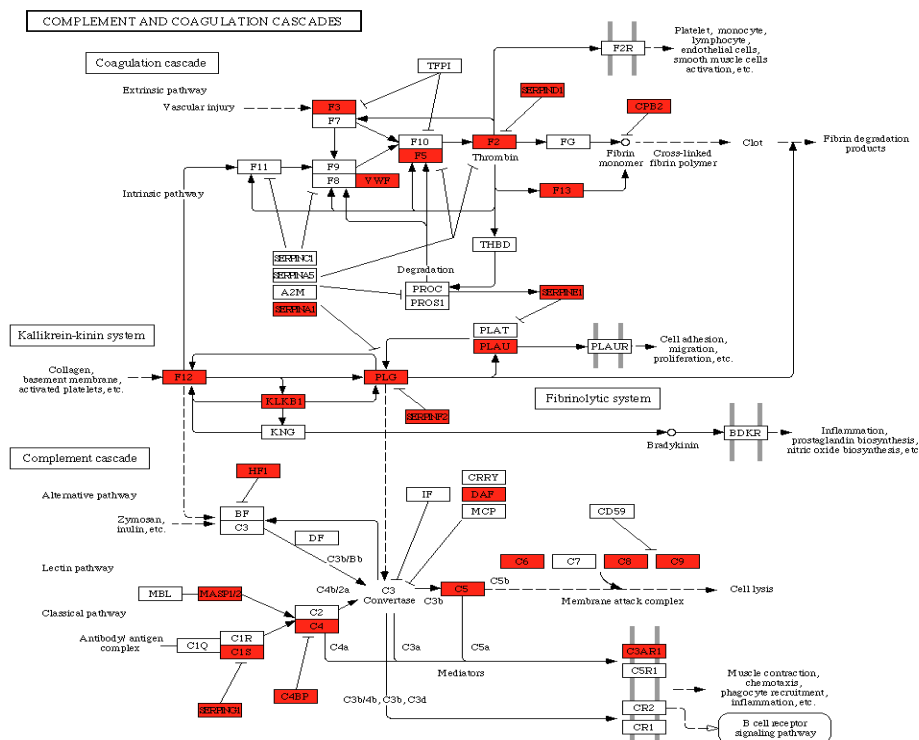
Una vez desarrollado el método e implementado una herramienta web (9), para el análisis de todos los residuos de aminoácidos de todas las proteínas del genoma humano volvimos a validar la metodología utilizando los datos del proyecto de genotipación de las cepas de rata de diferentes laboratorios del mundo (10). En este trabajo la utilización del método de presiones selectivas por debajo del umbral  $dN/dS < 0.1$  validaría no solo las enfermedades en el genoma humano sino que se convertiría en una herramienta útil para la predicción de enfermedades en otras especies de mamíferos (10).

### 3.3. Adaptación sobre Sistemas de Genes.

Como vimos en el apartado 3.1 la búsqueda de selección positiva en especies de mamíferos no identificó de manera estadística funciones génicas enriquecidas por procesos adaptativos. Es muy improbable que la razón sea la ausencia de señal en los diferentes genomas sino que muy probablemente se trate de la baja potencia estadística asociada a las clases una vez finalizadas las correcciones por tests múltiples. Este problema característico de los análisis genómicos fue detectado tempranamente y los posteriores trabajos en *Drosophila* (Nature 2007. vol 450: pp.203-18), y mamíferos (PLoS Genet. 2008. vol. 4(8) pp. e1000144) utilizaron la estrategia de *firmas selectivas* para solucionarlo. Esta metodología consiste básicamente en agrupar especies relacionadas en un solo conjunto de datos funcionales (12 y 6 en los casos citados de *Drosophila* y mamíferos) para luego testearlas. Es decir, si anteriormente se agrupaban todos los genes de una clase funcional (como los que se indican en la Tabla 1) para cada especie, las firmas selectivas agrupa todos los genes de esa misma clase para todas las especies de interés en un solo test, multiplicando de este modo la potencia de análisis por el número de especies por cada clase. De este modo se gana en poder estadístico pero se

pierde la posibilidad de diferenciar los eventos adaptativos por linaje específico, lo que resulta paradójico si pensamos que no hay datos genéticos más allá del genoma completo de una especie.

Una manera diferente de abordar el problema es reconocer que la metodologías aplicadas en todos los trabajos genómicos en los que se ha intentado testear procesos adaptativos están basados en premisas de la era pre-genómica ahora aplicadas a datos genómicos. Básicamente seguimos aplicando los test de selección como se hacían a principios de los años 90 cuando el número de genes nunca excedía la veintena. En estos casos quizás valga la condición de independencia, la proteína 1 es independiente de los efectos fenotípicos de la proteína 2. No obstante hoy sabemos que los datos genómicos muestran redundancia y pleiotropía, y que los efectos de los genes no se deben a la acción individual sino a la acción en conjuntos de redes génicas de interacción o de clases funcionales. Teniendo esto en cuenta podemos extender el análisis de conjuntos de genes (GSA) característicos de los análisis funcionales de chips de microarrays al problema evolutivo de definir clases de genes conservados o modificadas por altas tasas de evolución (dN, dS, dN/dS) en diferentes genomas individuales. Esta metodología utiliza un test de partición sobre una lista de genes ordenados para definir las clases que cambian a tasas significativamente mayores o menores que el resto de los genes de esa clase en el genoma (Serra, et al. *enviado para su publicación*).



**Figura 3. Adaptación en la cascada de coagulación y complemento.** Análisis de selección de grupos de genes (GSSA). Los rectángulos rojos representan genes que han pasado el valor crítico del test luego de corregir por múltiples réplicas.



En la Figura 3 podemos ver los resultados obtenidos por medio de la metodología de análisis de selección de grupos de genes (GSSA) en la *cascada de coagulación y complemento* en el genoma humano. En el análisis de firmas selectivas para este mismo sistema metabólico solo 10 genes pasaron los filtros estadísticos ( $p < 0.05$  FDR). De estos 10 genes 5 son comunes en ambos análisis. Resulta evidente el incremento de potencia estadística bajo el análisis de GSSA. La diferencia fundamental es que el GSSA aporta la información exclusiva en el genoma humano mientras que el de firmas selectivas lo hace juntando la potencia de 6 genomas siendo imposible diferenciar qué genes han sido positivamente seleccionados en cada una de las especies.

Otros resultados de Serra, et al (*enviado*) indican que para diferentes especies, dentro de clases funcionales o rutas metabólicas idénticas, caracterizadas con tasas significativamente altas o bajas de evolución en sus genes, no comparten ortólogos afectados por tasas evolutivas similares (véase Tabla más arriba); indicando que un grupo de especies (o linaje supra-específico) puede cambiar sus funciones fenotípicas de manera convergente o paralela afectando genes diferentes. Finalmente el número de genes de selección positiva ( $dN/dS > 1$ ) observados en clases funcionales que evolucionan de manera significativa ( $p < 0.001$ -GSSA) fueron tan abundantes en aquellas clases constreñidas por selección purificadora como por selección direccional, señalando que no son genes individuales con tasas  $dN/dS > 1$  los que dirigen el cambio adaptativo a nivel genómico.

#### 4. CONCLUSIONES

Desde la publicación de nuestro genoma y el de nuestro pariente vivo más cercano: el chimpancé, la búsqueda de eventos adaptativos que den cuenta de las particularidades biológicas que nos hacen humanos ha sido uno de los temas de mayor interés en genómica comparativa. De forma paralela el desarrollo de herramientas bioinformáticas para predecir la función de la ingente cantidad de información almacenada en las bases de datos biológicas en favor de la salud humana ha sido otra de las áreas de intenso desarrollo en estos últimos años. Como hemos visto muchas veces el camino no ha dado resultados de fácil interpretación. No obstante, este no es un problema de los datos sino probablemente de los métodos que utilizamos en esta joven área de investigación llamada genómica evolutiva.

**5. AGRADECIMIENTOS** Agradecemos la financiación del Ministerio de Ciencia e Innovación de España. Refs. BFU2006-15413-C02-02/BMC y PCI2006-A7-0537.

#### 6. REFERENCIAS

1. Dobzhansky, Th. **1937**. *Genetics and the Origin of Species*. Columbia University Press, New York, U.S.A.
2. Kimura, M. **1983**. *The Neutral Theory of Molecular Evolution*. Cambridge University Press, Cambridge.

3. Ohta, T. **1992**. The nearly neutral theory of molecular evolution. **Ann Rev Ecol Syst.** 23: 263–286
4. Endo, T., Ikeo, K., and Gojobori, T. **1996**. Large-scale search for genes on which positive selection may operate. **Mol Biol Evol.** 13(5): 685-690.
5. Clark, A., et al, **2003**. Inferring nonneutral evolution from human-chimp-mouse orthologous gene trios. **Science** (302): 1960-1963.
6. Arbiza L., Dopazo J. and H. Dopazo. **2006**. Positive selection, relaxation and acceleration in the evolution of human and chimp genome. **PLoS Comp. Biol.** 2 (4):e38.
7. Arbiza L., Duchi S., Montaner D., Burguet J., Pantoja-Uceda D., Pineda-Lucena A., Dopazo J. and H. Dopazo. **2006**. Selective pressures at a codon-level predict deleterious mutations in human disease genes. **J. Mol. Biol.** 358, 1390-1404.
8. Capriotti, E., Arbiza, L., Casadio R., Dopazo J., Dopazo H. & Marc A. Marti-Renom. **2007**. Use of estimated evolutionary strength at the codon level improves the prediction of disease-related protein mutations in human. **Human Mutation** 29 (1): 198-204.
9. Conde L., Vaquerizas J.M., Dopazo H., Arbiza L., Reumers J., Rousseau F., Schymkowitz J. and J. Dopazo. **2006**. PupaSuite: Finding functional SNPs for large-scale genotyping purposes. **Nucleic Acids Res.** 34: W621-5.
10. Star Consortium. 2008. SNP and haplotype mapping for genetic analysis in the rat. **Nat Genet.** 40(5): 560-6.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Hughes, Austin L. **1999**. *Adaptive Evolution of Genes and Genomes*. Oxford University Press.
- Yang, Z. **2006**. *Computational Molecular Evolution*. Oxford Series in Ecology and Evolution. OUP. Oxford. UK.
- Anisimova, M. and D. A. Liberles. **2007**. The quest for natural selection in the age of comparative genomics. **Heredity** 99(6): 567-579.

---

# 1.7

## Cromosomas B: Un Modelo de Coevolución Genómica

**Francisco Perfectti, Josefa Cabrero, María Dolores López-León, Juan Pedro M. Camacho**

*Grupo de Genética Evolutiva. Departamento de genética. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada. Campus Fuentenueva s/n. 18071 Granada*

### RESUMEN

Los cromosomas B son cromosomas adicionales al cariotipo normal presentes en multitud de especies eucariotas. Habitualmente se comportan como parásitos intragenómicos, reduciendo la eficacia biológica de los individuos portadores. La coevolución con el resto del genoma da lugar a dinámicas evolutivas típicas de los sistemas parásito-hospedador, provocando conflictos genómicos. A pesar de sus efectos deletéreos, persisten en las poblaciones gracias a ciertos sistemas de acumulación que los hacen pasar a la descendencia a mayores tasas que las mendelianas. El destino evolutivo de un cromosoma B depende de la coevolución con los demás elementos del genoma, de su tasa de transmisión y de los efectos que produce. El sistema de cromosomas B del saltamontes *Eyprepocnemis plorans* ha servido para establecer un modelo de evolución de estos enigmáticos elementos genómicos.

### 1. ELEMENTOS GENÉTICOS EGOÍSTAS

Los genomas no sólo albergan genes que colaboran en la construcción y funcionamiento de un organismo. La sociedad de los genes, alguna vez considerada un perfecto mutualismo, se ha revelado como el campo de batalla de ciertos elementos genéticos que actúan para maximizar su propia reproducción, aún a costa de reducir la eficacia biológica de los individuos portadores. A este tipo de factores se les ha denominado DNA parásito, ultraegoísta o más comúnmente “elementos genéticos egoístas”. Éstos son un grupo bastante heterogéneo de factores genéticos (genes, fragmentos de genes, cromosomas, genomas) que presentan estrategias y mecanismos que les permiten elevar su tasa de transmisión y replicación frente al resto de componentes del genoma, aún a costa de producir habitualmente efectos deletéreos a nivel individual. Los diferentes intereses replicativos de estos factores frente al resto de los genes producen un conflicto intragenómico que puede manifestarse en dinámicas coevolutivas similares a las encontradas en los sistemas parásito-hospedador (1), lo que ha llevado a denominar a estos elementos como parásitos genómicos.

Existe una gran variedad de elementos genéticos egoístas, como factores que muestran replicación autónoma (elementos transponibles, inteínas,

plásmidos parasíticos), endosimbiontes y orgánulos citoplasmáticos egoístas, distorsionadores de la segregación, ciertos elementos localizados en cromosomas sexuales, distorsionadores zigóticos (como los elementos MEDEA o los genes de barba verde), elementos autosómicos *killer*, endonucleasas *homing* y los cromosomas supernumerarios o cromosomas B, que fueron los primeros en descubrirse.

Los elementos genéticos egoístas suelen transmitirse de forma vertical (es decir, de padres a hijos), a diferencia de los parásitos que suelen tener un sistema de transmisión horizontal (entre individuos no necesariamente relacionados genéticamente). A pesar de esto, suelen presentar mecanismos ventajosos de replicación, lo que los faculta para poder invadir rápidamente poblaciones naturales. En principio, cualquier sistema genético puede ser invadido por elementos genéticos egoístas, por lo que la existencia de elementos genéticos egoístas y el conflicto que crean puede ser una importante fuerza en la evolución de los sistemas genéticos.

La reproducción sexual promueve la generación de conflictos genéticos porque la asociación de los alelos de cada locus es temporal y, dentro de ese proceso, la meiosis es un momento clave para la actuación de un gen o un cromosoma egoísta que promueva su propia transmisión asegurándose una mayor presencia en los gametos producidos por los individuos heterocigotos. Esta mayor tasa de transmisión se denomina, en general, distorsión de la segregación, y cuando la causa es claramente meiótica se la llama impulso meiótico.

La segregación desigual puede ocurrir porque el elemento genético egoísta inhabilita los gametos portadores de su alternativa alélica, tal como se ha demostrado para el sistema *segregation distorter* en *Drosophila melanogaster* y para el locus *t* del ratón. La manipulación del proceso meiótico es también la estrategia más utilizada por otro tipo de elemento genético egoísta presente en un gran número de especies tanto animales como vegetales: los cromosomas B.

## 2. CROMOSOMAS B. NATURALEZA Y EFECTOS

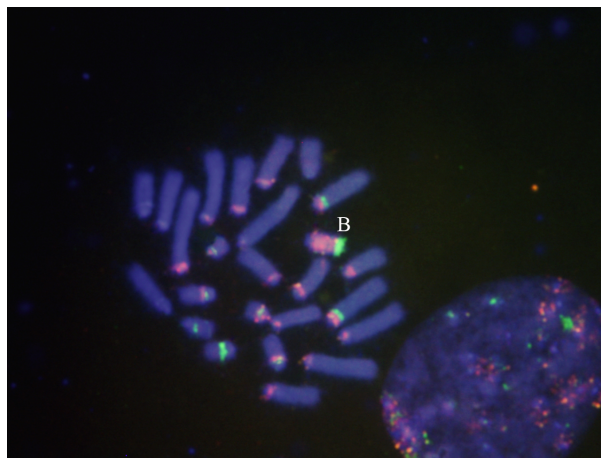
En 1907, un año después de que Bateson diera nombre oficial a la Genética, Edmund B. Wilson (2), al estudiar citogenéticamente algunas especies de hemípteros, describió por primera vez la presencia de cromosomas supernumerarios, cromosomas adicionales al cariotipo normal, también denominados cromosomas B. Desde entonces se han encontrado cromosomas B en más de 2000 especies de hongos, plantas y animales, estimándose que al menos un 15% de las especies eucariotas presentan este tipo de cromosomas (3).

A pesar de su prevalencia, estos cromosomas son completamente prescindibles para el desarrollo y funciones vitales de los organismos portadores. Además, no suelen recombinar con el resto de cromosomas del cariotipo (cromosomas A), por lo que se considera que siguen un camino evolutivo propio. Los cromosomas B muestran comportamientos mitóticos y/o meióticos irregulares que suelen constituir la base de su acumulación en la línea germinal (ie, gonotaxis) determinando modos de herencia no mendelianos

que implican tasas de transmisión superiores a la de los cromosomas normales ( $K=0.5$ ).

Paralelamente a su mecanismo de acumulación, los cromosomas B suelen reducir la eficacia biológica de los individuos portadores, disminuyendo su fertilidad, vigor o fecundidad. Esta característica, propia de los parásitos, fue descrita ya en 1945 por Östergren (4).

El tamaño de los cromosomas B es muy variable entre especies. Oscila desde tamaños mucho más pequeños que los de la mayoría de los cromosomas As hasta tamaños muy superiores, aunque esta última circunstancia es menos frecuente (3).



**Figura 1. Metafase en el saltamontes *Eyrepocnemis plorans* mostrando la morfología del cromosoma B.** Los cromosomas fueron teñidos mediante la técnica de doble FISH. En rojo se muestra un DNA satélite exclusivo de esta especie y en verde los clusters de DNA ribosómico.

La mayoría de los cromosomas B son heterocromáticos y contienen principalmente DNA repetitivo (DNA satélite), lo que sugiere que son elementos genéticamente inertes que no se transcriben. Sin embargo, en algunas especies se ha descrito actividad transcripcional asociada a estos cromosomas, como en el caso de ciertos cromosomas B del saltamontes *Eyrepocnemis plorans* que expresan los loci para RNA ribosómico y forman nucleolos, o el caso del cromosoma B del hongo *Nectria haematococca*, que porta un gen de resistencia antibiótica, favoreciendo así su patogenicidad.

A pesar de que son pocos los casos de genes activos encontrados en los cromosomas B, existen numerosas evidencias de que estos cromosomas pueden afectar a diversos procesos celulares y fisiológicos. Sin embargo, los efectos raramente son apreciables en el fenotipo externo. Como excepción se podría citar el caso de la planta *Haplopappus gracilis*, donde la presencia de un B cambia el color de los achenios, o el caso del maíz, donde las plantas con Bs muestran las hojas rayadas. Por contra, los cromosomas B suelen manifestarse afectando negativamente a caracteres relacionados con la eficacia biológica, de forma proporcional al número de Bs que porta un individuo. Sin embargo, en algunos casos concretos hay evidencias de que los cromosomas B, al menos

en pequeño número, podrían ser considerados heteróticos o beneficiosos para el hospedador.

Un interesante efecto asociado a la presencia de cromosomas Bs, y descrito en múltiples especies, es la variación en la frecuencia de quiasmas de los cromosomas A y, por tanto, en la frecuencia de recombinación del hospedador. Aunque también se han descrito casos de disminución del número de quiasmas, la mayoría de las investigaciones han encontrado que la presencia de los cromosomas B está asociada con un incremento en la frecuencia de quiasmas. Se ha llegado a postular que este efecto podría ser beneficioso para el hospedador, puesto que al incrementar la frecuencia de recombinación, podría elevarse la variabilidad genética y la capacidad adaptativa de la especie. Sin embargo, esta hipótesis implicaría un carácter beneficioso para el parásito genómico (el B). Por ello, G. Bell y A. Burt propusieron en 1990 la teoría de la recombinación inducible, que explica el incremento en la frecuencia de quiasmas como una de las respuestas adaptativas del genoma hospedador frente a los cromosomas B, parásitos verticales de la línea germinal. El incremento de variabilidad podría producir descendencia resistente a los efectos de los Bs o, al menos, de menor susceptibilidad a sus efectos virulentos. Nuestro grupo de investigación encontró evidencias a favor de esta hipótesis al analizar la frecuencia de quiasmas en diversas poblaciones del saltamontes *Eyprepocnemis plorans* con diferentes tipos de cromosomas B, demostrando que el incremento en recombinación es tanto mayor cuanto más acumulación meiótica (drive) tiene el cromosoma B y mayores son sus efectos deletéreos (5).

Un caso de extraordinarios efectos de un cromosoma B es el representado por *Paternal Sex Ratio* (PSR). Este cromosoma se ha encontrado en la pequeña avispa *Nasonia vitripennis* y se caracteriza por aparecer únicamente en machos. *Nasonia* es haplodiploide, con machos haploides y hembras diploides. Un macho con PSR puede fecundar los óvulos de una hembra y, como cabría esperar, producir una descendencia de hembras con PSR. Sin embargo, esto no es así, porque PSR produce la condensación y degradación del complemento paterno, a excepción de PSR, convirtiendo los óvulos fecundados en machos haploides portadores de PSR. Este ejemplo es, asimismo, el cromosoma B más parasítico conocido, pues reduce a cero la eficacia biológica del genoma A de los individuos portadores, que pasan a ser simples vehículos para la transmisión del cromosoma B (3).

### 3. ORIGEN

El origen de los cromosomas B es, en general, un misterio. Los cromosomas B pueden haberse originado a partir de los cromosomas A de una misma especie (origen intraespecífico) al haberse liberado del férreo control del comportamiento meiótico normal y haber ganado algún mecanismo de impulso meiótico. Esta hipótesis vendría respaldada por la presencia compartida entre cromosomas A y B de ciertos tipos de secuencias como varias familias de DNA repetitivo. Esta forma de origen podría considerarse la más común.

Otra posibilidad es que los cromosomas B se hayan originado como consecuencia de eventos de hibridación entre especies próximas. Algunos

cromosomas B, como los de la avispa *Nasonia vitripennis*, presentan secuencias únicamente existentes en especies próximas. Experimentalmente se ha demostrado que ciertos fragmentos céntricos originados en cruzamientos interespecíficos entre especies próximas de *Nasonia* pueden adquirir algunas características típicas de los cromosomas B (6).

#### 4. DINÁMICA EVOLUTIVA

Una vez que un cromosoma B ha surgido en una población, su destino evolutivo depende de la interacción de una serie de factores tales como su tasa de transmisión ( $K_B$ ), su virulencia, la tolerancia del genoma hospedador, la evolución de genes de resistencia, efectos estocásticos ligados al tamaño poblacional o la tasa de mutación del B y la aparición de nuevas variantes.

Es muy frecuente que los cromosomas B presenten impulso meiótico, es decir, una tasa de transmisión muy superior a la mendeliana ( $K_B \gg 0.5$ ), lo que les permite acumularse en las poblaciones. El mecanismo concreto de acumulación puede actuar antes (como ocurre en *Locusta migratoria*), durante (como en el saltamontes *Myrmeleotettix maculatus*) o después de la meiosis (frecuente en plantas como el centeno), o incluso ser ameiótico (como el de PSR en *Nasonia vitripennis*). Estos mecanismos de acumulación explicarían la alta frecuencia de cromosomas B de algunas poblaciones. La frecuencia final se establecería por el equilibrio entre la acumulación (que eleva la frecuencia de Bs) y los efectos deletéreos de los Bs (que la reducen). Esta es la base del modelo parasítico o *egoísta* de evolución de los cromosomas Bs.

Sin embargo, hay cromosomas B que no presentan acumulación, como es el caso de ciertos Bs de *Eyrepocnemis plorans* o varios Bs de plantas (como el de *Poa alpina*, *Centaurea scabiosa* o *Allium schoenoprasum*). Estos casos son enigmáticos, pues sin mecanismos de acumulación cabría esperar que estos cromosomas no hubieran prosperado. El modelo heterótipo propugna que ciertos cromosomas B son beneficiosos para el hospedador al menos en bajo número. En este caso, el equilibrio en frecuencias de los Bs en las poblaciones se establecería por el balance entre los efectos beneficiosos y el coste de estos cromosomas a altos números por individuo.

La gran mayoría de los sistemas de cromosomas B analizados son compatibles con el modelo parasítico (3). Sin embargo, ciertos Bs pueden ser, en determinadas circunstancias, beneficiosos para el organismo hospedador. Sería el caso, por ejemplo, de la resistencia a la roya conferida por un B en la avena o la resistencia a la pisatina por el B de *Nectria haematococca*. Otro caso que parece ajustarse al modelo heterótipo es el del B de *Allium schoenoprasum*. Este cromosoma B, que carece de mecanismo de acumulación, parece estar implicado en la mayor supervivencia de las plantas portadoras durante el desarrollo en ambientes naturales.

Cabría pensar que cualquier cromosoma B que carezca de mecanismo de acumulación y se mantenga en las poblaciones debe producir algún beneficio al organismo huésped. Sin embargo, existe otra posibilidad: que estos cromosomas B sin acumulación sean el resultado de la coevolución con el genoma hospedador que ha conseguido neutralizarlos. Nuestras investigaciones con el sistema de cromosomas B del saltamontes

*Eyprepocnemis plorans* ha servido para proponer un modelo evolutivo de no equilibrio para los cromosomas B (7,8).

Este saltamontes, que es muy abundante en las zonas costeras mediterráneas, presenta cromosomas B en casi la totalidad de las numerosas poblaciones analizadas, tanto españolas y marroquíes, como de Grecia, Turquía, Armenia y el Cáucaso. Una de las características más llamativas de este sistema de cromosomas B es su polimorfismo, habiéndose descrito más de 50 tipos diferentes. B<sub>1</sub> es el tipo más ampliamente distribuido, tanto en la Península Ibérica como en Marruecos, por lo que se ha considerado que puede ser el cromosoma B ancestral a partir del cual han surgido las demás variantes. B<sub>2</sub> es el tipo predominante en la provincia de Granada y en la zona oriental de la de Málaga. B<sub>5</sub> es el tipo predominante en la zona de Fuengirola (Málaga). Los demás, con excepción de B<sub>24</sub>, son tipos de Bs que aparecen esporádicamente y no llegan a ser frecuentes en las poblaciones. Las diferentes variantes de cromosomas Bs están constituidas mayoritariamente por dos tipos de familias de secuencias de DNA, DNA ribosómico y un DNA repetitivo de 180 pb, diferenciándose unos Bs de otros por el contenido relativo de ribosómico y de repetitivo.

Pero las dos propiedades más notables de los Bs de *E. plorans* son su aparente ausencia de acumulación y de efectos sobre la eficacia biológica de los portadores. Lo que propició el denominarlos cromosomas B casi-neutros. Estudios teóricos mediante modelización y simulación por ordenador (7) demostraron que los Bs casi-neutros son incapaces de invadir una población. Para explicar la evolución de estos Bs, por tanto, propusimos que originalmente eran egoístas (mostraban acumulación), como lo sugerían los resultados de cruzamientos interpoblacionales y lo demostró el posterior hallazgo de Bs con acumulación en otras poblaciones de esta especie. Por tanto, los cromosomas B que habíamos definido como casi-neutros son en realidad cromosomas B parasíticos que han sido neutralizados por el genoma hospedador (8).

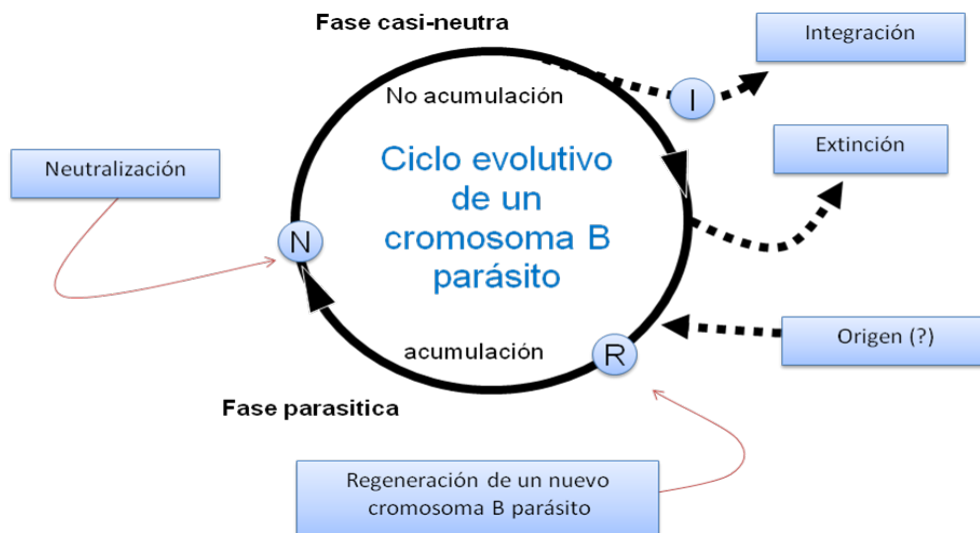
Nuestros estudios de simulación también demostraron que estos cromosomas sin mecanismo de acumulación no pueden mantenerse indefinidamente en las poblaciones. El efecto combinado de la deriva genética y la selección contra los individuos portadores de un gran número de Bs determina su extinción (7).

Así, el ciclo de vida o dinámica evolutiva de un cromosoma B constaría de varias etapas (Fig. 2). La primera etapa es la de invasión o etapa parasítica. Un cromosoma B que presente acumulación se expandirá muy rápidamente, aumentando en frecuencia y en prevalencia. Este proceso de invasión poblacional es muy rápido, durando unas pocas generaciones, dependiendo del valor de  $K_B$ . La presencia de múltiples cromosomas B por individuo y su virulencia asociada (los efectos deletéreos del B) crea las condiciones para que, si existen genes de resistencia o tolerancia en los As, éstos sean seleccionados y aumenten en frecuencia.

Los genes de resistencia pueden conducir a la neutralización del B, esto es, a la pérdida de su capacidad de acumulación. Además, si los efectos deletéreos del B están acoplados a su acumulación, estos genes de resistencia también promoverían la tolerancia a los Bs neutralizados. Puesto que los cromosomas B no aparecen, un B neutralizado seguiría un camino aleatorio



hasta su extinción debido a los efectos de la deriva genética y la selección contra los individuos con muchos Bs. Este camino puede necesitar cientos o miles de generaciones (7). La existencia de cromosomas Bs casi-neutros, sin mecanismo de acumulación y con limitados efectos en la eficacia biológica de los hospedadores serían ejemplos de cromosomas B en proceso de extinción.



**Figura 2. Ciclo evolutivo de un cromosoma B parásito.** Una vez que un cromosoma B aparece en una población, su mecanismo de acumulación (*drive*) hace que invada rápidamente la población. La virulencia que muestra hace que genes de resistencia en los cromosomas A aumenten en frecuencia, conduciendo a la neutralización y a la fase casi-neutra del ciclo. El cromosoma B neutralizado puede i) regenerarse, por mutación, y mostrar de nuevo acumulación, ii) extinguirse por los efectos combinados de la deriva genética y la selección contra individuos portadores de múltiples Bs, o iii) integrarse como un nuevo cromosoma del complemento

$B_2$  en *E. plorans* es uno de estos cromosomas casi-neutros, sin acumulación y con escasas evidencias de ser un coste para los hospedadores. Sin embargo, en determinadas situaciones,  $B_2$  se manifiesta como un elemento deletéreo para el hospedador. Las hembras que presentan tres o más Bs y al mismo tiempo son parasitadas por ácaros, una situación nada infrecuente en poblaciones naturales, muestran una muy reducida fertilidad (9).

A partir de un cromosoma B neutralizado puede surgir, por mutación, una nueva variante con acumulación que regenere el polimorfismo. Es el caso del cromosoma  $B_{24}$  en *E. plorans*. Esta variante parece haber surgido en la población malagueña de Torrox a partir de  $B_2$  mediante la amplificación de las regiones con satDNA, volviendo a mostrar acumulación meiótica y virulencia.  $B_{24}$  está actualmente invadiendo varias poblaciones cercanas y reemplazando otras variantes neutralizadas. Asimismo,  $B_{24}$  también parece estar en proceso de neutralización en la población original, indicando que los procesos de regeneración del polimorfismo y la neutralización del cromosoma B pueden ser muy rápidos.

Una posibilidad que se ha planteado reiteradas veces es que el B acabe integrándose en el genoma estándar. Puesto que la mayoría de los Bs no aparean, esta posibilidad es, en general, descartada. Sin embargo, existen evidencias de que un B puede pasar a ser un cromosoma A. En la avispa *Trypoxilum albitarse* se han encontrado poblaciones que muestran todo el gradiente desde la invasión por un cromosoma B hasta su limitación a un B por genoma haploide (10). Conviene recordar que éste es un organismo haplodiploide, con machos haploides y hembras diploides, con lo que un cromosoma B sólo tendría que aparecer en dos copias y tener una meiosis normal en las hembras. La presencia de un gran bloque de rDNA en el cromosoma B de *T. albitarse* también ha podido ser un factor positivo en su integración, dado que sólo un cromosoma A de esta especie posee este DNA esencial.

## 5. CONCLUSIONES

Los cromosomas B representan aún un enigmático tipo de elementos genéticos egoístas. Su capacidad de contener grandes cantidades de DNA los facultan como reservorios de información genética, en su mayor parte duplicada que, al evolucionar de forma independiente, con respecto al resto del genoma, puede acumular y retener mensajes genéticos larvados que, en teoría, podrían ser reutilizados alguna vez por el genoma. Sin embargo, los diversos mecanismos de silenciamiento presentes en los genomas aíslan, al menos relativamente, a estos bloques de DNA del resto del genoma y se espera que, en su mayoría, sean inertes genéticamente.

Todavía quedan muchos interrogantes planteados y que resolver antes de poder entender completamente a estos pasajeros genómicos. Desde cómo se originan, a partir del mismo genoma que parasitan o bien resultando de procesos de hibridación interespecífica, hasta cómo afecta su presencia a la expresión de los genes de los cromosomas A, que podría explicar el cómo y el por qué de los numerosos efectos fenotípicos de los Bs descritos en numerosas especies, pasando por la expresión de los posibles genes contenidos en los propios Bs y cómo ésta afecta a la expresión de las copias de esos mismos genes presentes en los As.

Para resolver estas cuestiones, la genética molecular está proporcionando, en los últimos años, herramientas que serán decisivas, tales como la microdissección de los cromosomas B y de los cromosomas A de los que presumiblemente hayan podido derivar, el análisis de las secuencias de DNA contenidas en ambos, y los estudios de expresión génica en individuos con y sin cromosomas B, que permitirán esclarecer los mecanismos moleculares de los efectos de los Bs, sin olvidar la detección en el transcriptoma de secuencias propias de los Bs, y la secuenciación completa de algún cromosoma B que, con las nuevas técnicas de secuenciación masiva, está cada vez más al alcance.

**5. AGRADECIMIENTOS.** El grupo de Genética Evolutiva de la Universidad de Granada ha sido financiado a través de proyectos de investigación del Plan Nacional de

Investigación, fondos FEDER y por la Junta de Andalucía a través del Plan Andaluz de Investigación (grupo BIO-165).

## 6. REFERENCIAS

1. Frank, S.A. **2000**. Polymorphism of attack and defense. **TREE**, 15(4). Pp: 167-171
2. Wilson, E.B. **1907**. The supernumerary chromosomes of Hemiptera. **Science**, 26. Pp: 870-871.
3. Camacho, J.P.M. **2005**. B chromosomes. En: *The evolution of the Genome* (TR Gregory ed.). Academic Press, NY (USA).
4. Östergren, G. **1945**. Parasitic nature of extra fragment chromosomes. **Bot. Notiser**, 2. Pp: 157-163.
5. Camacho, J.P.M. *et al.* **2002**, Host recombination is dependent on the degree of parasitism. **Proc. R. Soc. Lond. Ser. B**, 269. Pp: 2173-2177.
6. Perfectti, F. y Werren, J.H. **2001**. The interspecific origin of B chromosomes: experimental evidence. **Evolution**, 55. Pp: 1069-1073.
7. Camacho, J.P.M. *et al.* **1997**. Population dynamics of a selfish B chromosome neutralized by the standard genome in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. **Amer. Nat.**, 149. Pp: 1030-1050.
8. Camacho, J.P.M. *et al.* **2003**. The B chromosomes of the grasshopper *Eyprepocnemis plorans* and the intragenomic conflict. **Genetica**, 117. Pp: 77-84.
9. Muñoz, E. *et al.* 1998. Parallel effect of a B chromosome and a mite decreasing female fitness in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. **Proc. R. Soc. Lond. Ser. B**, 265. Pp: 1903-1909.
10. Araujo, S.M.S.R. *et al.* **2002**. Integration of a B chromosome into the A genome of a wasp, revisited. **Proc. R. Soc. Lond. Ser. B**, 269. Pp: 1475-1478.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Burt, A. and Trivers R. **2006**. Genes in conflict. Harvard University Press, Cambridge, MA (USA)
- Camacho, J.P.M. (ed.). **2004**. B Chromosomes in the Eukariote Genome. Karger, Basilea (Suiza)
- Jones, R.N. and Rees, H. **1982**. B chromosomes. Academic Press, NY (USA)

---

# 1.8

## Variación Geográfica y Adaptación Local al Estrés Osmótico en el Sapo Corredor

Ivan Gomez-Mestre<sup>1</sup> y Miguel Tejedo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dpto. Ecología de Humedales, <sup>2</sup>Dpto. Ecología Evolutiva. Estación Biológica de Doñana, CSIC. Avda. Américo Vespucio s/n, Isla de la Cartuja. Sevilla 41092, España.

### RESUMEN

A pesar de la baja capacidad osmorreguladora de los anfibios, algunas especies cuentan con poblaciones que se reproducen en ambientes salinos. Nosotros hemos estudiado la adaptación a la salinidad en poblaciones del sapo corredor (*Bufo calamita*) que crían en lagunas salobres del suroeste español. Combinamos experimentos de campo y laboratorio para determinar la base hereditaria de la tolerancia a la salinidad, estudiar qué cambios fisiológicos se producen, en qué contexto genético-poblacional ha evolucionado esta adaptación, y cuál puede haber sido el origen de la diferenciación en la tolerancia entre poblaciones. Encontramos que la tolerancia a la salinidad es un carácter heredable y ha divergido por selección ya que las poblaciones de ambientes salinos toleran mejor la salinidad que las poblaciones de ambientes dulceacuícolas. El grado de diferenciación genética adaptativa entre poblaciones es muy superior al de diferenciación genética neutral, lo que sugiere una primacía de los procesos selectivos frente a los estocásticos. En condiciones de salinidad los renacuajos acumulan electrolitos, sin usar desechos nitrogenados como osmolitos. La salinidad retrasa el desarrollo larvario, y parece interferir en los niveles de hormona tiroidea activa. Por último, la tolerancia a la salinidad larvaria no está asociada a la tolerancia a la desecación durante la fase juvenil terrestre de la especie, lo que sugiere una evolución independiente de estos caracteres.

### 1. INTRODUCCIÓN

Los anfibios poseen una alta permeabilidad tegumentaria y son generalmente incapaces de producir orina hiperosmótica con respecto al medio en que se encuentran. Esta circunstancia hace que sean pobres osmorreguladores y que resulten muy vulnerables al estrés osmótico. Por esta razón, la mayor parte de los anfibios se reproducen en ambientes de agua dulce, estando prácticamente ausentes en ambientes de agua salina. No obstante, unas pocas especies presentan poblaciones en estos ambientes estresantes, lo que sugiere que puedan haber experimentado fenómenos de adaptación local (1). Bajo condiciones de estrés osmótico, por salinidad o desecación, los adultos de especies que presentan cierta tolerancia, retienen orina, acumulan electrolitos y aumentan la síntesis de urea, usando ésta como osmolito (2). En cambio, durante la fase acuática, las larvas excretan mayoritariamente amonio, no siendo aún capaces de sintetizar urea como los adultos. Es posible, no

obstante, que en aquellas especies en que las fases acuáticas se hayan adaptado a medios hiperosmóticos, la activación del ciclo de la urea se produzca antes de la metamorfosis.

El sapo corredor, *Bufo calamita*, es una de las pocas especies que cuentan con poblaciones en ambientes salinos. En la Península Ibérica esta especie se puede encontrar reproduciéndose en numerosos humedales de naturaleza salina. Nuestro estudio se centró en analizar la posible adaptación a la salinidad del agua en poblaciones del sapo corredor (*Bufo calamita*) que se reproducen en humedales salinos del sur de la provincia de Córdoba, integrados en las Reservas Naturales Lagunas del Sur de Córdoba.

En este análisis de adaptación local, como en la mayoría de los casos, se desconoce aún la base genética molecular del carácter estudiado (tolerancia a la salinidad). Así, para determinar en qué medida la tolerancia a la salinidad presenta una base genética heredable que ha divergido por selección entre poblaciones, recurrimos a una combinación de experimentos ecológicos y genético-cuantitativos que nos permiten diseccionar la variación fenotípica observada en componentes causales, atribuibles, por una parte, a factores hereditarios, y por otra, a factores puramente ambientales. En los experimentos ecológicos, combinamos experimentos de trasplante recíproco (cría simultánea de individuos de poblaciones provenientes de distintos ambientes en cada uno de esos ambientes), con experimentos de ambiente común (cría en laboratorio de todas las poblaciones bajo condiciones controladas) que permiten controlar la variación ambiental y separar ésta de la variación genética.

En los experimentos genético-cuantitativos analizamos la variación fenotípica dentro de y entre familias para cada una de las poblaciones. Esto nos permite calcular estadísticamente qué fracción de la varianza en la tolerancia a la salinidad es heredable. Podemos, además, contrastar el grado de diferenciación genética entre poblaciones en su tolerancia a la salinidad con el grado de divergencia genética neutral. Esta estima de divergencia neutral correspondería a genes que no se encuentran bajo selección y cuya variación entre poblaciones responde a fenómenos estocásticos ligados a la dinámica poblacional. El examen de variación genética neutral puede obtenerse, por ejemplo, mediante el análisis de la variación alélica para *loci* microsatélites. La comparación de variación genética cuantitativa (adaptativa) y neutral (microsatélites) nos da idea de la importancia relativa de la selección en la diferenciación del carácter entre poblaciones (3). Si la diferenciación genética cuantitativa entre poblaciones es mayor que la diferenciación neutral, nos sugiere que la divergencia entre éstas se debe principalmente a la selección natural. En cambio, si el grado de diferenciación es similar para los dos tipos de variación genética, no podemos asegurar que la selección haya tenido un papel preponderante sobre los fenómenos estocásticos de deriva génica. Y en casos en los que la diferenciación neutral sea mayor que la cuantitativa, podemos pensar que el carácter se encuentra bajo selección estabilizadora que mantiene una similitud del carácter aún entre poblaciones aisladas y sometidas a deriva. Además, puesto que el flujo génico entre poblaciones tiende a amortiguar la diferenciación genética entre ellas, tener una estima del grado de diferenciación genética neutral y del flujo génico aporta un contexto histórico reciente en el que la adaptación pueda haber tenido lugar.

Una vez demostrado que el carácter estudiado es heredable, está bajo selección, varía entre poblaciones sometidas a distintos niveles del factor ambiental que selecciona para el carácter, y descrito el marco poblacional en que esta adaptación ha evolucionado, es importante considerar la cuestión del origen del carácter. Esto es así, especialmente, en el caso de organismos con ciclos de vida complejos, en los que un mismo genotipo se ve expuesto a muy distintas condiciones ambientales en las distintas fases vitales. En tal caso, si los caracteres expresados en distintas fases vitales (p.e. renacuajo, juvenil) estuvieran bajo un mismo control genético (genéticamente correlacionados), no serían libres de evolucionar independientemente. De este modo, la variación en la tolerancia a la salinidad en *B. calamita* puede haberse originado históricamente por dos vías principales: selección directa sobre mutaciones genéticas espontáneas que resultaban en una mayor tolerancia a la salinidad en el medio acuático larvario; o por selección indirecta por estar ligada a un carácter bajo selección, como la resistencia a la desecación durante la fase terrestre, la cual implica un estrés osmótico análogo al causado por la salinidad del agua. Esta segunda posibilidad vino sugerida por el hecho de que las poblaciones dulceacuícolas del suroeste español poseen una mayor tolerancia a la salinidad que incluso poblaciones costeras del Reino Unido que están expuestas a salinidad (4). Además, los cuerpos de agua salina son relativamente escasos y dispersos a lo largo de la distribución de *B. calamita*, mientras que existe un gradiente descendente muy marcado de sequía estival de sur a norte que implicaría elevados niveles de desecación en las poblaciones del sur de España. En el caso de que la tolerancia a la salinidad fuera asociada a la tolerancia a la desecación, podríamos considerar la primera como una exaptación de la segunda (reconversión de un carácter para una función diferente de aquella para la que fue originalmente seleccionado) (5).

## 2. OBJETIVOS Y METODOLOGÍA

Nuestros objetivos fueron a) examinar experimentalmente la hipótesis de adaptación local; b) determinar la heredabilidad del carácter; c) comparar los patrones de divergencia genética cuantitativa y neutral; d) estudiar los cambios fisiológicos inducidos por la salinidad; e) examinar la correlación entre tolerancia a la salinidad en la fase acuática y tolerancia a la sequía en la fase terrestre.

**2.1. Adaptación local.** Usamos experimentos de ambiente común para analizar la variación poblacional en la tolerancia embrionaria a la salinidad (6). Para la fase larvaria (renacuajos) combinamos experimentos de ambiente común con trasplantes recíprocos. Comparamos la tolerancia de tres poblaciones de agua dulce (Doñana, Sierra Norte de Sevilla, Sierra Morena de Córdoba) con dos de agua salina (ambas dentro de las Lagunas del sur de Córdoba). Determinamos el rango de tolerancia embrionaria aplicando un gradiente de 0 a 12 g/L, a incrementos de 2 g/L, usando agua de las lagunas salinas. A continuación usamos concentraciones subletales para comparar la tolerancia entre poblaciones, criando embriones de cada una de ellas en tres concentraciones (0, 6, 8 g/L) y determinando la supervivencia y tamaño tras la eclosión.

Los experimentos de trasplante en campo consistieron en criar larvas de tres poblaciones dulceacuícolas y una salada en dos ambientes salados y en dos dulceacuícolas. En cada laguna, criamos renacuajos de cada población en distintos cercados, y a la vez dispusimos renacuajos individualizados de distintas familias por población en vasos de plástico tapados con malla. Criamos las larvas hasta la metamorfosis, registrando la supervivencia, el periodo larvario y el tamaño en metamorfosis. Realizamos también un experimento de ambiente común larvario manteniendo los renacuajos individualmente en tres concentraciones (0, 6, 8 g/L).

**2.2. Heredabilidad de la tolerancia a la salinidad.** Para estudiar la variación genético-cuantitativa de la tolerancia a la salinidad, hicimos una serie de cruzamientos entre individuos dentro de población para dos poblaciones (dulceacuícola y salina). Obtuvimos también una serie de cruces híbridos recíprocos entre las poblaciones. Usamos, para cada población, un diseño factorial incompleto en el que se seleccionaron aleatoriamente un grupo de machos y hembras. Cada macho se cruzaba con dos o tres hembras que a su vez se cruzaban con dos o tres machos del grupo. Criamos la descendencia obtenida de estos cruces tanto en condiciones de campo (trasplante recíproco) como en laboratorio (ambiente común), manteniendo en todos los casos los renacuajos individualizados. Las estimas de los componentes de varianza se obtuvieron mediante análisis de máxima verosimilitud restringida (REML).

**2.3. Comparación de variación cuantitativa y neutral.** La diferenciación genética entre poblaciones en su tolerancia a la salinidad fue cuantificada calculando el parámetro  $Q_{ST}$ , que representa la proporción de varianza en la tolerancia que se debe a diferencias entre poblaciones, respecto del total:  $Q_{ST} = \sigma^2_E / (\sigma^2_E + 2\sigma^2_D)$ ; donde  $\sigma^2_E$  es la varianza debida a las diferencias entre poblaciones y  $\sigma^2_D$  es la varianza debida a las diferencias dentro de población.  $Q_{ST}$  es análogo a la estima  $F_{ST}$  de diferenciación poblacional en la composición alélica para una serie de *loci* determinados, y, por tanto, la comparación entre un tipo y otro de variación genética es directa. Para obtener la estima del grado de diferenciación genética neutral, analizamos la variación alélica en ocho *loci* microsatélites descritos para *B. calamita* (7). Muestreamos 23-25 individuos por población y procedimos a la extracción de ADN, amplificación por PCR e identificación de alelos en cada *loci* para cada individuo (8).

**2.4. Respuesta fisiológica al estrés osmótico.** Estudiamos el efecto de la salinidad del agua en varios parámetros fisiológicos en los renacuajos de *B. calamita*. Mediante determinaciones bioquímicas analizamos la concentración osmótica interna y las variaciones en la concentración de electrolitos. Contrastamos la hipótesis de que los renacuajos pudieran haber acelerado la activación de la síntesis de urea para usarla como osmolito, examinando la abundancia relativa de deshechos nitrogenados. Atendimos también a variaciones en indicadores metabólicos básicos como cantidad de glucosa y proteínas totales. Debido al reducido tamaño de las larvas de *B. calamita*, realizamos estos análisis a partir de homogenizados del cuerpo entero de cada larva, con la pérdida de información fisiológica que ello conlleva. Por otro lado, estudiamos el efecto de la salinidad del agua sobre el control endocrino de la

metamorfosis, analizando la concentración relativa de hormona tiroidea (hormona que controla la tasa de desarrollo en anuros y cuya elevación desencadena la metamorfosis). Determinamos los niveles de tiroxina (T4, precursor) y tri-iodotironina (T3, forma activa) en estadios pre- y post-metamórficos de individuos sometidos a distintas concentraciones salinas.

Todos estos análisis se llevaron a cabo en el departamento de Bioquímica del Hospital de Valme, Sevilla. Las determinaciones bioquímicas se obtuvieron usando distintas técnicas implementadas en un autoanalizador mientras que las determinaciones hormonales se obtuvieron mediante inmunoensayo por electroquimoluminiscencia (ECLIA) (9).

### **2.5. Relación entre tolerancia a la salinidad y tolerancia a la desecación.**

Para testar la idea de asociación entre tolerancia a la salinidad durante la fase acuática y tolerancia a la desecación durante la fase terrestre, colectamos larvas de tres poblaciones, dos de origen dulceacuícola y una de origen salino, y criamos a todas las larvas en condiciones dulceacuícolas, y por tanto sin estrés osmótico. La supervivencia larvaria fue muy alta, y los juveniles que iban metamorfoseando fueron transferidos individualmente a cajitas de plástico de 0.5 L con un sustrato inerte que nos permitió tener un alto grado de control sobre su potencial hídrico (vermiculita). Así, establecimos dos tratamientos, húmedo y seco, en los que criamos a los sapillos de las distintas poblaciones durante cinco semanas. A lo largo de ese periodo fuimos determinando la supervivencia y la tasa de crecimiento de cada uno de ellos, así como observaciones comportamentales y pruebas de eficacia de captura de presas (5).

## **3. RESULTADOS**

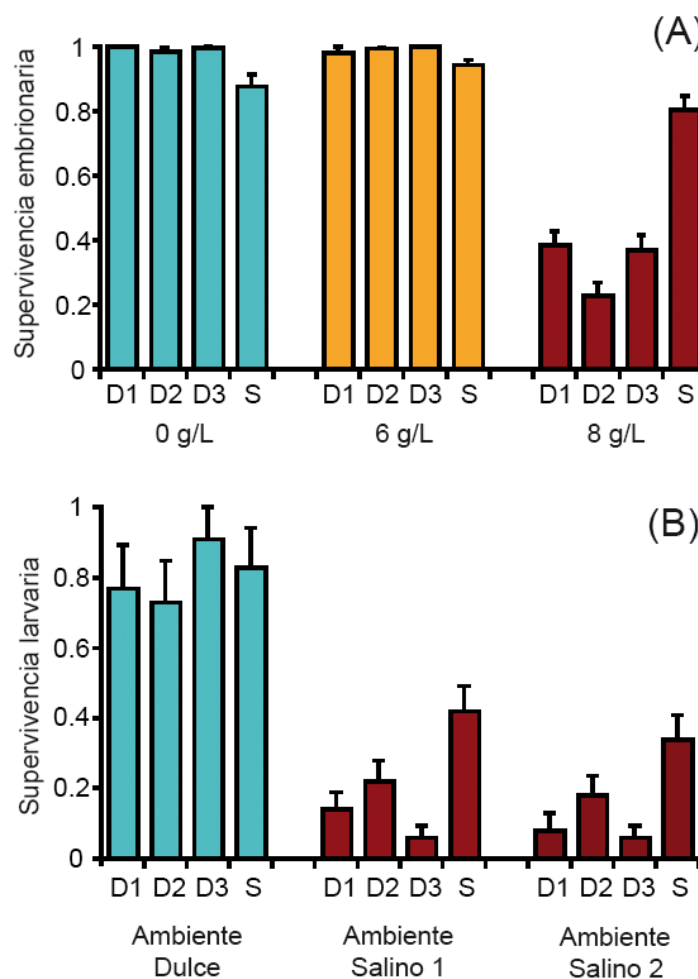
Los resultados de los trasplantes en campo y de los experimentos de ambiente común fueron consistentes en demostrar que la salinidad impone un estrés considerable a las larvas de *B. calamita*, reduciendo su probabilidad de supervivencia, alargando su periodo larvario (con lo que incurren en riesgo de desecación de la charca), y reduciendo su tamaño en metamorfosis. Todas las poblaciones estudiadas parecían compartir un umbral de tolerancia embrionaria semejante (10 g/L) por encima del cual ningún embrión fue capaz de sobrevivir.

Sin embargo, a pesar de que el agua salina fue perjudicial para todas las poblaciones, aquellas de origen salino mostraron una mayor supervivencia, tanto embrionaria (en el rango 0-9 g/L) como larvaria, que las poblaciones de origen dulceacuícola (Fig. 1). Las poblaciones de origen salino tendieron también a una menor duración del periodo larvario tanto en los trasplantes como en ambiente común controlado (6). En los ambientes dulceacuícolas, por el contrario, no existieron diferencias entre poblaciones en supervivencia o variables de metamorfosis. Este resultado (interacción 'población x ambiente') es el primer indicio de que la tolerancia a la salinidad tiene una base genética y se encuentra bajo selección, y, por tanto, demuestra que las poblaciones en los distintos ambientes han divergido en su capacidad de tolerancia.

Usando la supervivencia diferencial entre familias como estimador del grado de tolerancia a la salinidad, detectamos componentes significativos de



varianza genética aditiva ( $V_A$ ) durante la fase embrionaria, así como efectos maternos ( $V_M$ ) que fueron tanto más marcados cuanto mayor era la salinidad. El análisis de los híbridos recíprocos (macho 'dulceacuícola' x hembra 'salina' y viceversa) fue concordante con el efecto materno detectado. Aunque su tolerancia a la salinidad resultó intermedia entre las poblaciones parentales, los embriones híbridos tendieron a asemejarse claramente a la población de origen materno (i.e., los híbridos ♂<sub>DULCEACUÍCOLA</sub> X ♀<sub>SALINA</sub> mostraron una tolerancia más próxima a la población salina y los ♂<sub>SALINA</sub> X ♀<sub>DULCEACUÍCOLA</sub> más próxima a la población dulceacuícola). La variación genético-cuantitativa en tolerancia a la salinidad fue mucho menos acusada en la fase larvaria que en la embrionaria, y los efectos no-aditivos y maternos se vieron consecuentemente reducidos.



**Figura 1. Supervivencia diferencial entre poblaciones.** La tolerancia a la salinidad es más alta en poblaciones expuestas a estrés osmótico que en poblaciones dulceacuícolas. Las letras bajo cada barra indican las distintas poblaciones, tres dulceacuícolas (D1-D3) y una salina (S). (A) Una concentración de 8 g/L en el ambiente común redujo la supervivencia embrionaria, pero el impacto fue menor para la población salina. (B) El transplante en campo mostró cómo en las lagunas saladas la supervivencia larvaria era menor, si bien el efecto para la población salina era más leve.

Igualmente, encontramos que los híbridos mostraron una respuesta más elevada que las poblaciones parentales en las tasas de desarrollo y crecimiento larvario, lo que sugiere la existencia de *heterosis* o vigor híbrido. Todos estos resultados demuestran que la tolerancia a la salinidad tiene una base heredable y que las poblaciones de *B. calamita* de las lagunas salinas del sur de Córdoba se encuentran localmente adaptadas y diferenciadas con respecto a las poblaciones de agua dulce estudiadas.

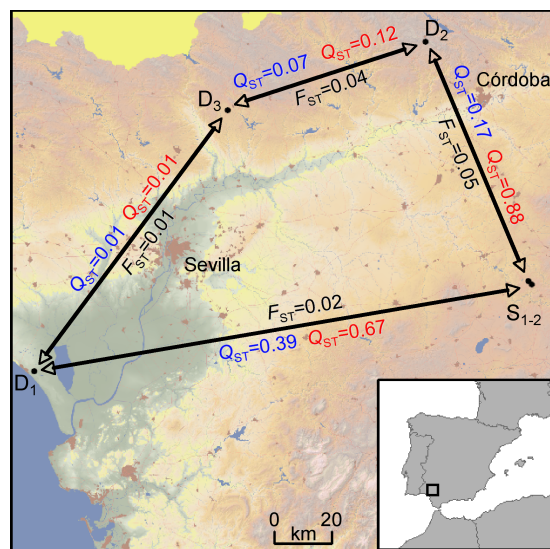
Algunos modelos de adaptación a ambientes heterogéneos predicen que la adaptación a unos factores ambientales puede conllevar una pérdida de eficacia biológica frente a otros factores distintos, lo que se ha visto confirmado empíricamente en numerosos sistemas. Por tanto, la adaptación a ambientes salinos podría llevar aparejada una disminución de la eficacia en condiciones de agua dulce, es decir, un efecto pleiotrópico antagonista. En nuestro sistema no pareció darse el caso, y si bien en algún experimento pareció que las poblaciones salinas pudieran tener una supervivencia ligeramente menor en agua dulce que las poblaciones dulceacuícolas, tal efecto no fue estadísticamente significativo ni consistente entre experimentos, por lo que no tenemos razones para pensar que se de una pleiotropía antagonista.

La diferenciación neutral entre poblaciones resultó ser minúscula (apenas un 4% del total), a pesar de que las poblaciones muestran una clara divergencia genética en su tolerancia a la salinidad. Calculamos los  $Q_{ST}$  en tres condiciones crecientes de salinidad diferentes, mostrando valores notablemente mayores que los valores de  $F_{ST}$  (Fig. 2), lo cual refuerza la idea de la divergencia adaptativa entre poblaciones. El grado de divergencia genética entre poblaciones de origen dulceacuícola y salino en la tolerancia a la salinidad aumentó a medida que aumentamos la concentración salina, sugiriendo que las diferencias genéticas en la tolerancia se expresan con mayor claridad en las condiciones de mayor estrés osmótico (Fig. 2) (8). De forma congruente con esta observación, el grado de diferenciación genética en tolerancia a la salinidad fue mayor entre pares de poblaciones dulceacuícola y salina, diferenciación que se acentuó a medida que aumentaba la salinidad del agua.

Todo ello indica que la adaptación a ambientes salinos en estas poblaciones ha ocurrido bien bajo una presión de selección intensa y a pesar de flujo génico con poblaciones dulceacuícolas; o bien en un intervalo de tiempo demasiado breve como para que se produjera una segregación de alelos neutrales entre poblaciones. Las cubetas de las lagunas salinas estudiadas se hallan sobre sedimentos cuaternarios datados en unos 5.000 años. Si asumimos que *B. calamita* pudiera haber colonizado estas lagunas desde su formación y que hayan criado exitosamente en ellas desde entonces, podemos afirmar que la adaptación local a la salinidad en estas poblaciones ha evolucionado en menos de 2000 generaciones. El número real de generaciones tiene por fuerza que ser netamente inferior ya que en registros durante los últimos 15 años hemos comprobado que las lagunas se secan en ocasiones antes de que las larvas de *B. calamita* pudieran metamorfosear, o alcanzan salinidades que rebasan los límites de tolerancia de la especie.

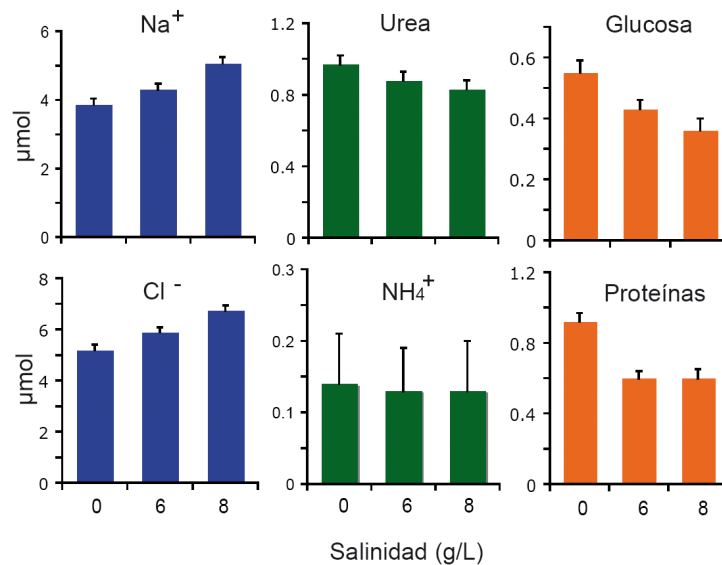
Los renacuajos de *B. calamita* sufren una ralentización en el desarrollo y en el crecimiento cuando se ven sometidos a estrés salino. Aunque existen niveles detectables de urea y por tanto su síntesis está activa durante la fase

larvaria de *B. calamita*, no existieron diferencias entre tratamientos salinos en su concentración, indicando que no es utilizado como osmolito (Fig. 3). Por el contrario, los renacuajos parecen osmoregular hasta un cierto punto ( $\sim 90$  mOsm), a partir del cual comienzan a acumular electrolitos pasivamente (Fig. 3), incapaces de elevar su la presión osmótica interna por encima de la ambiental. Los renacuajos parecen pagar un coste metabólico por el hecho de estar sometidos a estrés osmótico, como parece señalar el que los niveles de glucosa y proteínas totales fueran significativamente menores en agua salina (9).



**Figura 2. Diferencias entre variación genética cuantitativa y neutral.** La diferenciación genética cuantitativa entre poblaciones fue mayor que la neutral ( $Q_{ST} \gg F_{ST}$ ). Además, las diferencias cuantitativas fueron tanto mayores cuanto mayor fue la salinidad en que se midieron (azul, 0 g/L; rojo, 8 g/L), y fueron también mayores entre pares de poblaciones dulce-salada, que entre poblaciones dulces.

La concentración de hormona tiroidea controla la tasa de desarrollo en anuros. Su concentración va lentamente en aumento durante los estadios iniciales de desarrollo larvario y luego aumenta rápidamente alcanzando un pico durante la metamorfosis. Observamos que, para un mismo estadio de desarrollo, el nivel de la forma precursora de la hormona (T4) era significativamente más alto a mayor salinidad, mientras que la concentración de la forma activa (T3) era significativamente más bajo (9). Esta aparente disminución en la concentración de T3 explica en parte el retraso en la metamorfosis de renacuajos criados en agua salina, pero no está claro el motivo por el que esta hormona pueda tener niveles más bajos en estas circunstancias. Algunas hormonas involucradas en el mantenimiento del balance hídrico y la retención iónica pueden tener efectos antagónicos con la hormona tiroidea, como en el caso de la prolactina. Por el momento esto es sólo una hipótesis que requiere verificación experimental.



**Figura 3. La salinidad provoca alteraciones en la fisiología larvaria.** Los renacuajos sufrieron un incremento significativo en la concentración de electrolitos (sodio y cloro), con el incremento en la salinidad. Aún siendo capaces de sintetizar urea, no la usaron como osmolito (no hubo diferencias entre tratamientos), a pesar de que sí lo hacen durante la fase terrestre. La salinidad causó una reducción significativa en los niveles de glucosa y proteínas totales.

Los efectos de la desecación en el medio terrestre tuvieron el mismo impacto en las poblaciones de ambientes acuáticos dulceacuícolas que en la de origen acuático salino, poniendo de relieve que ésta no gozaba de mayor tolerancia. Esta falta de concordancia entre tolerancia larvaria a la salinidad en el medio acuático y la tolerancia de los juveniles a la desecación en el medio terrestre resta credibilidad a la idea de exaptación y favorece la noción de que la tolerancia a la salinidad haya evolucionado por selección directa sobre variaciones genéticas que se hayan podido extender a poblaciones vecinas incluso de agua dulce, máxime cuando el carácter no parece estar contra-seleccionado en ambientes dulceacuícolas. Las diferencias entre el suroeste español y las poblaciones inglesas van en paralelo a una disminución generalizada de la variación genética (aparentemente tanto de la adaptativa como de la neutral) debido a los fenómenos de refugio y posterior expansión postglaciares (10).

#### 4. CONCLUSIONES

(1) El estrés osmótico causa una alta mortalidad embrionaria y larvaria, así como una ralentización de la tasa de desarrollo asociada a una disminución en los niveles de hormona tiroidea (T3). (2) Las poblaciones de *Bufo calamita* que ocupan ambientes salinos presentan en dichos ambientes una ventaja adaptativa clara con respecto a poblaciones de ambientes dulceacuícolas. En

los ambientes dulceacuícolas no encontramos diferencias entre poblaciones de distinto origen ecológico, lo cual sugiere una ausencia de costes de la adaptación. (3) La adaptación local a la salinidad en estas poblaciones tiene una base genética aditiva, aunque también intervienen efectos maternos y de dominancia (heterosis). (4) El análisis de microsatélites mostró que las poblaciones tolerantes a la salinidad no se encuentran aisladas sino que experimentan un flujo genético moderado con poblaciones origen dulceacuícola. Igualmente, la comparación entre variación genética cuantitativa y neutral mostró que la divergencia entre poblaciones de origen salino y dulceacuícola en tolerancia al estrés osmótico es netamente superior a la esperable por fenómenos estocásticos de deriva, por lo que podemos afirmar que la divergencia en tolerancia obedece a la acción de la selección natural. (5) La falta de asociación entre tolerancia a la salinidad en las fases acuáticas de la especie, y la tolerancia a la desecación terrestre de la fase juvenil no apoya la idea de una selección correlativa indirecta de la tolerancia a la salinidad del agua.

**5. AGRADECIMIENTOS.** Queremos agradecer la colaboración de R. Reques, F. Recio, E. Ramayo, J. Estepa, B. Moreno, J. Corral, a la administración de las Reservas Naturales Lagunas del Sur de Córdoba. Esta investigación fue financiada por la beca AP97 05421411 a IGM y los proyectos PB96-0861, CGL2004-01872/BOS, CGL2005-02931/BOS a MT, del Ministerio de Educación y Ciencia.

## 6. REFERENCIAS

1. Boutilier, R.G., D.F. Stiffler, y D.P. Toews. 1992 *Exchange of respiratory gases, ions, and water in amphibious and aquatic amphibians*. En *Environmental physiology of the amphibians*, M.E. Feder y W.W. Burggren, Editores. University of Chicago Press: Chicago. p. 81-124.
2. Balinsky, J.B. 1981. *Adaptation of nitrogen metabolism to hypertonic environment in Amphibia*. J. Exp. Zool. **215**: 335-350.
3. Merila, J. y P. Crnokrak. 2001. *Comparison of genetic differentiation at marker loci and quantitative traits*. J. Evol. Biol. **14**: 892-903.
4. Beebee, T.J.C. 1985. *Salt tolerances of natterjack toad (Bufo calamita) eggs and larvae from coastal and inland populations in Britain*. Herpetological Journal **1**: 14-16.
5. Gomez-Mestre, I. y M. Tejedo. 2005. *Adaptation or exaptation? An experimental test of hypotheses on the origin of salinity tolerance in Bufo calamita*. J. Evol. Biol. 2005. **18**: 847-55.
6. Gomez-Mestre, I. y M. Tejedo. 2003. *Local adaptation of an anuran amphibian to osmotically stressful environments*. Evolution **57**: 1889-1899.
7. Rowe, G., T.J.C. Beebee, y T. Burke. 1997. *PCR primers for polymorphic microsatellite loci in the anuran amphibian Bufo calamita*. Mol. Ecol. **6**: 401-402.
8. Gomez-Mestre, I. y M. Tejedo. 2004. *Contrasting patterns of quantitative and neutral genetic variation in locally adapted populations of the natterjack toad, Bufo calamita*. Evolution **58**: 2343-2352.
9. Gomez-Mestre, I., E. Ramayo, J. Estepa, y M. Tejedo. 2004. *Developmental alterations and osmoregulatory physiology of a larval anuran under osmotic stress*. Physiol. Biochem. Zool. **77**: 267-274.

10. Beebee, T.J.C. y G. Rowe. 2000. *Microsatellite analysis of natterjack toad Bufo calamita Laurenti populations: consequences of dispersal from a Pleistocene refugium*. Biol. J. Linn. Soc. **69**: 367-381.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Rose, M.R. y G. V. Lauder (Eds.). 1996. *Adaptation*. Academic Press, San Diego. 575 p.
- Feder, M.E. y W.W. Burggren (Eds.). 1992. *Environmental physiology of the amphibians*. Chicago University Press, Chicago. 646 p

---

# 1.9

## Relevancia de la Herencia No Vertical en *Legionella pneumophila*

Mireia Coscollá<sup>1,2,3</sup>, Iñaki Comas<sup>4</sup> y Fernando González Candelas<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva y Dpto. de Genética, Universitat de València, Apdo. Correos 22085, 46071 Valencia, España. <sup>2</sup>CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Valencia, España. <sup>3</sup>Área Genómica y Salud, Centro Superior de Investigación en Salud Pública, Av. Cataluña 21, 46020 Valencia, España. <sup>4</sup>Div. Mycobacterial Research, MRC National Institute for Medical Research, The Ridgeway, London, RU.

### RESUMEN

Una de las ideas más revolucionarias de las propuestas por Darwin es la ancestralidad común de todos los seres vivos, base de la exitosa imagen del “Árbol de la vida”. La reproducción por fisión binaria de bacterias y arqueas parecía garantizar la reconstrucción de las relaciones evolutivas entre las especies de ambos dominios y, durante unos años, esta idea se mantuvo. Sin embargo, a medida que se han acumulado datos de secuencias de distintos microorganismos, primero de genes y posteriormente de genomas, esta visión simple del árbol de la vida procariota se ha ido abandonando. Existen dos procesos en bacterias, la transferencia horizontal de genes (TGH) y la recombinación homóloga, que permiten el intercambio de material hereditario de manera horizontal. Estos dos procesos actúan a escalas muy diferentes. La transferencia horizontal se suele dar entre diferentes especies incluso pertenecientes a diferentes dominios. La secuenciación de genomas ha revelado un amplio espectro de tasa de transferencia génica horizontal, desde especies altamente promiscuas a especie con ausencia total de TGH. De forma semejante pero a nivel intraespecífico, la ausencia o presencia en grado elevado de recombinación homóloga da lugar desde estructuras poblacionales estrictamente clonales resultado de su herencia vertical a poblaciones casi sexuales resultado de su alta tasa de recombinación. Pero, ¿hasta qué punto son reconciliables estas posturas extremas? ¿Podemos situar a cada especie procariota en un punto concreto del espectro cubierto entre ellas?

En el trabajo que presentamos aquí, hemos aprovechado la disponibilidad de información genética y genómica de la bacteria *Legionella pneumophila* para cuantificar, al menos en una primera aproximación, la importancia de la herencia no vertical en la misma a tres niveles diferentes. Primero, evaluamos la extensión de la recombinación genética a nivel poblacional en muestras clínicas y ambientales de la Comunidad Valenciana, y lo comparamos con los niveles de mutación poblacional en este mismo conjunto de datos. En segundo lugar, hemos utilizado las secuencias completas de los cuatro genomas de esta bacteria publicados hasta el momento para evaluar la extensión de la recombinación a nivel genómico. Los resultados muestran que la recombinación no es homogénea pero que sí que afecta a un gran porcentaje del genoma. Finalmente, hemos utilizado la secuencia completa de cuatro cepas de *L. pneumophila* para analizar el origen evolutivo más probable para cada uno de los genes presentes en al menos uno de los 4 genomas analizados. Esto ha permitido apreciar que casi el 40% de los genes están más relacionados con otros linajes diferentes a las  $\gamma$ -Proteobacterias, al que pertenece *Legionella*. Los resultados obtenidos nos llevan a concluir que la herencia no vertical de material genético ha jugado y sigue desempeñando un papel muy importante en la

evolución y estructura poblacional de *L. pneumophila*. Este es el primer estudio que evalúa de forma integral la naturaleza y extensión de la herencia no vertical en un patógeno bacteriano.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los primeros análisis de poblaciones bacterianas se llevaron a cabo en los años 80 mediante el análisis electroforético de varios isoenzimas (MLEE). Estos primeros análisis revelaron un bajo nivel de diferenciación entre cepas de la bacteria *Escherichia coli*, lo que llevó a describir sus poblaciones como clonales, resultado de su reproducción por fisión binaria, siendo dominadas por ciertas variantes muy frecuentes y globalmente distribuidas. La idea de poblaciones bacterianas clonales se generalizó a otras especies entre las que se encontraba *L. pneumophila* para la que se postuló una estructura genética altamente clonal (1), idea que se ha mantenido hasta nuestros días.

El modelo clonal fue el paradigma aceptado hasta que, a principios de los años '90, algunos estudios con datos de secuencia revelaron escasa clonalidad en poblaciones de *Bacillus subtilis* y *Neisseria gonorrhoeae* (2). Desde entonces hay cada vez más evidencia de que la relación entre las tasas de recombinación, que permite el intercambio horizontal de polimorfismos, y de mutación que es la que los genera implica una determinada estructura poblacional entre la estricta clonalidad y la casi sexualidad. Entre las bacterias patógenas encontramos un amplio rango de valores, desde bacterias muy recombinantes, como *Helicobacter pylori*, hasta especies altamente clonales, como *Staphylococcus aureus*.

La transferencia no vertical de material genético entre individuos de una misma población tiene una gran relevancia para los niveles de variación genética de las poblaciones. La introducción de estos procesos de "parasexualidad" implica que las mutaciones pueden dispersarse a linajes diferentes de en los que surgieron, moderando el efecto de eventos que purgan la diversidad genética que va surgiendo en la población. Pero también puede ser una fuerza evolutiva cohesiva, permitiendo que un variante se expanda por todas las poblaciones, de modo que se reduciría la diversidad. Así pues, puede aumentar la diversidad genética en las poblaciones generando nuevas combinaciones por barajado de variantes ya existentes, o también puede disminuir dicha diversidad si un variante se propaga por la población desplazando al resto (4).

Pero la no clonalidad de las bacterias no sólo se da a nivel poblacional sino que se puede observar a nivel de diferencias en el contenido génico de cepas de una misma especie. La filogenómica bacteriana ha puesto de manifiesto que en todos los genomas existe un número variable de genes cuya presencia se debe a un proceso de TGH. Existen desde genomas en que no se detecta ningún suceso de este tipo, hasta otros en que más de la mitad de los genes del genoma parecen haber estado involucrados en este tipo de fenómenos.

La TGH en bacterias es un proceso de recombinación no recíproco, pues sólo el genoma de la bacteria receptora incorpora material genético exógeno, lo que no hace la donante, sea de la misma o de distinta especie. Hasta la fecha



se han descrito tres mecanismos de intercambio genético en bacterias: transformación, transducción y conjugación (3).

Bajo condiciones ambientales adecuadas, la incorporación de uno o varios genes, puede suponer una ventaja adaptativa, que podría extenderse en la población. Este es el caso de los factores de virulencia y los genes de resistencia a antibióticos, que no sólo se expanden por la población sino también entre diferentes especies. Los organismos patógenos en los que la recombinación es frecuente presentan riesgos añadidos para la salud pública y personal por la alta probabilidad de dispersión de resistencias y factores de virulencia. Así pues, el conocimiento de la extensión de la recombinación y la transferencia genética horizontal en microorganismos patógenos, como bacterias, podría tener relevantes implicaciones prácticas.

*Legionella pneumophila* es una bacteria clasificada en el único género de la familia Legionellaceae, grupo monofilético incluido en la subdivisión gamma-2 de las Proteobacterias. Desde que en 1977 fuera identificada como agente causal de un brote de neumonía en una convención de legionarios jubilados en un hotel de Filadelfia, se la responsabiliza de aproximadamente el 90% de los casos de legionelosis y fiebre de Pontiac. Como el resto de especies del género, se encuentra en ambientes acuáticos naturales, planctónicamente o parasitando amebas y otros protozoos. Desde aquí coloniza las redes de distribución de agua, proliferando masivamente, a veces en comunidades complejas como son los "biofilms". *Legionella* se encuentra y se multiplica en el interior de protozoos, entre ellos 14 especies de amebas y 2 de protozoos ciliados. Pero también puede ser un parásito facultativo de macrófagos humanos. Parece que la interacción con los protozoos puede jugar un papel importante en la transmisión de *Legionella* a humanos (5).

Diversos estudios han aportado evidencias de recombinación en *L. pneumophila*, centrándose en la estructura en mosaico del complejo de virulencia *dot*, así como evidencias de transferencia genética horizontal que afectan a factores de virulencia, como el sistema de secreción tipo IV y los genes del sistema *dot/icm*.

La secuenciación del genoma de *Legionella* –en la actualidad hay 4 cepas completamente secuenciadas- ha puesto de manifiesto la presencia de genes eucariotas en los mismos, lo que abre la posibilidad de que estas bacterias hayan obtenido genes de organismos muy alejados. Además, ha proporcionado evidencias de transferencia de bloques de genes entre genomas de *L. pneumophila* (tanto cepas clínicas como ambientales) y también de otras especies de *Legionella*. Esta plasticidad de los genomas de *Legionella* hace plantearse nuevos estudios acerca de la proporción de material genético que puede venir de los diferentes grupos de organismos. En este sentido, la filogenómica y la genómica comparativa pueden aportar mucha información sobre dichas transferencias, como por ejemplo, el origen filogenético más probable, los grupos filogenéticos más comúnmente implicados, o las categorías funcionales de dichos genes.

## 2. OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es analizar los niveles de recombinación y transferencia genética horizontal (TGH) en *L. pneumophila* para estimar su importancia en la generación de diversidad genética de esta bacteria, estudiándolos a distintos niveles: a nivel poblacional, con la secuenciación de 9 loci (*asd*, *fliC*, *mip*, *mompS*, *pilE*, *proA* y 3 regiones intergénicas L2, L6 y L14) en un conjunto de 89 muestras de *L. pneumophila*; a nivel genómico, a través de la secuencia completa y común a los cuatro genomas de esta especie disponibles por el momento; y mediante el estudio filogenómico de estos genomas, con el fin de analizar el origen de sus genes y estudiar el papel de la TGH con otras especies en su evolución.

## 3. RESULTADOS

**3.1. Recombinación poblacional.** Estimamos la recombinación a nivel poblacional a través de la detección de incongruencias entre las reconstrucciones filogenéticas para los 9 marcadores empleados en un conjunto común de 89 muestras, así como por la detección de sucesos de recombinación (con su correspondiente probabilidad), puntos de rotura y posibles secuencias parentales. Además, se obtuvieron distintas estimas de las tasas de recombinación y mutación poblacionales.

Una forma de detectar procesos de recombinación homóloga es la comparación de los árboles filogenéticos de cada uno de los nueve loci estudiados. Este análisis reveló importantes incongruencias entre los árboles analizados, apoyadas por una alta significación en los contrastes estadísticos aplicados. Sin embargo, mediante esta aproximación es difícil delimitar que cepa/s es responsable de la incongruencia y donde empieza y acaba ésta, lo que se conoce como puntos de rotura.

Para resolver estas incógnitas, utilizamos seis métodos de detección de recombinación implementados en RDP (6) y tuvimos en cuenta solamente los eventos detectados por al menos dos de ellos. Los puntos de rotura de los fragmentos recombinantes siempre se detectaban en las posiciones límite entre dos loci, lo que indicaba que los loci para los que se detecta la recombinación están incluidos en el fragmento recombinante. Por tanto, en las muestras analizadas detectamos recombinación intergénica pero ninguna evidencia de recombinación intragénica.

Por último, empleamos una tercera aproximación para identificar posibles fragmentos recombinantes, analizando las posibles desviaciones del número de sustituciones nucleotídicas esperadas para cada locus y muestra según su correspondiente diversidad. Para ello, razonamos que, a escala poblacional, si la recombinación ha sucedido relativamente recientemente, producirá regiones con mayor o menor diversidad de lo que se observa para el resto del genoma y para el resto de muestras en esa zona y que pueden ser detectadas mediante pruebas estadísticas.

A partir de la información generada por las tres aproximaciones, nos centramos en los eventos de recombinación detectados por al menos dos de las tres metodologías. Así, pudimos detectar que todos los loci, excepto

*mompS*, mostraban haplotipos con al menos un fragmento recombinante, siendo *asd* el que menos haplotipos recombinantes presentaba (uno sólo), hasta un máximo de 16 en *pilE*. El mayor número de eventos detectados para un mismo locus fue de cinco, en *L2*, mientras que en *pilE* un solo evento está asociado con 16 haplotipos recombinantes (47 muestras de las 89 estudiadas). En cuanto a los haplotipos, sólo 8 de ellos no mostraron ningún fragmento recombinante, que corresponde a 25 de las 89 muestras estudiadas (28%).

La comparación entre el número de diferencias observadas y las esperadas si no hubiera recombinación mostró que, de las 838 diferencias observadas en total, 195 de ellas se podrían deber a recombinación, y además, no se observan al menos 44 mutaciones por este mismo fenómeno.

A continuación, mediante la aplicación de un procedimiento de inferencia bayesiana, determinamos la relación entre las tasas de recombinación y la de mutación (7).

La contribución relativa de la recombinación y la mutación a la variación nucleotídica en estas muestras se puede estimar mediante el cociente de las tasas respectivas ( $\rho/\theta$ ) y varía entre 0.44 a 0.87. En cambio, el cociente de probabilidades de que un sitio sea alterado por recombinación o mutación ( $r/m$ ) toma valores entre 2 y 9, es decir, es unas 5 veces más probable que un sitio sea alterado por recombinación que por mutación. En total, este procedimiento identificó unos 103 eventos de recombinación de unos 305 nucleótidos de longitud en promedio y que introducen 755 sustituciones.

El análisis poblacional de los datos multilocus en especies altamente recombinantes como *Neisseria meningitidis* (7) ha revelado, usando el mismo método, que  $r/m=5-8$  y  $\rho/\theta=0.7-1.2$ , estimas ambas ligeramente superiores a las encontradas en este trabajo para *L. pneumophila*. Por el contrario, en *Bacillus cereus* (7) las estimas son  $r/m=1.3-2.8$  y  $\rho/\theta=0.2-0.5$ , ambas considerablemente menores que las obtenidas para *L. pneumophila*. Consecuentemente, *L. pneumophila* estaría en un nivel intermedio entre *N. meningitidis* y *B. cereus* en cuanto a la importancia de la recombinación con respecto a la mutación a nivel poblacional.

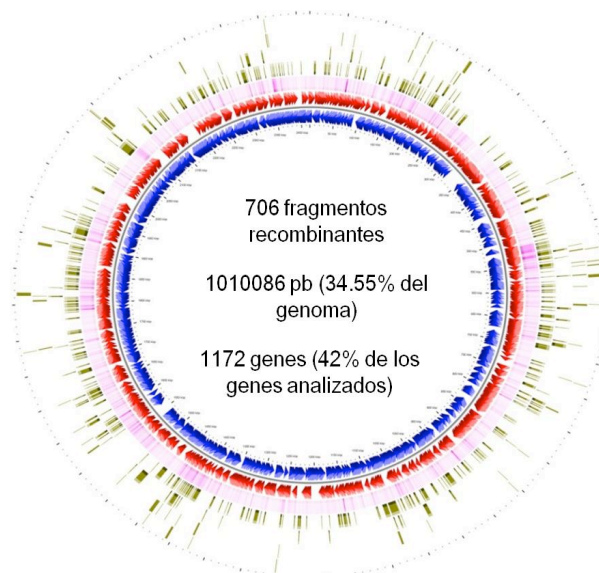
**3.2 Recombinación a nivel genómico.** El primer paso a la hora de analizar procesos evolutivos a nivel genómico es obtener un alineamiento común a todos ellos. Nosotros alineamos las secuencias de los genomas completos de las cuatro cepas de *L. pneumophila* publicados hasta la fecha, *Lens*, *Paris* (8), *Philadelphia* (9) y *Corby* (NC\_009494). Como resultado obtuvimos un total de 38 bloques comunes para los cuatro genomas, que concatenados produjeron un alineamiento de 2,920,612 pares de bases y que utilizamos para el análisis de recombinación a nivel genómico.

La detección de posibles eventos de recombinación se realizó con el programa RDP (6). Así, en los 38 bloques encontramos 706 fragmentos recombinantes, con un tamaño de 1430.72 pb en promedio y 769.5 de mediana. La longitud total del genoma implicado en eventos de recombinación, según este análisis, es de 1,010,086 pb, lo que representa un 34.55% del genoma común, afectando a 1172 genes (42.76% del total, Figura 1).

Por otra parte, el cociente  $\rho/\theta$  para los genomas completos es de 0.01; en cambio, la razón de probabilidades de que un sitio sea alterado por recombinación o mutación es de 0.29, es decir, hay unas 3 veces más de

probabilidad de que un sitio sea alterado por mutación que por recombinación. En total, encontramos unos 1703 eventos de recombinación de unos 220 nucleótidos de longitud media y que introducen 49136 sustituciones entre los 4 genomas considerados. El tamaño de la fracción clonal del genoma sería de 1,260,128 pb. Es decir, que en aproximadamente 1.2 millones de pares de bases de estos 4 genomas no se han producido eventos de recombinación en ningún punto de la genealogía.

Si lo comparamos con otros estudios similares a nivel genómico, *Salmonella enterica*, cuyo alineamiento de casi 5 Mb en 56 bloques, reveló sólo 50 regiones importadas de una longitud media de 800 pb que han introducido 872 sustituciones. En *L. pneumophila* encontramos un número muy superior de fragmentos recombinantes (1703) pero mucho más pequeños (220 pb). Así, a nivel de todo el genoma parece que predominan fragmentos recombinantes pequeños, aunque también se pueden apreciar unos pocos fragmentos grandes, que afectan a una o dos cepas.



**Figura 1. Distribución de los fragmentos recombinantes en los 2.9 Mb del genoma común a las cuatro cepas de *L. pneumophila* secuenciadas.** Los genes aparecen en rojo y azul, la diversidad nucleotídica aparece en el anillo rosa, y los eventos de recombinación detectados en verde.

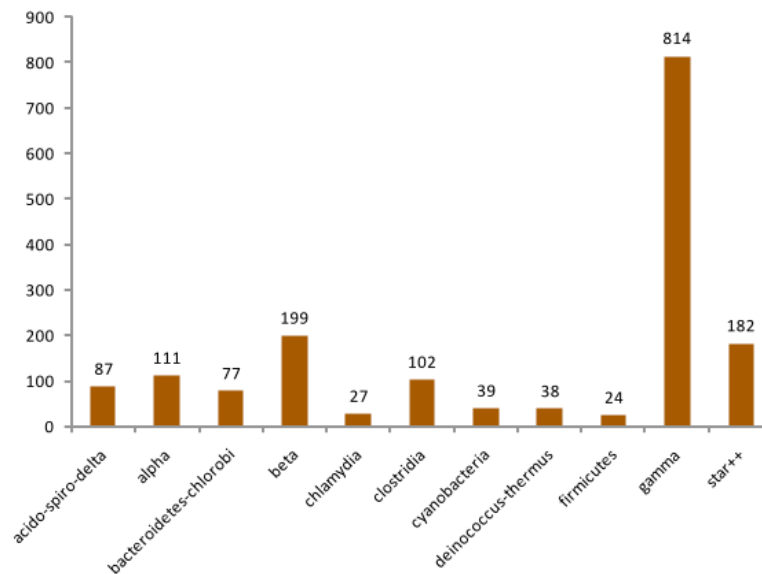
### 3.3 Análisis filogenómico de la transferencia genética horizontal.

Analizamos el origen y relaciones filogenéticas de los genes presentes en el genoma de *Legionella pneumophila* mediante una aproximación filogenómica. Para ello, incluimos en el análisis 37 genomas completos de otras bacterias que comparten algún nicho con ella, como en infección simultánea de amebas, y algunos representantes de otras clases.

La búsqueda e identificación de ortólogos a los genes de *L. pneumophila* en los 37 genomas se inició mediante BLAST con los 3,846 genes que

conforman el pangenoma (conjunto de todos los genes presentes en al menos un genoma) de *Legionella*. Obtuvimos, tras la aplicación sucesiva de varios filtros, un subconjunto de 1700 genes con niveles suficientemente elevados de similitud ( $E\text{-valor} < 1E-10$ ) y presentes en al menos 8 genomas para considerar su origen evolutivo. Se comprobó mediante pruebas de congruencia filogenética cual era el origen filogenético más probable de cada gen. Los resultados se resumen en la Figura 2. De los 1700 genes, sólo 996 agrupan significativamente con otras  $\gamma$ -proteobacterias, grupo al que pertenece esta *Legionella*, por lo que alrededor de un 41.4% de los genes de esta especie no tienen un origen más probable en el las  $\gamma$ -proteobacterias, siendo la TGH la causa más probable de estas incongruencias. Aparte del número absoluto (704 genes), llama la atención la gran diversidad de grupos bacterianos en los que se reconoce el posible origen ancestral de los genes presentes en los genomas de *Legionella* analizados.

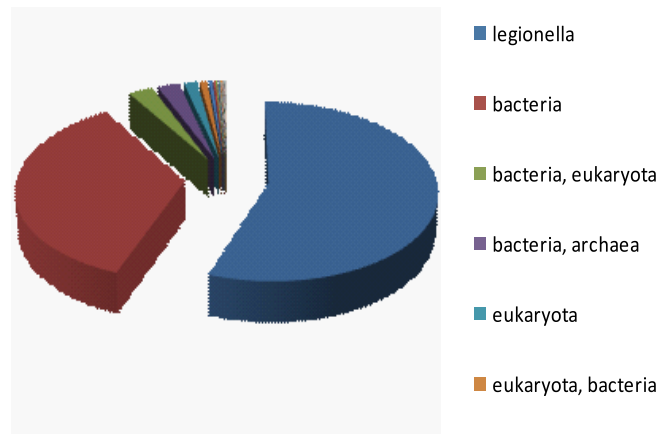
Proseguimos el análisis de los restantes genes del pangenoma (2146) que o bien no habían presentado similitud suficiente con alguno de los genes de los 37 genomas considerados inicialmente, o bien no habían superado los diferentes filtros establecidos. A continuación, realizamos una nueva búsqueda mediante BLAST, pero en esta ocasión frente a todas las secuencias nucleotídicas presentes en nrGenBank.



**Figura 2. Distribución del origen de los genes (n=1700) de *Legionella* por linaje de acuerdo con pruebas de congruencia filogenéticas.**

Establecimos filtros para asegurar niveles umbral de similitud ( $E\text{-value} < 1E-5$ ) que fueron superados ahora por 1232 genes, lo que implica que 914 genes del pangenoma de *Legionella* no tienen genes semejantes en las bases de datos

con  $P < 1E-5$ . Es de destacar que de los 1232 genes, 27 de ellos tenían como mejor hit organismos eucariotas únicamente, y otros 15 genes mostraban hits de eucariota y también de bacteria (Figura 3).



**Figura 3. Distribución de número de genes de Legionella por grupo de organismos.**

Todos estos datos apuntan a la importante contribución de material genético exógeno al contenido génico de las diferentes cepas de *L. pneumophila*. La detección de TGH en esta bacteria sería difícil de explicar si no hubiera mecanismos bien descritos de transferencia genética no vertical que permiten la incorporación de material genético externo y que permiten tanto la recombinación homóloga como la no homóloga. Se ha demostrado que *L. pneumophila* es transformable de forma natural, como otras bacterias con altas tasas de recombinación como *N. meningitidis* y *S. pneumoniae*. Es más, *L. pneumophila* contiene la maquinaria necesaria para la conjugación.

Sin embargo, además de los factores intrínsecos, es necesario que se den las condiciones ecológicas para que pueda producirse la recombinación. La recombinación y la TGH están favorecidas por un estilo de vida que permita la colocalización con otras cepas, fagos o bacterias. *L. pneumophila* ilustra esta idea de oportunidad ecológica. Es un parásito facultativo, que puede habitar planctónicamente en las aguas, parasitando protozoos y macrófagos humanos o formando parte de comunidades complejas como son los "biofilms". Hasta la fecha no se ha descrito la coinfección de diferentes cepas de la bacteria en macrófagos humanos, pero podría darse la coinfección en amebas, al igual que se ha observado con otras bacterias (10). Todas estas características facilitarían las condiciones necesarias para la transferencia horizontal de genes.

#### 4. CONCLUSIONES

La importancia de la herencia no vertical en la determinación de la estructura poblacional de bacterias, en general, y de *Legionella*, en particular, es un tema controvertido. Mientras algunos autores apuntan a una estructura poblacional esencialmente clonal para esta bacteria nuestros análisis demuestran niveles importantes de recombinación tanto a nivel poblacional como genómico. Sin embargo, la idea de que la TGH es relevante en este grupo de organismos parece más aceptada. Los resultados de nuestros análisis filogenómicos extienden la importancia de este fenómeno tanto a eucariotas (8) como a otros grupos de bacterias, resaltando el papel del nicho ecológico en este fenómeno.

Ambos fenómenos, recombinación y TGH, pueden considerarse como extremos de un amplio proceso. Ambos dependen de la distancia genética con otros taxones. Así, la recombinación es un proceso principalmente intraespecífico, que actúa a escala poblacional. Existe un límite de divergencia más allá del cual la recombinación no se da, aunque dicho límite no es universal sino específico. Por otra parte, parece cada vez más claro que la TGH se da más fácilmente entre especies cercanas aunque existen ejemplos de transferencia entre filos muy alejados, como queda demostrado en este análisis. Como conclusión, cabe recalcar que este estudio ha revelado una gran extensión tanto de la recombinación como de la TGH en *L. pneumophila*. Son necesarios estudios semejantes con otros organismos para poder apreciar la importancia de este fenómeno en la evolución a diferentes escalas.

**5. AGRADECIMIENTOS.** Queremos agradecer la colaboración de Aida Rodrigo y la financiación del MICINN, proyecto BFU2008-03000, y de la Consellería de Sanidad de la Generalitat Valenciana.

#### 6. REFERENCIAS

1. Selander RK, et al. **1985**. Genetic structure of populations of *Legionella pneumophila*. **J Bacteriol**, 163. Pp. 1021-1037.
2. Maynard Smith, J. et al. **1993**. How clonal are bacteria? **Proc Natl Acad Sci USA**, 90. Pp. 4384-4388.
3. Spratt, B.G. et al. **2004**. Displaying the relatedness among isolates of bacterial species - the eBURST approach. **FEMS Microbiol Lett**, 241. Pp 129-134.
4. Barton, N.H. **1998**. The geometry of natural selection. **Nature**, 395. Pp 751-752.
5. Fields, B.S. **1996**. The molecular ecology of Legionellae. **Trends Microbiol**, 4. Pp. 286-290.
6. Martin, D.P. et al. **2005**. RDP2: recombination detection and analysis from sequence alignments. **Bioinformatics**, 21. Pp. 260-262.
7. Didelot, X. et al. **2007**. A bimodal pattern of relatedness between the *Salmonella paratyphi* A and *typhi* genomes: Convergence or divergence by homologous recombination? **Genome Res**, 17. Pp. 61-68.
8. Cazalet, C. et al. **2004**. Evidence in the *Legionella pneumophila* genome for exploitation of host cell functions and high genome plasticity. **Nat Genet**, 36. Pp. 1165-1173.
9. Chien M, et al. **2004**. The genomic sequence of the accidental pathogen *Legionella pneumophila*. **Science**, 305. Pp. 1966-1968.

10. Ogata, H. et al. **2006**. Genome sequence of *Rickettsia bellii* illuminates the role of ancestral protozoa in gene exchanges between intracellular pathogens. **PLoS Genet**, 2. Pp. e76.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Gogarten, P. et al. **2005**. Horizontal gene transfer, genome innovation and evolution. **Nat Rev Microbiol**, 3. Pp. 679-688.
- Beiko, R.G. et al. **2005**. Highways of gene sharing in prokaryotes. **Proc Natl Acad Sci USA**, 102. Pp. 14332-14337.
- Pérez-Losada, M. et al. **2007**. New methods for inferring population dynamics from microbial sequences. **Infect Genet Evol**, 7. Pp. 24-43.





## Tema 2

---

# Aislamiento Reproductivo y Especiación

---

# 2.1

## Arquitectura Genética de la Esterilidad Híbrida en *Drosophila*

Tomás Morán y Antonio Fontdevila

*Grup de Biologia Evolutiva, Departament de Genètica y de Microbiologia, Facultat de Biociències, Universitat Autònoma de Barcelona. Campus UAB, 08193, Bellaterra. España.*

### RESUMEN

Conocer cuáles son los mecanismos genéticos o los genes que están involucrados en el proceso de especiación –la formación y la divergencia de nuevas especies- es una de las grandes preguntas de la genética evolutiva. Dado que en la mayoría de los casos las especies ya se han formado hace miles de años, el problema radica básicamente en la dificultad que existe para poder reconstruir la historia del proceso a partir de genomas con un alto grado de divergencia. Pero dado que en muchas especies próximas las barreras reproductivas que las aíslan genéticamente son incompletas, el estudio de sus híbridos es una buena estrategia para determinar las diferencias que han caracterizado su cambio evolutivo. En este capítulo revisamos los resultados de varios estudios que se han realizado en nuestro grupo con el objetivo de caracterizar los patrones de divergencia genética que producen la esterilidad híbrida en *Drosophila*, enmarcándolos en la teoría general vigente de la especiación. Estos resultados caracterizan el aislamiento reproductivo postcigótico que surge durante la formación de nuevas especies en la naturaleza, aportando información inestimable para los avances en esta área del conocimiento.

### 1. INTRODUCCIÓN

**1.1 Genética del aislamiento reproductivo por esterilidad híbrida.** La comprensión de cuáles son los mecanismos que promueven el origen de las especies se ha visto oscurecida, en parte, por la complejidad epistemológica y la falta de consenso para definir “la especie”. Mucho se ha debatido al respecto desde que en 1859 Charles Darwin publicase su obra maestra “Sobre el origen de las especies por selección natural”, pero lo cierto es que 150 años después aún existen grandes interrogantes por solventar.

Partiendo del concepto biológico o reproductivo de especie propuesto por Dobzhansky (1) y popularizado por Mayr (2), como “*conjuntos de poblaciones que real o potencialmente pueden reproducirse entre sí, pero que están aisladas reproductivamente de otros grupos similares*”, muchos evolucionistas han basado sus estudios sobre especiación en caracterizar la base genética de las barreras reproductivas. Cabe señalar, sin embargo, que los estudios recientes de genómica comparada están demostrando que las barreras al flujo génico entre especies no son tan rígidas como postula la definición de especie biológica. Esta capacidad de hibridación e introgresión requiere otros mecanismos para el mantenimiento de la integridad específica,

entre los cuales sobresale la selección ecológica (véase Fontdevilla y Moya, 2003 para un desarrollo general).

Si consideramos el aislamiento reproductivo un evento importante en el origen de nuevas especies, tradicionalmente se han distinguido dos tipos de barreras al flujo génico: barreras geográficas y barreras genéticas. Propuesto por Wagner, un naturalista del siglo XIX, y también popularizado por Mayr, el aislamiento geográfico ha sido considerado durante décadas como prácticamente la condición "*sine qua non*" del origen de las especies. Sin embargo, y sin descartar el papel de las barreras geográficas, el número creciente de casos bien documentados de especiación en ausencia de aislamiento geográfico ha puesto en duda la necesidad de que exista este tipo de aislamiento para la formación de nuevas especies, algo que ya Darwin había explicitado (3).

Por otra parte, y sin incidir en los modelos de especiación geográfica, las barreras genéticas reproductivas, precigóticas y postcigóticas, pueden evitar eficazmente el flujo génico, incluso llegado el caso de que se rompan las barreras geográficas y las especies nacientes se encuentren y tengan la oportunidad de cruzarse. Por consiguiente, la evolución de barreras de aislamiento reproductivo es un componente básico, aunque no el único, para la comprensión del origen de la divergencia específica. Por ende, el estudio del aislamiento reproductivo es un punto clave que debe ser caracterizado a nivel genético; ya que sólo si conocemos la naturaleza de los genes responsables de estas barreras reproductivas podremos entender el papel relativo de las fuerzas naturales que intervienen en la especiación, cómo actúan y su importancia.

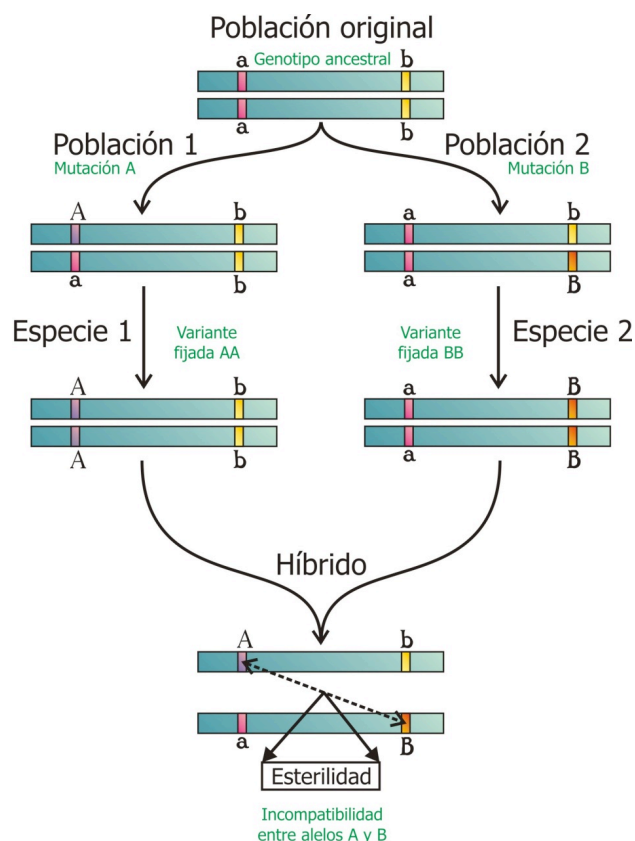
Pero para comprender cómo la divergencia evolutiva genera barreras reproductivas entre poblaciones o especies incipientes, mediante la acumulación de diferencias genéticas, es necesario plantear un escenario que sea general y factible. Esto a su vez implica conocer cuáles son los genes involucrados en el inicio del proceso de especiación, y cómo éstos desencadenan las incompatibilidades reproductivas.

La idea de que el aislamiento reproductivo postcigótico por esterilidad o inviabilidad de los híbridos tiene una base genética fue desarrollada y modelada independientemente durante la primera mitad del siglo XX. Un gran problema conceptual al que las mentes de la época se enfrentaron era el explicar cómo la evolución puede favorecer la fijación de incompatibilidades, que se manifiestan en la reducción drástica de la aptitud del individuo (problemas de fertilidad o viabilidad). Esto contradecía la idea de que la selección natural favorece sólo los cambios adaptativos, y por ende cualquier cambio no adaptativo debería ser purgado rápidamente de las poblaciones.

Justamente esta fue la razón que llevó a pensar que la base genética de la especiación no podía ser monogénica, ya que los efectos de las variantes nuevas de un gen deberían reducir la aptitud individual en heterocigosis, y serían eliminadas por selección en las primeras generaciones. Este conflicto teórico fue finalmente resuelto de manera independiente por William Bateson, Theodosius Dobzhansky y Hermann Joseph Muller, en el modelo conocido como BDM. Ellos predijeron que la selección natural no puede impedir la evolución de caracteres poco ventajosos en híbridos, como son las incompatibilidades por esterilidad e inviabilidad, siempre que estos fenotipos sean el producto de la interacción epistática de dos o más genes

complementarios, cuyas variantes alélicas hayan surgido independientemente en cada población y no hayan coexistido con anterioridad. La idea general de este modelo se muestra en la Figura 1.

Actualmente este modelo representa la base conceptual de la mayoría de trabajos en genética de la especiación. Aún así, cada vez son más los casos observados que siguen otros modelos de diferenciación genética postcigótica, entre los que se pueden mencionar a los modelos de especiación por cambios cromosómicos, por hibridación (aloploide y homoploide), y por endosimbiontes (3).



**Figura 1. Modelo BDM: “Bateson – Dobzhansky – Muller”:** fijación de incompatibilidades génicas en híbridos. Las dos barras horizontales representan el genotipo de la población original ( $aabb$ ) y de las poblaciones en divergencia. Las barras verticales representan los genes que mutan en cada población y que finalmente son fijados en las nuevas especies ( $AA$  y  $aaBB$ ). La incompatibilidad surge en el híbrido entre las variantes alélicas que nunca han coexistido simultáneamente en los dos linajes ( $A$  y  $B$ ), ya que su interacción genera esterilidad y/o inviabilidad.

Sin embargo es posible que existan otros cambios que se fijan en los linajes divergentes y que aporten efectos pequeños, aditivos y directos sobre el fenotipo estéril de los híbridos. Estos cambios serían capaces de crear barreras reproductivas entre las especies a partir de un umbral de efecto acumulativo sin

la necesidad de que éstas sean el producto de fallos en la interacción epistática de unos pocos genes. Esta idea se ajustaría a un modelo poligénico y aditivo de umbral de la especiación, donde la esterilidad y/o inviabilidad híbrida sería el producto de la suma de la acción individual divergente de muchos genes con efectos pequeños o menores. Este modelo parece explicar mejor los resultados derivados de algunos estudios realizados por nuestro grupo con determinadas especies de *Drosophila*, que se explican más adelante.

Actualmente, y gracias en parte a los avances tecnológicos en el estudio de la genética, está cada vez más claro que el aislamiento entre linajes en proceso de especiación requiere de cambios genómicos que se pueden manifestar a muchos y diferentes niveles: estructurales, regulatorios y génicos. Algunos trabajos recientes (ver por ejemplo 4) logran demostrar con elegancia que la especiación no puede reducirse a incompatibilidades en unos pocos loci, sino más bien que estas surgen correlacionadas a procesos de organización genómica, como las reordenaciones cromosómicas, capaces de mantener la identidad y cohesión de las nuevas especies. Así, de forma general y considerando que aún conocemos muy poco de cómo se suceden estos cambios genómicos, está claro que el estudio de las bases genéticas de la especiación continúa siendo una tarea de vital importancia.

**1.2. *Drosophila buzzatii* y *D. koepferae*: dos especies modélicas para estudiar procesos de especiación.** En general las estrategias experimentales en genética de la especiación se han centrado en el estudio de híbridos formados por especies cuyo aislamiento reproductivo es parcial, para lo que ha sido de vital importancia contar con especies capaces de formar numerosos híbridos en condiciones artificiales y con capacidad de superar la barrera impuesta por la esterilidad de la F<sub>1</sub>.

Para esto las moscas del género *Drosophila* han resultado ser excelentes modelos de estudio, ya que dentro de este grupo taxonómico existen varios pares de especies con distintos grados de aislamiento reproductivo que pueden estudiarse en el laboratorio, y de las cuales conocemos mucho de su historia natural. Así, han sido numerosos los estudios realizados con especies del género, y de hecho se puede decir que la gran mayoría de trabajos relacionados con las bases genéticas de la especiación se han hecho utilizando pares de especies de *Drosophila* (revisado por Coyne y Orr, 2004).

De este modo, nuestro grupo eligió estudiar en profundidad dos especies del género: *D. buzzatii* (Db) y *D. koepferae* (Dk), esta última descrita por nuestro grupo en el año 1988 (anteriormente conocida como una raza cromosómica de *D. serido*). Ambas especies hermanas, junto con otras cinco, pertenecen a un clado monofilético conocido como clúster *buzzatti* (subgrupo *mulleri*, grupo *repleta*), y se habrían originado en las regiones semiáridas de la sub-amazonía, en una fuerte asociación trófica con las cactáceas que se distribuyen en estas zonas. Estas especies presentan un grado medio de aislamiento reproductivo, manteniendo la capacidad de formar híbridos sólo cuando las ♀♀Dk se cruzan con ♂♂Db, aunque los machos híbridos son estériles y las hembras híbridas parcialmente fértiles.

Por otra parte, el cúmulo de información derivada de varios trabajos que han analizado la historia natural y evolutiva de ambas especies, o las han

utilizado en sus aproximaciones experimentales, las valida como excelentes especies modelo para estudiar la arquitectura genética del aislamiento reproductivo en *Drosophila*.

## 2. OBJETIVOS

Con el objetivo de caracterizar la arquitectura genética que subyace al aislamiento reproductivo postcigótico, y más específicamente a la esterilidad híbrida en *Drosophila*, presentamos aquí las evidencias que nos han llevado a proponer un modelo poligénico y aditivo de diferenciación genética.

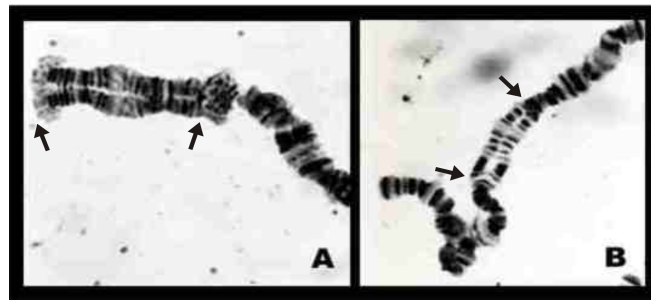
## 3. RESULTADOS

**3.1. Arquitectura genética del aislamiento reproductivo entre Db y Dk: Modelo Poligénico Aditivo con Umbral (PAU).** Si bien el modelo epistático BDM aporta una visión simple de cómo la interacción de pocos factores genéticos puede en algunos casos producir esterilidad y/o inviabilidad en híbridos, la verdad es que existen indicios de que al menos la esterilidad en machos híbridos puede tener una base genética más compleja. En contra de lo que se esperaría para la acción de factores de efecto mayor, algunos estudios de introgresión genómica controlada por retrocruzamientos seriados, utilizando diferentes especies de *Drosophila*, han detectado posibles efectos acumulativos de múltiples factores sobre la esterilidad de los híbridos.

Esta mayor complejidad lleva a pensar que la arquitectura genética de la esterilidad híbrida se basa en redes de interacción entre muchos factores genéticos, es decir que tiene una base poligénica. Así, la introgresión y acción individual de cada factor sería despreciable sobre la esterilidad, a menos que su efecto sea aditivo al de otros factores introgresados simultáneamente.

Los primeros trabajos experimentales que demostraron de una manera exhaustiva y completa que la esterilidad híbrida podría tener una base poligénica, fueron justamente publicados a partir de experimentos utilizando los híbridos formados por Dk y Db (5,6, 7).

De manera resumida, mediante retrocruzamientos seriados se creó una colección de individuos híbridos que poseen un fragmento cromosómico de Dk introgresado en el fondo genómico de Db (híbridos segmentales). Esta metodología (descrita detalladamente en la referencia 5) permite seleccionar en cada generación líneas de híbridos segmentales de interés, analizando citológicamente la descendencia de las hembras híbridas retrocruzadas. Para ello se analizan los patrones de bandas de los cromosomas politénicos de las larvas, y aquellas regiones que muestran falta de apareamiento (asinapsis somática) son identificadas como segmentos introgresados (Figura 2). Finalmente repitiendo este proceso en cada generación (retrocruzamientos seriados) es posible mantener y seleccionar líneas de híbridos segmentales para su uso experimental. De este modo, utilizando estos linajes híbridos en cruzamientos controlados, fue factible comprobar el efecto que cada segmento introgresado tenía sobre la fertilidad de los híbridos.



**Figura 2. Ejemplos de asinapsis somática como marcadores de introgresión en híbridos segmentales. A.** Asinapsis terminal del cromosoma X. **B.** Asinapsis intercalar del cromosoma 3. Las flechas indican los extremos de cada segmento introgresado.

Sorprendentemente, estos experimentos demostraron no solo una fuerte correlación entre el tamaño del fragmento introgresado (o de todos los fragmentos cointrogresados) y la fertilidad del híbrido, sino que además existía un tamaño umbral de introgresión autosómica por encima del cual se producía la esterilidad, sin importar cuál era la región cromosómica introgresada. Por otra parte, en el cromosoma X cualquier introgresión producía machos estériles sin importar el tamaño del fragmento estudiado, en concordancia con el gran efecto que este cromosoma parece tener sobre la esterilidad híbrida en general.

Así, en el caso de los autosomas la introgresión total debía superar un umbral de entre el 30% y 40% de un cromosoma en heterocigosis para producir la esterilidad. Mientras que para el cromosoma X el umbral sería mucho menor, e inferior a la máxima capacidad resolutive que ofrece la asinapsis somática como marcador de introgresión (unas pocas bandas del cromosoma politénico).

Dado que el factor más influyente fue el tamaño del fragmento introgresado, y teniendo en cuenta las variaciones observadas entre cromosomas, estos resultados se interpretaron como el producto de la acción aditiva de múltiples factores genéticos de efecto menor (poligenes) sujetos a un umbral de tamaño. Esta idea llevó a Naveira y Fontdevilla en 1986 a esbozar, y posteriormente proponer el modelo conocido actualmente como Modelo Poligénico Aditivo con Umbral (PAU) (5,6, 7).

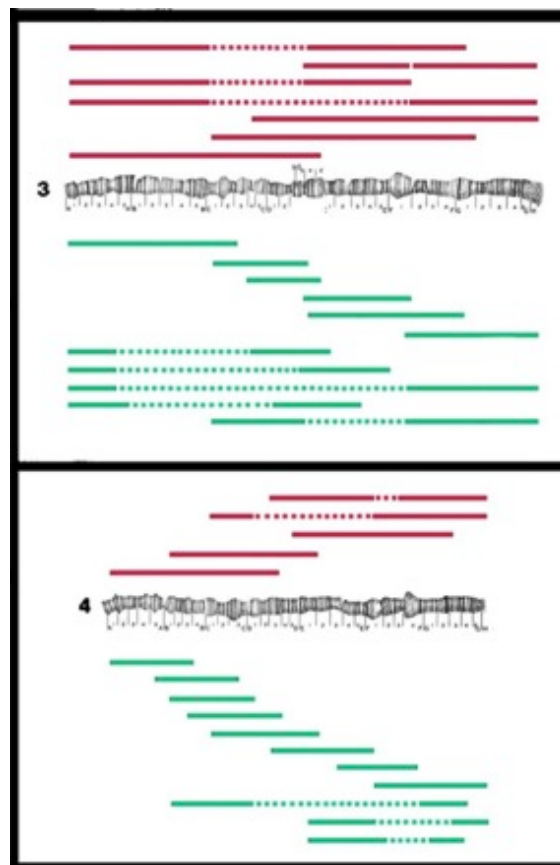
El modelo PAU postula que los cromosomas acumulan diferencias en muchos factores cuyo efecto individual sobre la esterilidad híbrida es muy bajo o casi imperceptible, pero cuya acción es capaz de ser aditiva y acumulativa. De este modo cuando los factores son cointrogresados, su efecto sobre la fertilidad se puede llegar a manifestar como un fenotipo estéril, siempre que la suma de sus efectos menores supere un determinado nivel de tolerancia.

Así, bajo este modelo las diferencias observadas entre cromosomas, para el umbral de introgresión que produce esterilidad, se pueden explicar simplemente suponiendo que el número de factores de esterilidad acumulados en cada cromosoma es distinto. De este modo, y suponiendo que dichos factores se distribuyen de forma uniforme por todo el genoma, en aquellos cromosomas con pocos factores de esterilidad el umbral sería mayor al de

aquellos donde la acumulación de factores hubiese sido en mayor número, como podría ser el caso del cromosoma X.

Para tener una visión más clara de los experimentos en los que se basa este modelo, en la Figura 3 se muestran gráficamente los resultados parciales obtenidos del análisis de introgresión en los cromosomas 3 y 4 (6).

**3.2. BDM y PAU: controversias y consensos.** Si bien la mayoría de trabajos publicados sobre las bases genéticas del aislamiento reproductivo postcigótico son un claro ejemplo de la gran complejidad genética que subyace a la esterilidad híbrida, lo cierto es que muy pocos permiten por sí solos determinar cuál es la mecánica real que produce la esterilidad, haciendo que todos los modelos propuestos hayan sido cuestionados y en algunos casos relegados o defendidos como procesos únicos e independientes. Sin embargo existen otras interpretaciones que proponen hipótesis alternativas, a favor o en contra de ambos modelos, y que demuestran que este es un campo de investigación en el que aún no se han conseguido resultados lo suficientemente claros como para consensuar un escenario único.



**Figura 3. Ejemplo de distribución y efecto de algunos segmentos cromosómicos de Dk introgresados en el fondo genético de Db.** Las barras representan los segmentos introgresados y probados de Dk, en relación a los cromosomas 3 y 4 de Db. Por encima de los cromosomas se presentan los segmentos (en rojo) que producen esterilidad, y por debajo los que no (en verde). Las barras punteadas unen segmentos que fueron cointrogresados



Es posible que muchos de los trabajos publicados que favorecen la existencia de pocos genes de gran efecto como causantes de la esterilidad mediante el modelo BMD (ver la cita 8 y sus referencias), en realidad están subestimando el número de factores causales. Esta idea se basa en que es potencialmente viable que la esterilidad se deba a la cointrogresión no detectada de un cierto número de factores que interactúan entre sí, favoreciendo una base poligénica y aditiva como en el modelo PAU (9).

Por otra parte, desde una visión más moderada de lo que sería el modelo PAU, también se ha propuesto un escenario alternativo de base multigénica (10). En éste, la esterilidad híbrida dependería de una compleja red de interacciones epistáticas entre un amplio, pero limitado, número de genes de esterilidad estrechamente ligados, que además actúan en vías específicas que afectan la aptitud del híbrido.

Si miramos todas estas ideas en conjunto, queda claro que muchas veces los resultados de experimentos similares pueden llevar a conclusiones aparentemente contradictorias, simplemente porque dichos resultados son interpretados y discutidos desde diferentes perspectivas. Sin embargo es factible que la gran complejidad que subyace a los procesos de especiación incluya la diferenciación de genes con efectos mayores y menores. Por ende, si lo que pretendemos es descifrar la verdadera base genética de la especiación, se requerirán nuevas estrategias experimentales que den cabida a toda la complejidad que se derive del gran dinamismo que parece caracterizar la evolución de los genomas.

**3.3. Nuevas estrategias, nuevas ideas.** En un nuevo intento por resolver las dudas existentes sobre las bases genéticas del aislamiento reproductivo entre Dk y Db, nuestro grupo se ha dedicado en los últimos años a continuar con el estudio de las bases genéticas de la esterilidad híbrida, utilizando para ello nuevas estrategias experimentales.

En resumen, mediante el uso de un sistema de introgresión por retrocruzamientos análogo al anterior, pero utilizando marcadores AFLPs, hemos rastreado todo el genoma. Si bien los resultados de estos trabajos aún no han sido publicados, de manera preliminar podemos decir que esta metodología nos ha facilitado evaluar las diferencias genéticas que existen entre híbridos estériles y aquellos que han recuperado la fertilidad. Los resultados obtenidos hasta el momento apoyan la idea de que la esterilidad híbrida es poligénica; pero además, la caracterización molecular y la cartografía física de estos marcadores moleculares nos indican que los genes asociados al fenotipo estéril podrían actuar en vías reproductivas específicas, y tener una distribución asociada a regiones cromosómicas con tasas bajas de recombinación. Por otra parte, algunos marcadores tienen un origen exógeno, abriendo la posibilidad de que los procesos genéticos que controlan el aislamiento reproductivo en estas especies sean incluso más complejos de lo que se había pensado.

#### 4. CONCLUSIONES

Es evidente que existen distintos criterios al momento de explicar cómo surgen y se mantienen las incompatibilidades en híbridos. Si bien estos criterios parecerían ser excluyentes, la verdad es que nadie ha podido descartar la posibilidad de que varios mecanismos hayan participado durante la divergencia genética de las especies.

En este sentido, el conjunto de nuestros resultados sustentan la idea de que la esterilidad híbrida en *Drosophila* tiene realmente una arquitectura poligénica. Aún así, es factible pensar que los genes involucrados en el establecimiento de este fenotipo en realidad participan en redes epistáticas concretas, donde la suma de pequeños efectos defectivos en múltiples puntos de estas redes de interacción pueden ser los responsables de crear las barreras reproductivas entre las especies.

**5. AGRADECIMIENTOS** Este artículo resume el trabajo de muchos componentes, pasados y presentes, de nuestro Grupo de Biología Evolutiva, que comprende investigadores de la Universidad Autónoma de Barcelona y de la Universidad de Barcelona. A todos ellos va nuestro reconocimiento. También tenemos que agradecer la financiación económica continuada del Gobierno de España, a través del ahora Ministerio de Ciencia e Innovación, de la Generalitat de Catalunya, y de la Unión Europea.

#### 6. REFERENCIAS

1. Dobzhansky, Th. (1935). A Critique of the Species Concept in Biology. **Philosophy of Science**. 2. Pp: 344–355.
2. Mayr, E. **1942**. Systematics and the Origin of Species. Columbia University Press, New York, U.S.A.
3. Fontdevila, A. **2007**. La especie ¿misterio indefinible o quimera real? **eVOLUCIÓN**. 2 (1). Pp: 11–24
4. Kulathinal, R., Stevison, L., Noor, M. **2009**. The genomics of speciation in *Drosophila*: Diversity, divergence, and introgression estimated using low-coverage genome sequencing. **PLoS Genetics**. 5(7). e1000550.
5. Naveira, H. y Fontdevila, A. **1986**. The evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. XII. The genetic basis of sterility in hybrids between *Drosophila buzzatii* and its sibling *D. serido* from Argentina. **Genetics**. 114(3). Pp: 841–857.
6. Naveira, H., Fontdevila, A. **1991**. The evolutionary history of *D. buzzatii*. XXII. Chromosomal and genic sterility in male hybrids of *D. buzzatii* and *D. koepferae*. **Heredity**. 66(2). Pp: 233–239
7. Naveira, H., Fontdevila, A. **1991**. The evolutionary history of *D. buzzatii*. XXI. Cumulative action of multiple sterility factors on spermatogenesis in hybrids of *D. buzzatii* and *D. koepferae*. **Heredity**. 67. Pp: 57–72
8. Coyne, J., Orr, A. **1998**. The evolutionary genetics of speciation. **Phil. Trans. R. Soc. Lond. B**. 353. Pp: 287–305
9. Naveira, H., Maside, X., **1998**. The genetics of hybrid male sterility in *Drosophila*. En: *Endless Forms: Species and speciation* (D.J. Howard & S.H. Berlocher, eds.) Pp. 330–338. Oxford University Press, New York, U.S.A.
10. Palopoli, M.F., Wu, C.I. **1994**. Genetics of hybrid male sterility between *Drosophila* sibling species: a complex web of epistasis is revealed in interspecific studies. **Genetics**. 138(2). Pp: 329–341

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Dobzhansky, Th. **1937**. Genetics and the origin of species. Columbia University Press, New York, U.S.A.
- Fontdevila, A., Moya, A. **2003**. Evolución: Origen, adaptación y divergencia de las especies. Editorial Síntesis, España.
- Coyne, J.A., Orr, H.A. **2004**. Speciation. Sinauer Associates. Sunderland, U.S.A.

---

## 2.2

### **Especiación en los Carábidos Ibéricos (*Insecta, Coleoptera*)**

**José Serrano, José Fermín Sánchez, Carmelo Andújar, Carlos Ruiz y José Galián**

*Departamento de Zoología, Área de Biología Animal, Facultad de Veterinaria. Campus de Espinardo. 30071 Murcia*

#### **RESUMEN**

El análisis de la especiación de grupos seleccionados de coleópteros carábidos que habitan en la península Ibérica, pone de manifiesto que existe una diversidad de patrones, tanto por la época geológica en la que han ocurrido los procesos de especiación, datadas desde el Mioceno hasta la actualidad, como por su localización dentro de macizos montañosos o en zonas más amplias de la cuenca mediterránea. La conjunción de la taxonomía tradicional con los datos cariotípicos y moleculares se ha revelado como una excelente aproximación al estudio de los numerosos problemas evolutivos que plantean estos coleópteros en el ámbito peninsular.

#### **1. INTRODUCCIÓN**

La fauna de carábidos de la península Ibérica comprende un gran número de especies, 1158, de acuerdo con el catálogo de Serrano (2003). Este número es ahora mayor de 1200 debido a la descripción frecuente de nuevas especies en los últimos años.

Estas cifras, aunque llamativas, podrían parecer lógicas para un área tan extensa como la p. Ibérica, rica en contrastes climáticos y diversidad de biotopos. Aún así, como pusieron de manifiesto Serrano et al. (2003), la Península es el área de Europa más rica en carábidos endémicos, un 43.1% de la fauna total (> 500 especies), seguida por Anatolia (41.1%). Esta abundancia de endemismos sugiere que muchas especies se han originado in situ gracias a la notable heterogeneidad ambiental y la accidentada historia geológica y climática de la Península, sobre todo a partir del Oligoceno cuando comenzó a cerrarse el mar de Tethys. Los fenómenos de especiación más fácilmente identificables corresponden a procesos alopátricos acaecidos en montañas, cuevas y el medio subterráneo superficial.

Durante más de 25 años nuestro grupo de investigación ha estado investigando diferentes aspectos de los fenómenos evolutivos que originaron esta rica fauna de carábidos. Empezamos con el análisis cariotípico y el papel que han jugado los cambios cromosómicos en la especiación, es decir, el modelo estasiopátrida. Este enfoque ha sido a menudo complementado con trabajos de la taxonomía tradicional y la faunística, y más tarde con otros más ecológicos. El enfoque cariotípico complemento con el empleo de la hibridación

in situ fluorescente para detectar el ADN ribosomal (ADNr) y del ADN satélite. En 1995 comenzamos con el empleo de enfoques y herramientas moleculares para investigar problemas evolutivos, ya que permiten obtener cientos de datos con alto contenido informativo de los cuales se pueden obtener numerosas inferencias evolutivas y filogenéticas. A finales de la década de los 90 escribimos un trabajo que recapitulaba los aportaciones más significativas derivadas del análisis cariotípico (Serrano y Galián 1998) y desde entonces hemos empleado este enfoque solo en estudios puntuales, concentrando nuestra atención en la secuenciación del ADN para estudiar la evolución de los carábidos.

## 2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**2.1. Evolución y cambios cromosómicos** Del análisis cariotípico de más de 300 especies ibéricas (a las que se añaden otras tantas de otras regiones) se infiere que hay patrón recurrente en la mayoría de los linajes, consistente en la presencia de un cariotipo estable en cuanto al número de cromosomas, el tipo de determinismo cromosómico del sexo, la morfología y el tamaño de los cromosomas y la frecuencia de formación de quiasmas. Este patrón requiere admitir la existencia de fuertes limitaciones al establecimiento de cambios cromosómicos importantes, por lo que cuando estos aparecen deben ser considerados como fenómenos evolutivamente significativos, en el sentido de que las reorganizaciones cromosómicas implicadas han sido la causa del aislamiento entre individuos anteriormente hasta entonces conespecíficos, o han venido a reforzar el aislamiento generado por otros factores. Así, es posible encontrar especies hermanas con diferencias cariotípicas notables, como ocurre con la especie bético-rifeña *Cicindela maroccana* ( $2n= 23$  machos, 26 hembras;  $n= 9+XXXXY: 8X$ ) en comparación con la europea *C. campestris* ( $2n= 22$  machos, 24 hembras;  $n= 9+XXXY: 6x$ ). Ambas especies difieren además en la localización de ciertos genes (entre ellos los ADNr), que están presentes en los autosomas de *C. maroccana* y en los heterosomas de *C. campestris*. Estos movimientos de genes entre autosomas y heterosomas los expone a una dinámica acelerada de evolución génica y recombinación reducida que puede alterar de forma importante las posibilidades de flujo génico (Galián et al. 2002). Adicionalmente, los cambios en el número de cromosomas X pueden alterar la producción de gametos equilibrados. Así, la unión de gametos con distinto número de X o con una posición diferente de los genes ADNr puede conducir a un cigoto inviable (sin genes ADNr, o con número de X alterado), o bien viable pero estéril (separación incorrecta de cromosomas en metafase I). Por tanto los híbridos tienden a producir un número de gametos incorrectos resultando una desventaja reproductiva. Estos efectos negativos se pueden incluso ver potenciados por la reducción del flujo génico debido a la supresión de la recombinación (en los cromosomas sexuales) y conducir a grupos sinténicos en los heterosomas. Estas especies han divergido recientemente (en el ADN mitocondrial difieren un 6%), pero aún comparten una secuencia de ADN satélite en sus centrómeros (cuya unidad de repetición consta de unos 360 pares de bases), que no está presente en las especies próximas.

Otro grupo rico en especies es el género *Platyderus*, que ha experimentado una notable radiación adaptativa en la península Ibérica, pues incluye casi 50 taxones endémicos que se hallan generalmente en zonas de montaña. Mientras que alguna especie (*P. varians*) muestra el número diploide supuestamente ancestral para la tribu y el género,  $2n=37$ , (los machos son XO y las hembras XX), otras tienen un cariotipo muy modificado de  $2n=23$  cromosomas (*P. lusitanicus*, *Platyderus* sp1, sierra de Alcaraz, *Platyderus* sp2, Murcia).

**2.2. Evolución de los Zabrus y los Ditomina ibéricos** Los géneros que muestran el número cromosómico más elevado son *Zabrus* (tribu Zabринi) y los incluidos en la subtribu Ditomina (tribu Harpalini). En ambos casos la comparación con los grupos afines indica que el origen de ambos grupos está asociado a un fuerte incremento en el número cromosómico. Mientras que en el género *Amara*, que es el grupo hermano de los *Zabrus*, predomina el cariotipo ancestral de los grupos modernos de Carabidae con  $2n=37$  cromosomas (machos  $n=18+X$ ), en los *Zabrus* el número cromosómico llega a ser de  $2n=63$  (*Z. vasconicus*). Este incremento numérico es particularmente acusado en dos linajes endémicos de la Península, los subgéneros *Epomidozabrus* ( $2n=57-59$ ) e *Iberozabrus* ( $2n=57-63$ ).

Los datos moleculares (Sánchez-Gea et al. 2004: Fig. 1) corroboran que el género *Zabrus* ha experimentado al menos cuatro radiaciones adaptativas en la península Ibérica, dando lugar a los subgéneros endémicos *Platyabrus* (Sistema Central), *Epomidozabrus* (Dórico-Galaico y sierra de la Estrella), *Euryzabrus* (litoral atlántico desde Lisboa a Coruña) e *Iberozabrus* (casi toda la Península) (Fig. 1). Por su parte, la especie de *Iberozabrus* más diferente de las otras en términos morfológicos y más aislada geográficamente, *Z. consanguineus* (Cordillera Cantábrica), también es la más distante de las demás en la filogenia molecular, lo que ha llevado a situarla en un nuevo subgénero, *Cantabrozabrus*.

El conjunto de los datos sugiere que la mayor parte de los *Zabrus* ibéricos se ha originado en las montañas que forman parte del escudo más antiguo de la Península, el Macizo Dórico-Galaico, el Sistema Central, el Sistema Ibérico norte y la Cordillera Cantábrica, siendo más escasas en las zonas de orogenia reciente, Pirineos y sierras béticas. Estas radiaciones no parecen haber ocurrido sincrónicamente sino que los subgéneros menos ricos en especies se diversificaron antes y las pocas especies que perviven cohabitan en ciertas zonas con las especies de la última radiación correspondiente a los *Iberozabrus*. Este resultado se ha encontrado igualmente en el subgénero *Calathus*, como veremos más adelante.

Por su parte, las especies de la subtribu Ditomina (tribu Harpalini) tienen igualmente números cromosómicos elevados, entre  $2n=45$  y  $2n=69$ , que difieren del  $2n=37$  hallado en numerosas especies de las otras subtribus de Harpalini. Los ditominos también coinciden con los *Zabrus* en alimentarse de pequeñas semillas, al menos durante los estadios larvarios, mientras que el hábito trófico generalizado entre las larvas de los carábidos es la depredación. A pesar de estas similitudes, el estudio mediante la técnica de hibridación in situ fluorescente ha revelado claras diferencias en el patrón de adquisición de los números cromosómicos elevados. Mientras los Ditomina presentan tan sólo 2 ó

4 cromosomas portadores de los genes del ADNr, los *Zabrus* presentan un patrón variable, afectando esta variabilidad tanto al número de cromosomas portadores de estos genes, como al número de copias que aparecen en los cromosomas. Así, las regiones con genes ribosomales varían entre 2 hasta 12 y a veces se hallan entre individuos de una misma especie. Esto nos ha llevado incluso a proponer un nuevo patrón de localización de estos genes no descrito con anterioridad (Sánchez-Gea et al. 2000).

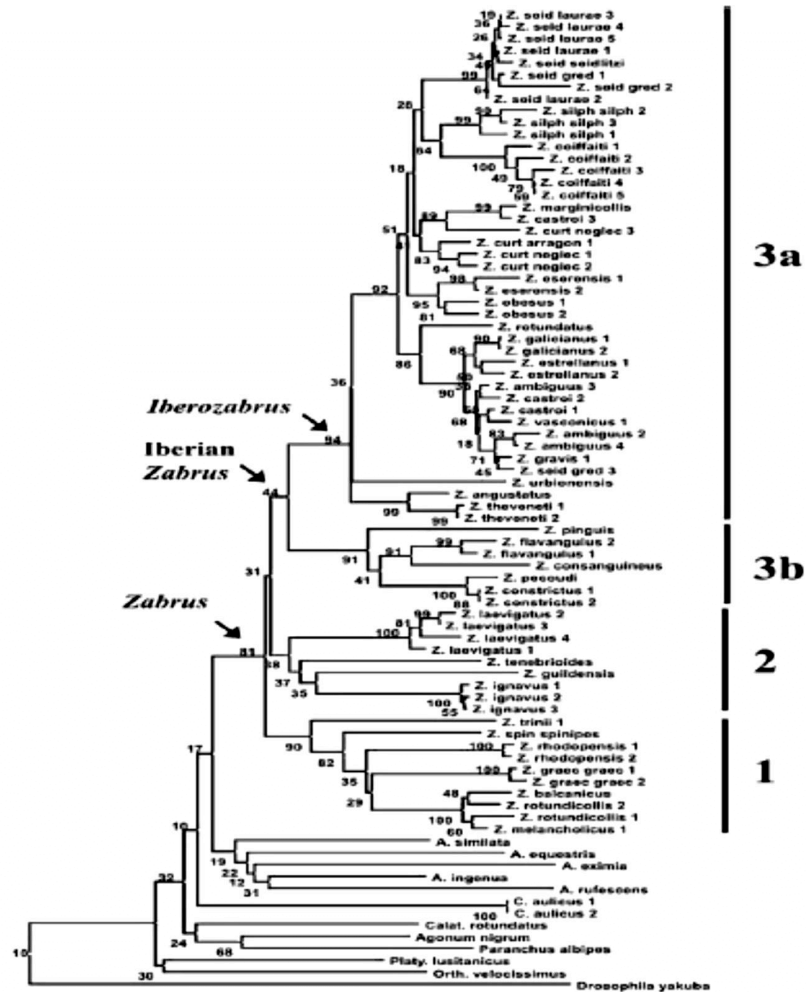


Fig. 1. Árbol de Mínima Evolución obtenido para el género *Zabrus* y taxones afines (grupos externos), basado en la secuencia del fragmento mitocondrial comprendido entre la citocromo oxidasa 1, tRNA leu y citocromo oxidasa 2. El clado 1 es el subgénero *Pelor*, el 2 comprende los subgéneros *Macarozabrus*, *Zabrus* y *Polysitus*. El clado 3 corresponde a las especies endémicas de la p. Ibérica: 3a= subgénero *Iberozabrus*; clado 3b= subgéneros *Euryzabrus*, *Epomidozabrus* y *Platyabrus*.

Los datos moleculares (Martínez-Navarro et al. 2005) corroboran la monofilia de los Ditomina. A diferencia de los *Zabrus*, los *Platyderus* y los

*Calathus* ibéricos, la mayoría de los ditominos ibéricos no son endemismos y presentan una distribución mediterránea o mediterránea occidental, y prefieren ambientes más secos y soleados de altitud media o baja, en vez de zonas montañosas. Si además se tiene en cuenta que los Ditomina son un grupo basal en algunas filogenias moleculares (Martínez-Navarro et al., 2005), se plantea la hipótesis de que el grupo se originó durante el Mioceno en diversas áreas que rodeaban el futuro mar Mediterráneo, especializándose en ambientes más áridos (como los existentes a finales del Mioceno) y de baja altitud, menos influenciados por las montañas. Esta hipótesis sobre el patrón de especiación difiere notablemente de la propuesta más arriba para los *Zabrus* ibéricos, pues no se basa en cambios acontecidos en poblaciones pequeñas aisladas en zonas montañosas particulares.

**2.3. Los *Calathus* ibéricos** En la península Ibérica existen 15 especies endémicas del género *Calathus*. En este género predomina la fórmula cariotípica ancestral de los Carabidae modernos (machos  $2n=37$ ) aunque con excepciones interesantes. Una de ellas corresponde a; *C. rotundatus* ( $2n=39$ ), especie que representa un linaje basal emparentado con el subgénero *Acalathus* de Norteamérica y probablemente con los de China (Ruiz et al. remitido). Esta distribución disyunta sugiere que los *Acalathus* ocuparon toda la región Paleártica y colonizaron Norteamérica por Beringia, para después extinguirse en casi todo el ámbito paleártico, perviviendo solo en ambos extremos de su distribución original. Es llamativo que *C. rotundatus* para la que se ha propuesto recientemente el subgénero *Iberocalathus*, ocupe la zona geológicamente más antigua y estable de la Península, la zona noroccidental que va desde el Macizo Dórico-Galaico hasta el extremo occidental del Sistema Central (sierra de la Estrella).

Otra especie endémica es *Calathus asturiensis* ( $2n=39$ ), que es la vicariante ibérica del taxón europeo *C. erratus* ( $2n=37$ ). Este tipo de vicarianza se repite para otros taxones como ocurre con *Harpalus wagneri* (ibérico) con respecto a *H. rufipalpis* (sur-europeo) y *H. ebeninus* (Cordillera Cantábrica) y *H. atratus* (asiático-europeo).

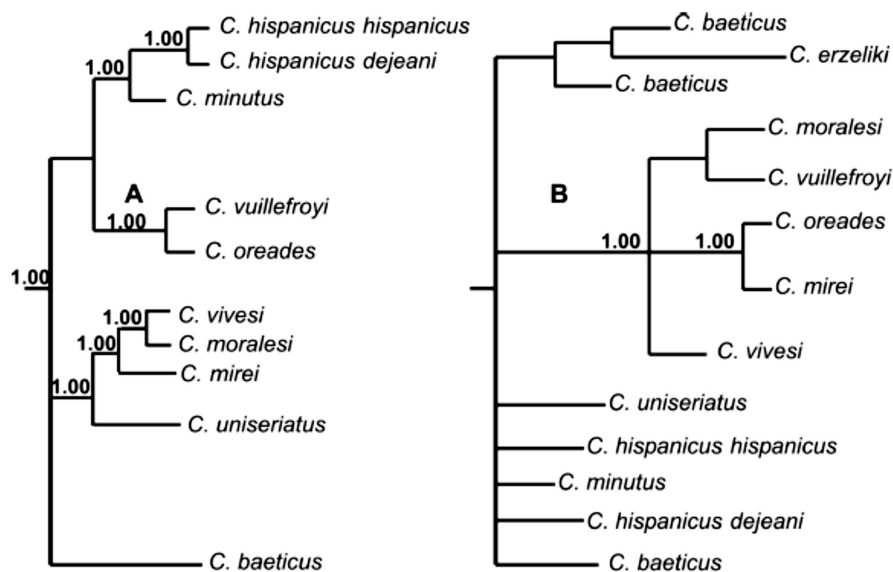
Como se observa en la figura 2, existen discrepancias entre las inferencias derivadas del genoma mitocondrial (2A) y el nuclear (2B), las cuales sugieren que algunas especies emparentadas nuclearmente (*C. vuillefroyi* y *C. moralesi*, y *C. oreades* y *C. mirei*; Fig. 2b), han experimentado fenómenos de introgresión, adquiriendo el genoma mitocondrial de otras especies al entrar en contacto secundario; este es el caso de *C. oreades* y *C. vuillefroyi*, y de *C. mirei* sobre *C. moralesi* y *C. vivesi* (Fig. 2a).

**2.4. El subgénero *Mesocarabus*** Este subgénero comprende cuatro especies ibéricas de acuerdo con la taxonomía tradicional (Serrano 2003). Dentro de los numerosos subgéneros que comprende el gran género holártico de los *Carabus*, los *Mesocarabus* son característicos de la Península, ya que solo *C. problematicus* se halla en Europa, área que posiblemente se ha recolonizado desde el último máximo glacial a partir de poblaciones sudoccidentales europeas. La especie del norte de África, *C. riffensis*, es también la más alejada en cuanto al parentesco molecular, lo que sugiere una separación temprana con



respecto a las especies ibéricas, que probablemente hay que situar como mínimo desde la apertura del estrecho de Gibraltar.

La taxonomía tradicional del subgénero es compleja debido a la notable variabilidad que presenta *C. lusitanicus*, que es la especie con mayor distribución geográfica. En el catálogo de Serrano (2003) se citan 10 subespecies de dicha especie, siendo esta una estimación conservadora frente al criterio de otros autores que llegan a admitir una veintena larga de subespecies. De *C. macrocephalus* se admiten al menos cuatro subespecies y de *C. problematicus* hasta ocho, aunque esta cifra es más razonable dado que su área de distribución ocupa buena parte de Europa occidental hasta Escandinavia e Islandia. Posiblemente esta complejidad taxonómica se deriva de la existencia de individuos con características intermedias entre estas especies y subespecies, lo que sugiere la ocurrencia de fenómenos frecuentes de hibridación. Así pues, el subgénero presenta una problemática que en algunas áreas refleja fenómenos de hibridación entre especies en *status nascenti*, mientras que en otras se comportan como especies biológicas bien delimitadas.



**Fig. 2.** Árbol de consenso mayoritario (50%) derivado del análisis bayesiano de especies ibéricas del género *Calathus*, que se basa en la secuencia del fragmento mitocondrial *cox1-cox2* (A) y del gen nuclear *Ef-1 $\alpha$*  (B). El número por encima de algunos nodos indica la probabilidad posterior (=0,90).

Los estudios cariotípicos han proporcionado un número limitado de caracteres con interés filogenético, pues el género *Carabus* presenta una estabilidad numérica notable en torno al cariotipo  $2n=28$ ,  $n=13+XY:XX$ , que también se ha encontrado en las especies ibéricas, incluyendo las del género

*Mesocarabus* (Serrano 1980; Galián et al. 1992). Como además el tamaño cromosómico es pequeño (raramente supera las 2  $\mu\text{m}$ ), es difícil hallar diferencias entre especies basadas en la morfología, incluyendo la localización y extensión de las bandas C.

En el caso del subgénero *Mesocarabus* no resulta además evidente, a priori, el papel de las zonas montañosas a la hora de propiciar la especiación. Si bien los *Mesocarabus* parecen ser más abundantes en los pisos colino y montano, se pueden coleccionar desde las cumbres más altas peninsulares hasta el nivel del mar, pues actúan como predadores generalistas con una plasticidad ecofisiológica notable, siendo bastante independientes del tipo de suelo, la cobertura vegetal y la climatología.

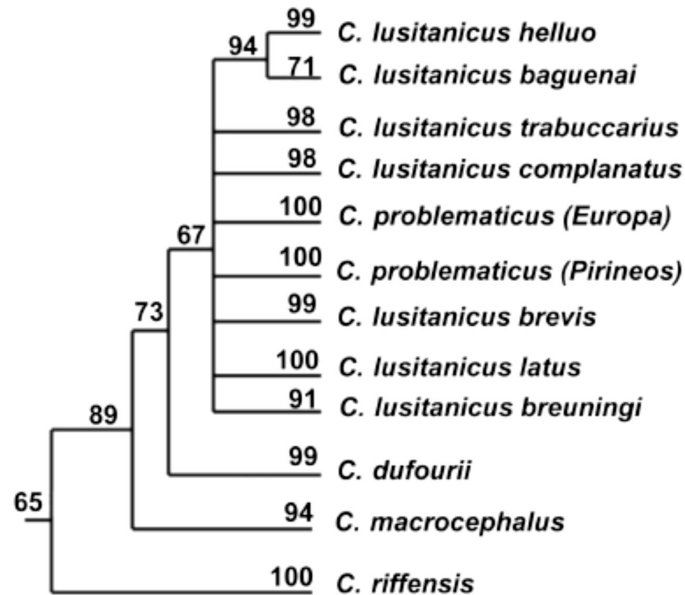
El estudio que estamos llevando a cabo (Andújar y Serrano) sobre la filogenia molecular del subgénero ya está finalizado en lo que se refiere al marcador mitocondrial del gen ND5, que ha sido a menudo empleado en el análisis del género *Carabus*. Además se ha avanzado en el análisis de otro marcador molecular, el fragmento *cox1-cox2* y varios genes nucleares. De los datos iniciales del genoma mitocondrial (Fig. 3) se han obtenido como conclusiones principales que *C. dufourii* (p. Ibérica meridional, al sur del Guadalquivir), *C. macrocephalus* (p. Ibérica desde Galicia al País Vasco) y *C. riffensis* (macizo del Rif) son especies biológicas con respecto al complejo *C. lusitanicus* - *C. problematicus*, aunque se encuentren híbridos en las zonas de contacto entre dichas especies. Para este análisis hemos escogido como grupo externo del subgénero *Mesocarabus* a especies de los subgéneros afines *Oreocarabus* y *Orinocarabus*, de acuerdo con los datos de Osawa et al. (2004).

Por su parte, *C. problematicus* aparece dentro de los clados de *lusitanicus*, por lo que es necesario estudiar más poblaciones y más marcadores para aclarar su estatus. La diferenciación entre individuos de esta especie provenientes de varios lugares de Europa es baja, lo que sugiere una colonización postglacial reciente a partir de poblaciones de refugios sudeuropeos.

Sobre el estatus de *C. lusitanicus baguenai* (Murcia) los datos iniciales indican que se incluye en el complejo *lusitanicus*, mientras que Anichtchenko (2004; Boln. Asoc. esp. Ent. 28: 89-103) la considera como subespecie de *C. dufourii* en función de la morfología interna del edeago. Estos datos aparentemente contradictorios sugieren que han ocurrido fenómenos de hibridación entre ambos tipos de poblaciones en el sureste peninsular, siendo necesario profundizar en este problema combinando caracteres morfológicos con los moleculares, para reconstruir los procesos evolutivos acaecidos entre ambos taxones.

Por otra parte, unas primeras calibraciones sitúan el comienzo de la divergencia de los *Mesocarabus* durante el Mioceno, cifras muy anteriores a las estimadas para los grupos que hemos citado con anterioridad. Por ello se infiere que, a diferencia otros grupos ibéricos, las oscilaciones climáticas del Pleistoceno no parecen haber jugado un papel destacado en la formación de taxones con rango específico. En el caso de estos grandes predadores, hay que tener además en cuenta sus hábitos generalistas y su probada capacidad de locomoción, factores estos que dificultan el aislamiento poblacional y la especialización ecológica. De aquí que su distribución actual no esté tan

estrechamente asociada a refugios posiblemente localizados en las montañas peninsulares.



**Fig. 3** Árbol de consenso estricto de parsimonia que muestra los clados principales del subgénero *Mesocarabus*, con un valor de soporte bootstrap mayor del 50%, obtenidos a partir de la secuencia del gen mitocondrial Nd5.

### 3. CONCLUSIONES

Los Carabidae son un grupo de coleópteros muy diverso que cuenta con un gran número de especies en la península Ibérica, buena parte de los cuales son endémicas de la misma. Presumiblemente los patrones de especiación que han generado esta diversidad son heterogéneos y complejos, y por ello son difíciles de reconstruir. Los más asequibles al estudio son posiblemente los referidos a los taxones epigeos que se han originado en las montañas peninsulares, donde los endemismos son mayoritarios. Ello sugiere que se han dado procesos de especiación alopátrida en poblaciones restringidas a los principales macizos, que posteriormente han expandido su rango geográfico o han mantenido una distribución restringida. Mientras que algunos grupos como los *Iberozabrus* parecen haberse diversificado durante el Pleistoceno, otros como los *Platyzabrus*, los *Euryzabrus* y los *Calathus s. str.* muestran indicios de una diversificación pliocénica y por ello no tan relacionada con las oscilaciones climáticas del Pleistoceno. Por su parte, la subtribu Ditomina posiblemente radió durante el Mioceno en áreas no montañosas (aunque pudo ocurrir en islas reales e "islas" continentales) que forman parte de la cuenca mediterránea, en un periodo en el que ocurrieron notables cambios geológicos que acabaron dando la configuración actual del Mediterráneo. También la divergencia

específica de los *Mesocarabus* puede retrotraerse a periodos antiguos, que por el momento se sitúan en el Mioceno medio o incluso antes.

**4. AGRADECIMIENTOS** Agradecemos a numerosos colegas su colaboración en la captura y donación de individuos usados para estudios cariotípicos y moleculares, con particular gratitud hacia nuestros compañeros del Departamento José Luís Lencina, Antonio S. Ortiz y Fernando Ochotorena. Todas estas investigaciones han estado siempre financiadas por proyectos concedidos por el Ministerio de Educación y Ciencia (con sus distintas denominaciones) y la Fundación Séneca de Murcia, sin cuyo apoyo no hubieran sido posibles. La versión final del manuscrito se ha mejorado notablemente gracias a los comentarios de revisores anónimos.

## 5. REFERENCIAS

1. Galián J., Ortiz A. S., Serrano J. 1992. A chromosome study of twelve species of old and middle-aged lineages of Carabidae (Coleoptera). *Elytron* 6: 143-150.
2. Galián J. Hogan J.E., Vogler A.P. 2002. The origin of multiple sex-chromosomes in tiger beetles. *Mol. Biol. Evol.* 19: 1792-1796.
3. Martínez-Navarro E. M., Galián, J., Serrano J. 2005. Phylogeny and molecular evolution of the tribe Harpalini (Coleoptera, Carabidae) inferred from mitochondrial cytochrome-oxidase I. *Mol. Phyl. Evol.* 35: 127-146.
4. Osawa S., Su Z.H., Imura Y. 2004 Molecular phylogeny and evolution of carabid ground beetles. Springer, Tokyo. 204 pp.
5. Sánchez-Gea J. F., Serrano J., Galián J. 2000. Variability in rDNA loci in Iberian species of the genus *Zabrus* (Coleoptera: Carabidae) detected by fluorescence in situ hybridization. *Genome* 43: 22-28.
6. Sánchez-Gea J. F., Galián J., Serrano J. 2004. Phylogeny of Iberian *Zabrus* (Coleoptera: Carabidae: Zabrinini) based on mitochondrial DNA sequence. *Eur. J. Ent.* 101: 503- 511.
7. Serrano J. 1980. Cytotaxonomic studies of the tribe Carabini (Col., Caraboidea). *Genét. Ibér.* 32-33: 25-41.
8. Serrano J. 2003. Catálogo de los Carabidae (Coleoptera) de la Península Ibérica. Monografías de la Sociedad Entomológica Aragonesa, vol. 9. Zaragoza, 130 pp.
9. Serrano J., Galián J. 1998. A review of karyotypic evolution and phylogeny of carabid beetles (Coleoptera). In: *Phylogeny and Classification of Caraboidea*, G E. Ball et al. (Eds.), 191-228. Mus. Sci. Nat. Torino, Torino.
10. Serrano J., Lencina J.L., Andújar A. 2003. Distribution patterns of Iberian Carabidae (Insecta, Coleoptera). *Graellsia* 59: 129- 153.

## 6. LECTURAS RECOMENDADAS

- Coyne J.A., Orr H.A. 2004. *Speciation*. Sinauer, Sunderland
- Hewitt G.M. 2004. Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 359: 183–195.
- White M.J.D. 1978. *Modes of speciation*. Freeman, S. Francisco.

---

## 2.3

### **Especiación Ecológica en Simpatría en un Caracol Marino del Intermareal**

**Emilio Rolán-Alvarez**

*Departamento de Bioquímica, Xenética e Inmunoloxía, Facultade de Bioloxía, Universidade de Vigo, 36310 España (rolan@uvigo.es).*

#### **RESUMEN**

La especiación es un proceso evolutivo difícil de estudiar experimentalmente, y quizá por ello todavía desconocemos muchos aspectos básicos del mismo. Un tema muy controvertido en los estudios sobre especiación radica en si ésta puede producirse en presencia de altos niveles de flujo genético, es decir, en condiciones de simpatría. En este trabajo presentamos un caso modelo de dos variedades de la misma especie de un caracol marino que se han adaptado a diferentes condiciones micro-ambientales y, como consecuencia de ello, han desarrollado un aislamiento reproductivo incipiente. Se presentan resultados de dos experimentos que sólo pueden explicarse si dichas variedades se han originado en simpatría y de forma parcialmente independiente a lo largo de regiones geográficas alejadas en las costas gallegas.

#### **1. INTRODUCCIÓN**

Bajo una visión darwinista clásica, la especiación es una consecuencia indirecta del cambio evolutivo (anagénesis) en dos linajes independientes, aunque en la actualidad se considere que es un proceso evolutivo con entidad propia, afectado por procesos característicos, como la evolución del aislamiento reproductivo (interacción entre especies), la pleiotropía de caracteres adaptativos (afectando al aislamiento reproductivo), o la epistasia entre especies (genes capaces de cambiar de función según el contexto genético en el que se expresen). Por ello, el estudio de la especiación se puede entender como el estudio de la evolución de los mecanismos que conducen al aislamiento reproductivo (1). El investigador tiene, por lo tanto, dos tareas básicas cuando aborda el estudio de un proceso de especiación: identificar los principales mecanismos biológicos que han originado el aislamiento entre dos linajes, y entender las fuerzas evolutivas que los han causado.

El estudio de la especiación, sin embargo, entraña algunos problemas epistemológicos. Por ejemplo, aunque suele ser un proceso gradual y lento (en términos de la vida de un investigador), en relación a la duración evolutiva de cualquier organismo ocurre en un instante, por lo que resultará muy difícil localizar ejemplos reales donde la especiación se esté desarrollando en ese mismo momento. Otro de los problemas al identificar las causas de la

especiación, consiste en distinguir las barreras responsables en origen de aquellas que se han generado con posterioridad al aislamiento reproductivo (1).

Uno de los aspectos más controvertidos sobre los mecanismos de especiación consiste en determinar si éstos se pueden originar en presencia de flujo genético, pues éste tiende a erosionar la divergencia entre las poblaciones. El caso más extremo es el denominado como “especiación simpátrida”, para el que se han propuesto serios impedimentos a nivel teórico (2), sin que se acaben de producir ejemplos empíricos convincentes (1). Para demostrar la existencia de un proceso de especiación simpátrida entre dos especies cualesquiera, se han postulado cuatro criterios que deben demostrarse (1):

1. Las especies deben ser básicamente simpátridas en la actualidad.
2. Deben poseer un fuerte aislamiento reproductivo con una base genética.
3. Las especies deben tener un origen monofilético (no causado por hibridación después de un contacto secundario).
4. La posibilidad de una etapa alopátrida debe ser rechazada.

Los puntos 3 y 4 son los más conflictivos. Diferentes técnicas o la utilización de diferentes marcadores pueden dar lugar a resultados contradictorios en relación al punto 3. Además, el último punto es en cierto grado subjetivo, pues casi siempre es posible dar con una explicación alternativa, aunque sea muy improbable.

Recientemente, se ha propuesto una situación evolutiva que podría ayudar a confirmar casos de especiación simpátrida, así como de otros procesos evolutivos complejos, como la evolución en paralelo (3). La evolución en paralelo se produce cuando la selección natural produce un cambio fenotípico adaptativo similar (en paralelo) en localidades geográficamente separadas. La variación genética de partida es muy parecida, aunque no necesariamente idéntica, y el problema en este caso reside en diferenciar evolución en paralelo con migración de un mismo polimorfismo adaptativo a distintas regiones geográficas. Para la demostración de un proceso de evolución en paralelo es imprescindible confirmar que diferentes genes/alelos se han fijado adaptativamente en cada región geográfica en respuesta a un mismo cambio ambiental.

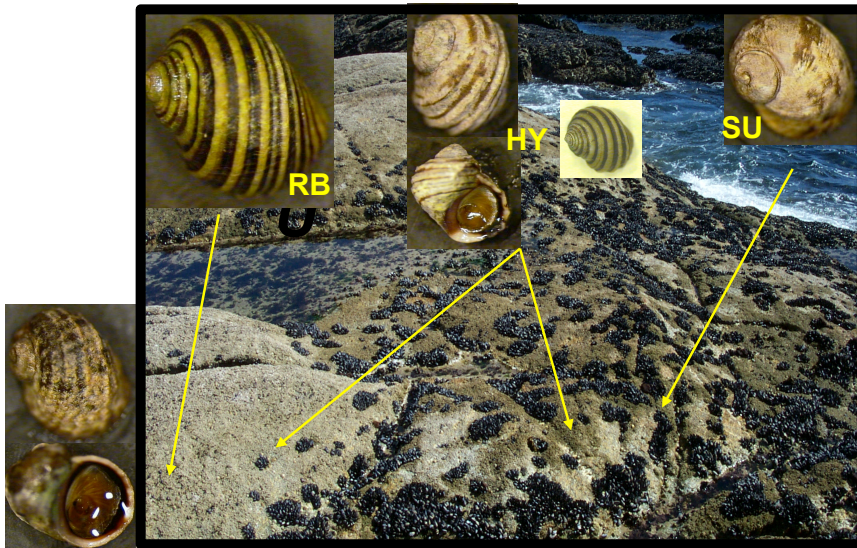
Nuestro grupo de investigación viene trabajando desde la década de los 90 con un determinado sistema modelo que, como se expone a lo largo de éste artículo, puede representar uno de los ejemplos más claros y contundentes a favor de la especiación ecológica en simpatría.

El mar cubre y libera alternativamente y a intervalos regulares amplias regiones costeras, pudiendo producir cambios ambientales graduales muy drásticos en una franja espacial estrecha (en el rango de 0,5 - 15 m de altura según las áreas geográficas) denominada zona intermareal (4). Esta situación provoca una distribución diferencial de la mayoría de las especies, pero también permite observar numerosos polimorfismos intraespecíficos, algunos quizás en proceso de producir nuevas especies. Las litorinas son uno de los pocos grupos de organismos que ha podido adaptarse con éxito a las cambiantes condiciones ambientales del intermareal rocoso de las costas europeas.

La litorina más variable de nuestras costas es sin duda *L. saxatilis*, una especie con decenas de variedades morfológicas y genéticas descritas resultado de su adaptación a diferentes hábitats o áreas geográficas (5). Una de las principales razones de dicha variabilidad es la combinación de una

escasa movilidad en los adultos y de una baja capacidad dispersiva, pues carece de una fase larvaria libre (la especie es ovovivípara, portando las hembras una bolsa en su interior con 10-300 embriones de desarrollo directo) (5). Esta especie posee sexos separados y fecundación interna, apareándose de forma más o menos continua a lo largo del año (6). Además, al igual que otras muchas especies, en la mayor parte de las poblaciones se observa un apareamiento asociativo para el tamaño, propiedad que como veremos más adelante resultará crucial para entender como ha podido evolucionar el aislamiento reproductivo en esta especie.

En las costas gallegas más expuestas se observa uno de los polimorfismos más extremos de esta especie, pues la variedad rugosa y con bandas (en adelante RB) se encuentra asociada a la parte más alta del intermareal en el cinturón de balanos y zona de charcas y grietas, mientras que la variedad lisa y sin bandas (en adelante SU) se encuentra asociada al cinturón de mejillón en la zona intermareal más baja (6) (Figura 1). Varios estudios han demostrado que si bien a nivel morfológico, fisiológico y de comportamiento ambas variedades se conservan aparentemente inalterables a lo largo de la geografía gallega, a nivel genético (para alozimas, micros, AFLPs y algunas secuencias mitocondriales) las diferencias geográficas dentro de la variedad son más importantes que las diferencias locales entre variedades (6). Este resultado sugiere que el polimorfismo es intraespecífico, y por lo tanto representa un buen candidato para entender como la selección natural puede originar estadios iniciales de diferenciación que conduzcan a la especiación.



**Figura 1. Distribución micro-geográfica de las variedades de *L. saxatilis*.** Los ejemplares RB se localizan preferentemente sobre el cinturón de balano, los de SU sobre el cinturón de mejillón, y los ejemplares híbridos en la zona de solapamiento de ambos ambientes.

Ambas variedades de *L. saxatilis* (RB y SU) viven en zonas diferentes del intermareal, aunque los adultos de ambas poseen la capacidad potencial de migrar al otro hábitat a lo largo de su vida (si no lo hacen en la práctica es porque ya han desarrollado mecanismos de preferencia de hábitat que los mantiene en su propio ambiente) (6). Esta situación se considera tradicionalmente como de simpatria efectiva. No obstante, en estas localidades, ambas variedades y un porcentaje variable de formas híbridas coexisten literalmente en simpatria en algunas zonas donde los mejillones y los balanos solapan su distribución formando un nuevo hábitat. No se ha encontrado ningún problema de fertilidad o viabilidad en estudios de campo y laboratorio en dichas formas híbridas (6), aunque se observa un aislamiento sexual (apareamiento preferente entre iguales) importante (hasta del 70% del máximo posible) entre las variedades puras (RB y SU). Este aislamiento reproductivo parcial se ha demostrado que es causado principalmente por la diferencia de tamaño existente entre variedades (resultado de la adaptación diferencial a sus respectivos ambientes) en conjunción con el apareamiento asociativo para el tamaño típico de la especie (6,7). Además, el carácter responsable del aislamiento sexual, el tamaño, tiene un fuerte componente genético (6,8). Por todo ello, se ha considerado este caso como un buen ejemplo de especiación (incompleta) ecológica.

Este caso modelo cumple perfectamente con las condiciones 1 y 2 mencionadas anteriormente (1), y es el principal objetivo del presente artículo explicar que también cumple con las condiciones 3 y 4, lo que lo convierte por lo tanto, en uno de los ejemplos más convincentes de que la especiación en condiciones de simpatria es posible.

## 2. OBJETIVOS

Con el objetivo de responder si las dos variedades (RB y SU) de *L. saxatilis* se originaron en simpatria se plantearon dos estudios complementarios. **2.1.** Primero se realizó un estudio filogenético, utilizando un fragmento de ADN mitocondrial, y comparando la filogenia de los haplotipos presentes en individuos RB y SU procedentes de 4 localidades geográficamente separadas. Bajo un modelo de evolución en simpatria y en paralelo esperaríamos que los haplotipos observados se agruparan por localidad y no por variedad (que se agruparan por variedad ocurriría en el supuesto de evolución alopátrida o simpátrida única) (9). **2.2.** Segundo, se llevó a cabo un estudio para confirmar o no una de las predicciones básicas de la evolución en simpatria y en paralelo (10): que los genes influidos por el proceso de adaptación diferencial entre las variedades (RB y SU) deberían presentar una mayor diferenciación geográfica que los genes neutros (no influidos directamente por la adaptación). La razón es fácil de explicar, pues si la hipótesis de partida es que las variedades se generan de forma independiente en cada región geográfica, sería de esperar que diferentes alelos (aunque produzcan fenotipos similares) se fijarían en cada variedad, aumentando de forma sustancial la diferenciación geográfica para dichos genes. Este segundo estudio a su vez tenía dos fases (10): la primera sería la detección de numerosos marcadores influenciados (o no) por el proceso de adaptación, y la segunda la comparación de la estructura genética a



nivel geográfico para ambos tipos de marcadores. Con tal fin se estudió la diferenciación entre RB y SU para 2.356 loci AFLPs, mediante el método de los valores de diferenciación extremos (se mide la diferenciación genética en todos los loci, y se evalúa la probabilidad de que cada uno pueda ser explicado bajo un modelo nulo sin selección, corrigiendo la probabilidad individual para múltiples pruebas estadísticas).

### 3. RESULTADOS

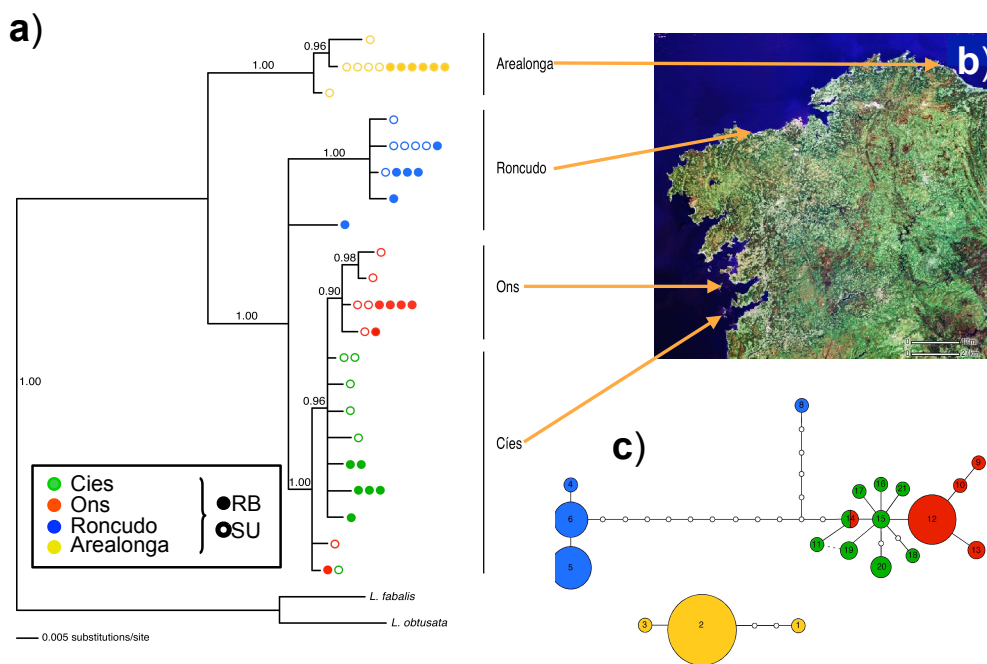
**3.1. Análisis filogenético.** Se analizó un fragmento de 1,83 Kb de ADN mitocondrial en 6 ejemplares de cada variedad (RB y SU) en cuatro localidades geográficamente muy separadas (ver Figura 2). Los detalles metodológicos y de los análisis realizados se pueden consultar en el artículo original (9). El árbol filogenético observado es sólo compatible con un origen en simpatría y en paralelo de las variedades, pues un origen único (en alopatría o simpatría) habría generado dos ramificaciones de los haplotipos sin relación con la distribución geográfica. De hecho, este árbol sugiere que el ancestro de estas variedades se desplazó en Galicia de norte a sur (se sabe que todas las litorinas europeas se introdujeron por el norte de Europa hace unos dos millones de años (5)), y durante su desplazamiento, a medida que llegaba a una región expuesta, se producía la divergencia ecológica adaptativa. Se ha podido estimar que ambas variedades se debieron originar dentro de los últimos 40.000 años (9), probablemente después de un retroceso de las poblaciones gallegas causado por alguna glaciación. Con posterioridad, las variedades experimentaron intercambios genéticos entre las regiones geográficamente más cercanas, lo que explica que el agrupamiento geográfico del árbol se pierda entre localidades próximas (Figura 2a). La red de haplotipos presentada en la Figura 2c confirma la anterior interpretación, pues los haplotipos divergen de forma lineal a la separación geográfica de los especímenes pero no dependiendo de la variedad (RB o SU) del mismo.

En resumen, este trabajo confirma que el origen más probable de ambas variedades (RB y SU) se produce mediante diferenciación divergente adaptativa en cada localidad, al menos de forma parcialmente independiente en las áreas geográficamente más alejadas. La principal crítica que se puede presentar a este estudio es que sus conclusiones se basan en la historia inferida a partir de un solo marcador molecular, aunque en nuestra opinión es el marcador más fiable para este tipo de estudios. Asimismo, varios aspectos técnicos discutidos en el artículo original señalan que dicho marcador en estas poblaciones no ha perdido su información filogenética (9). Además, los árboles filogenéticos estimados a partir de información de AFLP confirman el mismo patrón de agrupamiento por localidad y no por variedad (resultados no publicados).

**3.2. Análisis de diferenciación genética.** El estudio con AFLPs se realizó en tres localidades separadas de 20 a 70 km, con dos muestras de cada variedad (RB y SU) separadas por unos pocos metros en cada localidad. En total se analizaron 12 muestras, con un total de 242 ejemplares analizados (19-22 por muestra). Se utilizaron 12 combinaciones diferentes de cebadores para la

amplificación selectiva, obteniéndose un total de 2.356 loci de AFLPs. Todos los detalles sobre este estudio se pueden consultar en el trabajo original (10).

El primer objetivo de este trabajo era distinguir los marcadores afectados por la selección (genes candidatos de adaptación) y los que no. Para ello se comparó la diferenciación *entre variedades* (RB y SU) y *dentro de variedad* (RB *versus* RB; SU *versus* SU) dentro de cada localidad. La comparación dentro de variedad servía como control de la variación adaptativa. Los resultados fueron concluyentes: no se observó ningún locus en ninguna localidad que presentase diferenciación sospechosa de ser adaptativa *dentro de variedad*, mientras que *entre variedades* alrededor de un 3% de los loci podrían ser auténticos genes candidatos de adaptación. Cabe mencionar que ello no implica que estos genes tengan un papel directo en la adaptación, sino que en muchos casos representarán regiones marcadoras de las verdaderas causantes de la adaptación. En cualquier caso, a efectos del objetivo de este trabajo esta distinción no es relevante.



**Figura 2. Estudio filogenético utilizando un segmento del ADN mitocondrial.** Se analizó un fragmento de 1,83 Kb, permitiendo demostrar el origen monofilético de las variedades en cada localidad (evolución en paralelo)<sup>(9)</sup>. a) Árbol bayesiano con las probabilidades *a posteriori* de cada nodo. Haplotipos RB y SU representados como círculos cerrados y abiertos, respectivamente. b) Localización geográfica de las muestras en las costas gallegas. c) Red de haplotipos. Cada número representa un haplotipo diferente, y cada color representa la procedencia geográfica de dicho haplotipo, como en el apartado a). Publicada con permiso de EVOLUTION ©

	Replicas	N loci	F <sub>ST</sub> Geográfica
<b>Microsatélites</b>		4	0.046
<b>AFLPs neutros</b>	A	560	0.050
	B	605	0.052
	C	534	0.056
	Media		0.053 (0.002)
<b>AFLPs candidatos</b>	A	85	0.159
	B	66	0.118
	C	88	0.145
	Media		0.141 (0.012)
<b>Probabilidad ANOVA</b>			<b>0.020</b>

**Tabla 1.** Comparación de la diferenciación genética geográfica entre marcadores no influenciados por el proceso adaptativo (microsatélites y AFLPs neutros) y los candidatos a estarlo (AFLP candidatos). Con los AFLP, al utilizar diferentes combinaciones de cebadores, éstos se pudieron analizar de forma independiente en tres grupos (A, B y C), utilizados como réplicas biológicas. Las diferencias entre tipos de marcadores se realizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de aleatorización (10).

El segundo objetivo de este trabajo era comparar la diferenciación genética a nivel geográfico para ambos tipos de marcadores (seleccionados y neutros; ver Tabla 1). También se analizó la diferenciación genética geográfica para cuatro marcadores microsatélites, habitualmente considerados como buenos marcadores neutrales. Los resultados de la tabla 1 no dejan lugar a dudas, la diferenciación genética geográfica para marcadores seleccionados fue casi tres veces mayor (y significativamente distinta) que la de marcadores supuestamente neutros (AFLPs no seleccionados y microsatélites).

Estos resultados representan una prueba independiente que apoya el modelo evolutivo anterior, pues indican que los alelos fijados como consecuencia de la adaptación diferencial son ocasionalmente diferentes en cada localidad, lo que se esperaría de un origen en simpatría y en paralelo de ambas variedades (RB y SU).

#### 4. CONCLUSIONES

A pesar de las dificultades experimentales para realizar estudios sobre especiación, empiezan a existir una serie de ejemplos convincentes de que ésta se puede producir en presencia de niveles muy altos de flujo genético. El caso del polimorfismo RB y SU resulta muy claro porque a nivel ecológico, poblacional y filogenético está muy bien caracterizado, y todas las pruebas existentes apoyan un origen en simpatría y en paralelo de ambas variedades. Aunque probablemente la opinión mayoritaria es que la especiación simpátrida si existe es un caso excepcional, algunos creemos que podría ser frecuente en cierto tipo de ecosistemas, donde los gradientes ambientales sean muy fuertes

y estables, y ocurran a distancias muy cortas en relación a la capacidad dispersiva de la especie.

**5. AGRADECIMIENTOS** Quiero agradecer la colaboración de todos los profesores, investigadores y técnicos de laboratorio que han contribuido al desarrollo de esta línea de investigación, aunque merecen una mención especial Armando Caballero por su apoyo científico continuado a la línea, y a Paula Conde-Padín, Juan Galindo, Paloma Morán, David Posada y Humberto Quesada por sus contribuciones experimentales a este trabajo en particular. Además, Nieves Santamaría siempre ha sido de inestimable ayuda por su labor administrativa y Teresa Muíños por cuidar de las litorinas en la estación marina de ECIMAT. Este trabajo se ha beneficiado de las siguientes ayudas de investigación: CGL2008-00135/BOS y de la Xunta de Galicia.

## 6. REFERENCIAS

1. Coyne, J.A. & Orr, H.A. **2004**. *Speciation*. Sinauer Associates, Eds. Massachusetts.
2. Gavrillets, S. **2004**. *Fitness landscapes and the origin of species*. Princeton University Press. New Jersey.
3. Schluter, D. **2001**. Ecology and the origin of species. *Trends in Ecology and Evolution*, 16: 372-380.
4. Raffaelli, D. & Hawkins, S. 1996. *Intertidal Ecology*. Chapman & Hall, Eds. London.
5. Reid, D.G. **1996**. *Systematics and evolution of Littorina*. The Ray Society. London.
6. Rolán-Alvarez, E. **2007**. Sympatric speciation as a by-product of ecological adaptation in the Galician *Littorina saxatilis* hybrid zone. *Journal of Molluscan Studies*, 73: 1-10.
7. Conde-Padín, P., et al., **2008**. Revealing the mechanism of sexual isolation in a case of sympatric and parallel ecological divergent. *Biological Journal of the Linnean Society*, 94: 513-526.
8. Conde-Padín, P., et al., **2009**. Relative role of genetic determination and plastic response during ontogeny for shell-shape traits subjected to diversifying selection. *Evolution* 63: 1356-1363.
9. Quesada, H., et al., **2007**. Phylogenetic evidence for multiple sympatric ecological diversification in a marine snail. *Evolution*, 61: 1600-1612.
10. Galindo, J., et al., **2009**. Comparing geographical genetic differentiation between candidate and noncandidate loci for adaptation strengthens support for parallel ecological divergence in the marine snail *Littorina saxatilis*. *Molecular Ecology*, 18: 919-930.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Bolnick, D.I. & Fitzpatrick, B.M. **2007**. Sympatric speciation: models and empirical evidence. *Annual Review in Ecology, Evolution and Systematics*, 38: 459-487.
- Coyne, J.A. & Orr, H.A. **2004**. *Speciation*. Sinauer Associates, Eds. Massachusetts.
- Hendry, A.P. **2009**. Speciation. *Nature* 458: 162-164.

## 2.4

### On The Role of Natural Selection in Chromosomal Speciation

Rui Faria<sup>1,2</sup> y Arcadi Navarro<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>IBE, Institut de Biologia Evolutiva (UPF-CSIC), Departament de Ciències Experimentals i de la Salut. Universitat Pompeu Fabra. PRBB, Doctor Aiguader, 88. 08003 Barcelona, Spain. <sup>2</sup>CIBIO, Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos, Universidade do Porto, Campus Agrário de Vairão, 4485-661 Vairão, Portugal. <sup>3</sup>Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA) and Universitat Pompeu Fabra. Doctor Aiguader, 88. 08003 Barcelona. Spain.

#### SUMMARY

Since before the publication of “On the Origin of Species” by Charles R. Darwin, evolutionary biologists have been trying to understand how new species arise. Although great progress has been made, our understanding of the mechanisms of speciation is still far from complete. The idea that chromosomal rearrangements (CRs) may play a role in speciation (chromosomal speciation, CS) is related with the early observation that individuals hybrid for CRs generally present fertility problems. However, the first theoretical models of CS were flawed by a paradox and failed to explain how strongly underdominant CRs become fixed within populations. In this essay we review the current theoretical framework of CS, which, in contrast to previous models, is centered on the role of CRs as recombination suppressors, we pay special attention to models in which natural selection plays a relevant role.

#### 1. INTRODUCTION- From Darwin to the modern synthesis

Speciation, the process that leads to the formation of species, has been one of the most debated topics in evolutionary biology. In one of the most prominent essays on the subject, “*On the Origin of Species*”, Charles R. Darwin, the man who would influence forever the course of modern science, raised a fundamental question that would remain at the core of the research on speciation until the present day:

*“... how is it that varieties, which I have called incipient species, become ultimately converted into good and distinct species, which in most cases obviously differ from each other far more than do the varieties of the same species?”*

Darwin’s view of evolution and on how new species arise was centered on a fundamental idea: when variation within a population is useful in terms of the “*Struggle for Existence*” it will be preserved by means of “*Natural Selection*”. However, some evolutionary biologists maintained that Darwin left the species problem partly unsolved (e.g. Huxley and Bateson in (1)). Among other

arguments, it is often claimed that natural selection explains how ecotypes arise and are maintained, but does not clarify the exact mechanisms by which these ecotypes become reproductively isolated. However, as we shall see, this criticism is somewhat unfair, because even without understanding the genetic mechanisms of heritability, Darwin's explanation was, in essence, not far from what we have been learning since then.

"*Hybridism*", one of the most important chapters of "*The Origin*" in terms of speciation, has received little attention when compared with the chapters "*Struggle for Existence*" and "*Natural Selection*". While these last concepts constitute the core of Darwin's view, they are more related to adaptation than to speciation (although as we know today, the two processes are often related). In the chapter "*Hybridism*", as emphasized by Presgraves (2), Darwin confronted the putative limitations of his theory by precisely pointing to the heart of the species problem:

*"The importance of the fact that hybrids are very generally sterile, has, I think, been much underrated by some late writers. On the theory of natural selection the case is especially important, inasmuch as the sterility of hybrids could not possibly be of any advantage to them, and therefore could not have been acquired by the continued preservation of successive profitable degrees of sterility."*

This dilemma, later translated by Muller (in 1) into genetic terms, essentially means that: assuming within-locus incompatibilities, if two species are separated by an unfit heterozygote, it is hard to conceive how they have evolved from a common ancestor without one of them passing by this unfit genotype, often referred in the literature as an "adaptive valley". In other words, for a given locus, if allele "A" is incompatible with allele "a", it is difficult to explain how a taxon with a genotype "aa", could have derived from an "AA" ancestor without a sterile or inviable genotype "Aa" being first formed (1).

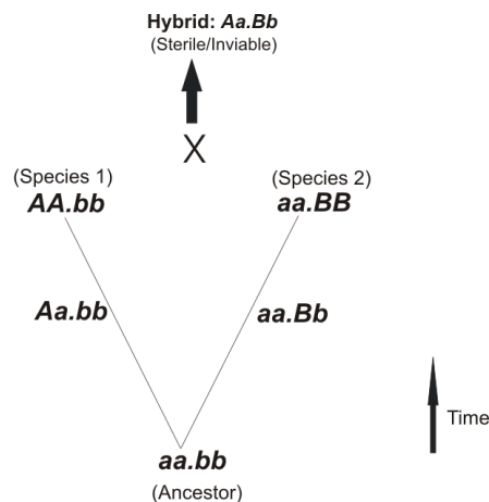
It may be asked, why, 150 years after the formulation of this problem, we are still looking for so many answers concerning the mechanisms of speciation. At least two factors make the study of speciation particularly challenging: (i) generally it takes a long time until two populations become reproductively isolated, while usually, researchers only have access to a single snapshot of this continuous process, i.e. either we try to infer past events based on the study of populations that are already reproductively isolated (new species), or we study populations during the process of divergence, without knowing for certain if they will ultimately result in new species; (ii) experimental crosses between individuals from different populations or species are not always successful, because hybrids are often sterile or inviable (2)), and even if sometimes this is not the case, it is typically hard to extrapolate results or conclusions to natural populations. Therefore, in population genetic terms, the study of speciation presents a fundamental methodological problem, superbly highlighted by Orr et al (3):

*"...the genetic study of speciation is, almost by definition, the attempt to do genetics where it cannot be done - namely, between species."*

Nonetheless, great progress was made after the rediscovery of Mendel's postulates. Based on a Mendelian framework, Bateson, Dobzhansky and Muller

(see 1,4) demonstrated that hybrid sterility and inviability can be caused by the interaction of complementary (Mendelian) genes, thus solving Darwin's dilemma (1,4). Under their model (BDM model), incompatible alleles at two different loci may arise and get alternatively fixed in two geographically isolated populations, and after a secondary contact they can cause inviability or sterility of the heterozygous individuals, where the incompatible alleles meet for the first time (Figure 1).

The success of the BDM model had three major consequences for speciation studies: (i) the general acceptance that, given enough time, incompatible alleles can get established in each population due to genetic drift, giving natural selection only a secondary role in this process; (ii) the recognition that reproductive isolation can get established after the occurrence of only two mutations, without the need for other mechanisms; and (iii) since this model was built for allopatric populations, the establishment of reproductive isolation in allopatry, for a long time almost unquestionably, as the null model of speciation.



**Figure 1.** The BDM model. Two incompatible alleles "A" and "B" meet each other for the first time when species 1 and 2 hybridize (adapted from 1,2).

A further consequence of the BDM model was the discrediting of non-genic speciation mechanisms that had been proposed until that time (e.g. related with cytoplasmatic factors or with CRs), some of which were fully abandoned, while others were only temporarily overlooked (4). Among these, CRs are probably the ones that have recently gained most refreshed attention.

Classically, three main lines of evidence had prompted researchers to think that CRs might play an important role in speciation: (i) the fact that most groups of plants and animals show karyotypical differences, even among closely related species (refs. within 5 and 7); (ii) the observation that some CRs can cause meiotic chromosome pairing problems in some hybrids, suggesting that they may reduce the fertility of heterokaryotypes (see examples in 6); and (iii) the association between higher rates of CRs and greater speciation rates observed in different phyla (refs. within 7). The bridge between CRs and speciation would

be reinforced by the development of a new theoretical framework (5,7,8,9), early in the 21<sup>st</sup> Century. These new models of CS resurrected the idea that CRs can play a role in speciation (non-genic) and reconciled it with the BDM speciation model (genic), suggesting that both mechanisms, “genic” and “non-genic”, can sometimes act together in the origin of new species.

## 2. OBJECTIVES

With the current increasing availability of genomic data, both at the species and population levels, it will be soon possible to evaluate the role of CRs in speciation for many organisms. In this essay we aim to revisit the issue of CS in order to give a modern perspective on the different models of CS, and to emphasize the importance of natural selection in these models. Additionally, we hope to contribute to the elaboration of new research programs that can shed new light on the role of CRs on the “*mystery of mysteries*”, as it was called by Darwin.

## 3. CHROMOSOMAL SPECIATION MODELS

Models explaining the establishment of reproductive isolation in allopatry are relatively straightforward: if divergence between populations increases linearly with time, the number of incompatibilities should increase at least as fast as the square of divergence time and the number of substitutions between populations (see refs. within 7). As a consequence, the main theoretical challenges to models of speciation exist in those cases in which speciation occurs in the face of gene flow (in parapatry or sympatry), where similar simplifications cannot be made (7).

Gene flow is a strong force binding together different populations. For instance, except in cases of strong diversifying selection, small amounts of gene flow are probably enough to overcome forces favoring diversification and speciation. Therefore, it is not surprising that the consensus view has been that the vast majority of speciation occurs in allopatry (i.e. in the absence of gene flow), through a process in which natural selection can play, at most, a secondary role (1). Thus, showing that reproductive isolation can also evolve in the presence of gene flow (i.e. in sympatry or parapatry) has become a challenge for many evolutionary biologists during the last decades. It is precisely within this context that CRs can play an important role in the establishment of reproductive isolation between populations.

The first theoretical models of CS, also called “hybrid-dysfunction (HD) models” (see 10 and refs. therein), were constructed upon the idea that recombination within the rearranged regions of heterokaryotypes often generates unbalanced gametes that make heterozygotes for CRs less fertile, or even completely sterile (underdominance) (4,5). However, HD models were constructed upon an early noticed paradox: on one hand, if underdominance is strong, it is very unlikely that different CRs will get fixed in different populations; on the other hand, if underdominance is weak enough to allow the fixation of



CRs, they will not constitute strong barriers to gene flow, and consequently, are unlikely to cause speciation (1,5,7 and refs. therein).

This paradox was recently solved by new theoretical models, the so called “suppressed-recombination (SR) models” (10). These models postulate that CRs play a role in speciation due to important effects on gene flow, which do not have necessarily to be correlated with their effect on fertility (5). According to these models, CRs can act as genetic barriers, decreasing or hindering recombination along a large region of the genome (5,7,8,10). Thus, in a scenario of two hybridizing populations, introgression will be delayed in regions of suppressed recombination within and close to CRs, allowing these chromosomal regions to remain isolated for a longer period of time when compared to collinear regions (5,7). This isolation may provide an opportunity for the accumulation of incompatibilities between populations, which may further reduce gene flow and ultimately complete speciation (5,7,8,10). However, for a given CR to play a role in speciation, it first has to get established in a population. How does this happen? What are the main mechanisms and underlying forces?

#### 4. THE FIXATION OF CRs

CRs probably occur in most lineages of animals and plants and exist either in a polymorphic or fixed state (9). Although their fixation can occur simply by chance, given the abundance and the putative underdominant effects of many CRs, it is hard to conceive that all this variability is not, or has never been, a target for natural selection.

The fixation of a CR is highly dependent on its effects on the fertility of heterokaryotypes (6). Although genetic drift is probably determinant for the fixation of CRs within small populations (see refs. in 1), selective advantage of the homozygote for the CR and meiotic drive may also play an important role in this process (see refs. in 6). In fact, theory predicts that when meiotic drive is strong and/or the CR is advantageous, its fixation is more probable than of a neutral mutant (see refs. in 6). This prompted Spirito (6) to suggest that in the absence of selection or meiotic drive, demes must be very small and semi-isolated for CRs to get fixed. Although recent studies have been providing examples of segregation distortion it has been observed that many CRs segregate normally (see refs. in 6). Therefore, we will focus in models where the fixation of CRs is related with the action of natural selection.

When populations are connected by migration, selection can favor the decrease of recombination between loci involved in local adaptation, even in the absence of epistasis (see refs. in 9). Based on this idea, a recent model proposed by Kirkpatrick and Barton (KB model) (9), suggests that, given enough time, if two populations (1 and 2) are under divergent selection and connected by gene flow, mutations can occur in population 1, for instance, at two loci that are not tightly linked, that may be favorable in that population but disadvantageous in population 2. These alleles will start to spread in the first population but as they are disadvantageous in the second, they will not spread away from the contact zone. If an inversion occurs in population 2 trapping the two favorable alleles together, they will recombine much less than before, or not

at all. Therefore, the favorable alleles that the inversion carries will be kept together, having smaller chances to possess the “*Achilles' heel*” of being on the same chromosome with disadvantageous immigrant alleles in the other locus (9). The chromosomes with the inversion will, thus, carry a combination of alleles at two loci that present higher fitness in the environmental conditions of population 2 than the recombining chromosomes. Consequently, the inversion will spread within population 2, resulting in two populations presenting a set of locally adapted alleles, and fixed, or almost fixed, alternative rearrangements. As emphasized by the authors, this model predicts that local adaptation, for instance to a new environment (see ref. within 9), constitutes a very plausible mechanism through which new inversions can get established.

## 5. NEW SUPPRESSED-RECOMBINATION MODELS

If selection is sufficiently strong, gene flow is mostly irrelevant, and most mechanisms of divergence work in allopatry as well as in parapatry (7 and refs. therein). Alternatively, if the mechanisms of CS are sensible to gene flow, distinct patterns of genetic differentiation are expected between sister species that are sympatric or parapatric and those that are completely allopatric (7). Therefore, if we want to understand the role of CRs in speciation, we have to compare different geographic scenarios.

One of the first models of suppressed recombination was proposed by Coluzzi (10 and refs. therein) based essentially on data from *Anopheles gambiae* populations, the main vector associated with the transmission of malignant Malaria in African human populations. According to this verbal model, CRs can stabilize novel adaptive gene combinations resulting from favorable mutations under the marginal environmental conditions inhabited by some mosquito populations. This stabilization may occur because inversions can protect part of the genome from recombination in the heterozygote state, allowing the accumulation of adaptive alleles, including some that can cause reproductive isolation. In contrast, alleles from genes located outside the inversions can introgress between marginal and central, parapatric populations (10 and refs. therein). This verbal model, thus, highlights the role of CRs as facilitators of the action of natural selection in adaptation to new environmental conditions, which can ultimately result in speciation.

Later on, based on a study on sunflowers, Rieseberg (5 and refs. therein) made two important observations: first, that chromosomes carrying CRs showed lower introgression than collinear chromosomes; and, second, that CRs are likely to suppress introgression across larger genomic regions than isolation QTLs. Based on these observations Rieseberg (5) suggested that the recombination reduction effects of CRs can act synergistically with the effects of isolation genes, delaying gene flow between populations across large genomic regions. Almost simultaneously, Noor et al. (8) reported two other important findings: first, pairs of *Drosophila* species living in sympatry present more inversion differences than species that seem to have diverged in allopatry; and second, the traits that prevent gene exchange between *D. pseudoobscura* and *D. persimilis* (e.g. hybrid male sterility and female mate preferences), map to a few regions in the genome associated with fixed inversion differences between

the two species. Based on these evidences, the authors (8) suggested that the additional time that CRs provide before the complete fusion of populations after a secondary contact, allows species to persist without complete admixture and can provide opportunity for natural selection to decrease the hybridization rate by reinforcement. That is, CRs not only allow species to persist when they hybridize, but may also contribute to the development of additional mechanisms that complete speciation by preventing further gene flow (8).

Within the context provided by these models, Navarro and Barton (7) developed the first mathematical model of CS (NB model), based on the following idea: if suppressed-recombination in heterokaryotypes is the main mechanism by which CRs reduce gene flow and become important in speciation, recombination, must be a key parameter in this process.

As acknowledged by Navarro and Barton (7), genetic incompatibilities can hardly accumulate in fully panmictic populations. However, in parapatric conditions, when selection is stronger than gene flow and different alleles are favored in different populations, gene flow and/or recombination are irrelevant to the process (see refs. in 1 and 7). Alternatively, incompatibilities can also be caused by alleles that act as neutral or nearly neutral until they appear in particularly deleterious combinations, if the populations are distributed along a large spatial scale (see 7 and refs. therein). However, models strictly based on neutrality do not have universal application. First, because alleles that participate in strong incompatibilities are unlikely to be neutral [see 7 and refs. therein]; and second, because genetic drift is mainly effective in small population. Therefore, models like the NB, that apply to different demographic (large effective population sizes) and selective scenarios, must be considered.

The NB model assumes the existence of two parapatric populations with symmetric gene flow between them and with selection acting in the same direction in the two demes: when one favorable allele appears in one deme (where it gets fixed) and migrates to the other, it will also tend to become fixed in the second deme, unless it interacts with one or more incompatible alleles (7). These conditions are very conservative, because if alleles are favorable everywhere they will slow down divergence (see refs. in 7). Through simulations, NB showed that CRs can indeed facilitate genetic isolation between two populations even in this conservative scenario. After an advantageous allele appears in a given population, there is a time interval during which, if a second mutant appears in the other population, both can get established, one in each deme (7). This time interval is made much longer by the recombination suppression effects of CRs. In addition, the NB model predicts that the accumulation of differences and incompatibilities should proceed faster within larger CRs, and that at a given point of the process, after the accumulation of some incompatibilities, new alleles will almost always be involved in some incompatibilities with existing differences, strengthening reproductive isolation until speciation is completed (7 and ref. therein). According to this model, CRs can be defined as genetic barriers that decrease gene flow between populations, delaying the fixation of favorable alleles and allowing populations to remain differentiated despite gene flow.

The integration of the models described before, both verbal and mathematical, suggests that CRs cause a local reduction of gene flow between populations, allowing incompatibilities to arise and making speciation with gene

flow and reinforcement more likely, even in the absence of divergent selection. This is probably what most differentiates CS from other models of sympatric or parapatric speciation.

## 6. THE ROLE OF NATURAL SELECTION IN CHROMOSOMAL SPECIATION

It is important to emphasize that natural selection constitutes a fundamental parameter in all the models described above. Firstly, selection can play an important role in the establishment of CRs, particularly when effective population sizes are not small; and secondly, as neutral alleles are probably less likely to participate in strong incompatibilities, the role of CRs in delaying the spread of non-neutral alleles among populations is probably more relevant when these alleles carry beneficial mutations (that is, under positive selection).

Even if the KB and NB models differ in a crucial assumption, namely that the NB model assumes uniform selection while KB model assumes divergent selection, selective pressures vary substantially between different genomic regions. Therefore, mutations occurring in different parts of the genome are not under the same selective constraints. Some mutations may behave as neutral, beneficial or disadvantageous in any population, while other mutations may be advantageous in only one deme and disadvantageous or neutral in others. As a consequence, divergent and uniform positive selection can operate at the same time, though upon different loci, and therefore the two models (KB and NB) can apply simultaneously.

The recent increase in the availability of genomic sequences has allowed geneticists to identify and molecularly characterize some of the genes underlying reproductive isolation (3). Although it is yet too early to draw strong conclusions, some patterns are emerging: the factors causing postzygotic reproductive isolation, at least in *Drosophila*, are often “ordinary genes” having normal functions within species, which tend to evolve rapidly (3). If many of the genes involved in reproductive isolation are under positive selection, and if we find evidence that they tend to be preferentially clustered within CRs, this may constitute strong evidence in favor of CS. Counterintuitively, the signal of selection, instead of resulting exclusively from divergent selection, may also result from the inability of favorable mutations to migrate between populations. As a consequence, mutations will accumulate, initially due to CRs, and later on, due to strong epistatic interactions associated with BDM incompatibilities (8).

It may be fair to ask why CRs need to be involved, if speciation in the face of gene flow in theory can be achieved by means of divergent selection between the two populations, without the participation of CRs. A plausible answer is that since genes involved in differential local adaptation are possibly a small fraction of the genome (1), environment-related divergent selection will likely affect only a minority of loci, which may be involved in a limited number of incompatibilities. Thus, a mechanism that extends the opportunity for incompatibilities to arise in other parts of the genome may be needed to facilitate speciation, and the NB model provides such a mechanism.

Empirical evidence favoring speciation in the face of gene flow is becoming more frequent, suggesting that other speciation scenarios besides strict allopatry are relevant in evolution (1). Therefore, even though we cannot support

the view that most species arise due to CRs, the conditions that make their role relevant in speciation (gene flow and selection) do not seem to be so rare in natural populations..

## 7. CONCLUSIONS

In the same way the BDM model provided a solution to Darwin's dilemma, the KB model makes the NB model more plausible, by explaining how, in a previous step, CRs can get fixed in populations. Considered together, these models predict that the accumulation of incompatibilities between populations connected by gene flow is more likely when CRs are involved, even in conservative scenarios in which selection acts uniformly at some loci over the entire species range. Given that CRs are so frequent, and that some BDM incompatibilities seem to be caused, at least in *Drosophila*, by "ordinary" genes driven by positive selection (3), the KB and NB models establish a bridge between CRs, natural selection and speciation. However, in the future, it will be important to investigate if these observations hold in other taxonomic groups as well. As emphasized by Presgraves (2), it seems that Darwin's answer to the question he raised 150 years ago was basically correct:

*"I hope, however, to be able to show that sterility is not a specially acquired or endowed quality, but is incidental on other acquired differences."*

**5. ACKNOWLEDGEMENTS** Financial support for RF was provided by the Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT), Portugal, through the Post-doc fellowship (SFRH/BPD/26384/2006). RF is grateful to Olga Fernando for waking his scientific interest in chromosomal speciation theory; and to Miguel Carneiro, Alexandra Sá Pinto and Stuart Baird for their helpful comments on this manuscript.

## 6. REFERENCES

1. Coyne, J., and Orr, H.A. **2004**. Speciation. Sinauer Associates, Inc.
2. Presgraves, D.C. **2007**. Speciation genetics: epistasis, conflict and the origin of species. *Curr. Biol.* 14, 125-127
3. Orr H.A. et al. **2004**. Speciation genes. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 14, 675-679
4. Orr, H.A. **1996**. Dobzhansky, Bateson and the genetics of speciation. *Genetics* 144, 1331-1335
5. Rieseberg, L.H. **2001**. Chromosomal rearrangements and speciation. *Trends in Ecol. & Evol.* 16, 351-358
6. Spirito, F. **1998**. The role of chromosomal rearrangements in speciation. In *Endless forms* (Howard, D.J., and Berlocher, S.H., eds), 320-329, Oxford University Press
7. Navarro, A., and Barton, N.H. **2003**. Accumulating postzygotic isolation genes in parapatry: a new twist on chromosomal speciation. *Evolution* 57, 447-459
8. Noor, M.A.F., et al. **2001**. Chromosomal inversions and the persistence of species. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 12084-12088
9. Kirkpatrick, M., and Barton, N. **2006**. Chromosome inversions, local adaptation and speciation. *Genetics* 173, 419-434

10. Ayala, F.J., and Coluzzi, M. **2005**. Chromosome speciation: humans, *Drosophila*, and mosquitoes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 6535-6542

## 7. RECOMMENDED READING

- Darwin, C. **1859**. On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life. J. Murray, *Ed.*
- Hey, J. **2006**. Recent advances in assessing gene flow between diverging populations and species. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 16, 592-596
- Coyne, J., and Orr, H.A. **2004**. Speciation. Sinauer Associates, Inc.

## 2.5

### Estudios sobre el Comportamiento Reproductivo y la Alimentación Adulta en Plecópteros (Insecta)

José Manuel Tierno de Figueroa<sup>1</sup>, Julio Miguel Luzón-Ortega<sup>2</sup> y Manuel Jesús López-Rodríguez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Biología Animal. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada. Campus Universitario Fuentenueva s/n. 18071 Granada. España. <sup>2</sup> Hydraena S.L.L. Plaza del Baño, 4. 18170 Alfacar. Granada, España

#### RESUMEN

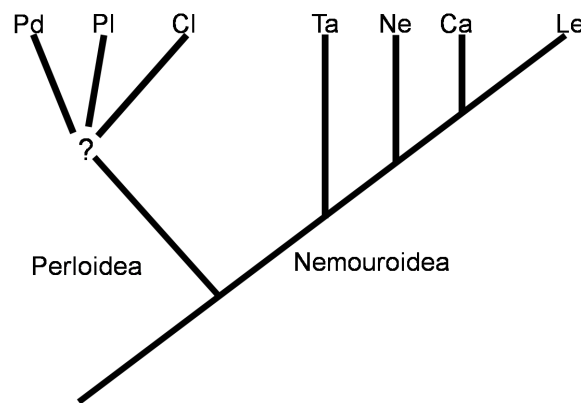
En este capítulo presentamos algunos de los resultados obtenidos en una serie de estudios realizados sobre la biología de los adultos de plec6pteros. Se propone un modelo de la evoluci6n de las llamadas intersexuales mediante vibraciones en una familia de plec6pteros, los perl6didos, en el sur de la Península Ibérica. La diversidad detectada en dichas llamadas apoya su funci6n como mecanismo de aislamiento reproductivo. Se discuten asimismo algunas estrategias reproductivas detectadas en el grupo. Particularmente interesante es la detecci6n de mecanismos de guarda de la pareja en especies con hembras que se aparean m1s de una vez condicionados en su duraci6n o no, seg6n la especie, por la existencia de intentos de desplazamiento por otros machos. Se describe la formaci6n de bolas de apareamiento en este grupo de insectos y se señaala la existencia de una clara convergencia, en cuanto a una serie de característicabiol6gicas, con otros grupos animales en los que se da esta conducta. Finalmente, se propone y discute, frente a otras, la hip6tesis que sostiene que la existencia o no de alimentaci6n en los adultos de este grupo est1 condicionada por el tamaño, y que responde a una cuesti6n adaptativa m1s que filogenética.

#### 1. INTRODUCCI6N

Los plec6pteros constituyen un grupo de insectos con fases juveniles de vida acuática, asociados generalmente a aguas corrientes, bien oxigenadas y frías, y adultos de vida aérea. Se conocen m1s de 3500 especies a nivel mundial (1), de las cuales 144, incluidas en las siete familias europeas del orden (representadas en la figura 1), est1n presentes en la Península Ibérica (10). Dada la mayor duraci6n de la vida ninfal, generalmente entre uno y tres años, la mayor parte de los estudios de biología del grupo se han centrado en dicha fase, mientras que el estado de vida imaginal (que se prolonga durante una o pocas semanas) ha recibido escasa atenci6n, a pesar de concentrar los procesos reproductivos.

Tras la emergencia, la mayoría de los machos emplea un sistema de comunicaci6n mediante vibraciones para localizar a la hembra, con la que se suele establecer un dúo que facilita el encuentro (10). La comunicaci6n se

produce golpeando el substrato con el abdomen (*drumming*), arrastrándolo (*rubbing*), directamente vibrando el cuerpo y transmitiendo dicha vibración a través de las patas (*tremulation*), o mediante una combinación de estos métodos. Este sistema de llamadas y respuestas, específico y genéticamente determinado, actúa asimismo como mecanismo de aislamiento reproductivo prezigótico (10). Es por ello que su estudio ayuda en la caracterización taxonómica y arroja luz sobre la evolución de este comportamiento en grupos de especies filogenéticamente próximas.



**Figura 1. Cladograma de las familias europeas de Plecoptera.** Pd: Perlodidae; Pl: Peridae; Cl: Chloroperlidae; Ta: Taeniopterygidae; Ne: Nemouridae; Ca: Capniidae; Le: Leuctridae.

Como propuso Stewart (2), es probable que la primera señal de *drumming* en Plecoptera se originara accidentalmente dejando caer el abdomen sobre el substrato, produciendo vibraciones que ayudarían en la detección y encuentro de la pareja. La selección progresivamente reforzaría el comportamiento de batido hasta constituir llamadas simples y distintivas en los machos y respuestas de las hembras que permitieran el establecimiento de secuencias de dúos durante la búsqueda de la pareja, facilitando el encuentro. La selección sexual habría favorecido modelos de llamadas más complejos, derivados del modo ancestral, que permitieran el aislamiento entre especies afines coexistentes y la posibilidad por parte de la hembra de seleccionar al macho en función de su eficacia biológica (puesta de manifiesto en determinados aspectos de las señales emitidas).

El comportamiento de apareamiento de los plecópteros es, en general, muy poco conocido. Aunque la comunicación intersexual ha sido estudiada con mayor frecuencia, otros aspectos como el mecanismo de cópula, la posible existencia de múltiples cópulas por parte de la hembra, la guarda de la pareja o la existencia de intentos de desplazamiento durante la cópula por otros machos, han recibido muy escasa atención, a pesar de su importancia para entender la biología de cualquier grupo animal. Además, las escasas investigaciones realizadas en el grupo de los plecópteros muestran que presentan una gran complejidad y diversidad de estrategias en estos aspectos (10).



Tradicionalmente se ha asumido que tan sólo una de las dos superfamilias de plecópteros europeos (Nemouroidea: familias Taeniopterygidae, Nemouridae, Capniidae y Leuctridae) ingería alimento durante la etapa de vida adulta, mientras que la otra superfamilia (Perloidea: familias Perlodidae, Perlidae y Chloroperlidae) parecía no consumirlo. Entre las razones presentadas para justificar esta diferencia se ha argüido que las hembras de los primeros maduran los huevos durante el estado adulto, mientras que los segundos lo hacen al final de la etapa ninfal, o que existen diferencias en la dieta ninfal de ambas superfamilias (fitófagos vs depredadores, respectivamente) que condicionarían la existencia o no de alimentación adulta. No obstante, ninguna de estas explicaciones resulta convincente para justificar todos los casos (5).

Los estudios desarrollados en las últimas dos décadas por nuestro equipo sobre estos aspectos han mostrado datos novedosos y sorprendentes y nos han permitido detectar patrones evolutivos para las mencionadas conductas.

## 2. OBJETIVOS

Centrándonos en estos tres aspectos fundamentales de la biología imaginal de los plecópteros, nos planteamos los siguientes objetivos:

1. Presentar un modelo de la evolución de las llamadas de comunicación mediante vibraciones en las especies de Perlodidae en el sur de la Península Ibérica (grupo elegido por presentar la mayor variabilidad en tipos de llamadas) acorde con el modelo de evolución de la comunicación intersexual en plecópteros en su conjunto propuesta por Stewart (2, 3).
2. Discutir las estrategias de apareamiento presentadas por este grupo animal.
3. Proponer una hipótesis explicativa de las diferencias observadas en cuanto a la existencia o no de alimentación en los plecópteros adultos.

## 3. RESULTADOS

**3.1. Evolución de la comunicación intersexual.** En la Figura 2 podemos observar el modelo evolutivo propuesto para los perlódidos del sur de la Península Ibérica en los que se ha estudiado la llamada vibracional (7).

La llamada de un hipotético perlódido ancestral sería una llamada simple compuesta de una secuencia de varios batidos repetidos con un mismo intervalo. Desde este punto de partida se han producido una serie de modificaciones de este patrón que han seguido tres caminos (7):

1. Uno de ellos es la simplificación del modelo ancestral, dando lugar a llamadas con menor número de batidos. La mínima expresión de esto se produce en *Guadalgenus franzi* (Aubert, 1963) que presenta la llamada más simple descrita para el orden Plecoptera, con sólo dos batidos. La hembra de esta especie contesta con la emisión de un solo batido, que serviría para señalar su posición al macho. En el caso de *Hemimelaena flaviventris* (Pictet, 1842), la llamada también puede ser interpretada como un modelo ligeramente derivado del ancestral, en el que la simplificación no es tan extrema como en el caso anterior, ya que está compuesta por tres batidos con reducción en la

duración del intervalo entre los mismos. La hembra responde en este caso con un par de batidos.

2. Otro camino es el aumento de la complejidad de la llamada del modelo ancestral mediante: 1) el aumento del número de batidos sin modificación en la duración del intervalo entre los mismos, como ocurre en *Isoperla pallida* Aubert, 1963, que posee una llamada bastante larga, aunque por sus características podría ser considerada como la más próxima al modelo ancestral de entre todas las llamadas descritas de los perlódidos de la Península Ibérica; 2) la variación en el intervalo entre batidos de una llamada, de forma que aumenta la frecuencia de los batidos en la primera parte de la llamada y se mantiene constante a una frecuencia mucho más elevada en la segunda, lo que da lugar a la distinción de dos fases en cada llamada (compuesta por una sola secuencia); este sería el caso de *Isoperla curtata* Navás, 1924; 3) la división de la llamada en secuencias aproximadamente idénticas repetidas, cada una compuesta por dos fases: una primera con incremento progresivo de la frecuencia y una segunda con frecuencia constante y elevada de batidos, como ocurre en la llamada de *Isoperla grammatica* (Poda, 1761); 4) la división de la llamada en secuencias que poseen diferente duración y diferente número de batidos, al menos la primera secuencia en relación con las restantes, lo que da lugar a una de las llamadas más complejas de las descritas para esta familia de plecópteros a nivel mundial; este es el caso de la llamada de *Isoperla nevada* Aubert, 1952. De ninguna de las hembras de estas especies se han registrado llamadas y, tan sólo en el caso de *Isoperla curtata* se ha observado a la hembra vibrar el cuerpo, lo que podría ser una respuesta por tremulación.

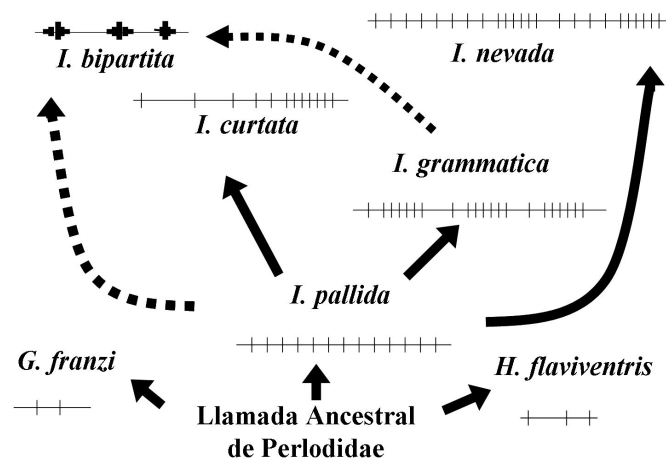


Figura 2. Posible evolución de la complejidad de las llamadas mediante vibraciones en Perlodidae del sur de la Península Ibérica. Modificado de (7)

3. Por último, tendríamos el caso de la llamada de *Isoperla bipartita* Aubert, 1963, en la cual se produce un cambio en el modo de producir la llamada, ya que es emitida mediante arrastres del abdomen (*rubbing*). Este modelo de producción de llamada, que no había sido descrito previamente entre los

Perlodidae, supone un modelo derivado directamente a partir de llamadas ancestrales o, quizá, de llamadas algo más complejas del tipo de las que presenta actualmente *Isoperla grammatica*, como aparece representado en la figura 2. La llamada del macho de *Isoperla bipartita* está compuesta de varios arrastres, mientras que la hembra responde con un batido seguido de un arrastre, lo que también supone un modelo único de dúo entre los plec6pteros.

La gran diversidad de llamadas detectadas entre estas especies estrechamente emparentadas, que coexisten en su mayoría en las mismas 1reas y que presentan un per6odo de vuelo muy similar, puede ser resultado, en parte, de presiones selectivas que favorezcan dicha diversificaci6n, evitando apareamientos err6neos (actuando por tanto como mecanismo de aislamiento reproductivo prezig6tico). Esta hip6tesis se ve confirmada por el hecho de que, hasta la fecha, no se han descrito llamadas similares entre especies pr6ximas que comparten un mismo 1rea, pero s6 entre especies alejadas filogen6ticamente y/o que habitan en diferentes continentes (7).

**3.2. Sistemas de apareamiento.** Estudios experimentales en los que mantuvimos un n6mero variable de hembras y machos de una misma especie, permiti6ndoles el apareamiento, mostraron la existencia de diferentes estrategias comportamentales relacionadas con la posibilidad o no de m6ltiples apareamientos en las hembras (4, 10). Este estudio aport6 informaci6n sobre la existencia de mecanismos de guarda de la pareja en los plec6pteros, hecho escasamente citado en la bibliograf6a del grupo con anterioridad, y sobre la efectividad de dicho comportamiento. De este modo, la eficacia de los intentos de desplazamiento por otros machos sobre un macho que guarda a la hembra es enormemente baja. En una especie, *Leuctra fusca* (Linneo, 1758), se demostr6 estad6sticamente que el tiempo que el macho se manten6a sobre la hembra en posici6n de c6pula (mecanismo de guarda de la pareja empleado en este grupo) estaba directamente relacionado con la existencia o no de intentos de desplazamiento por parte de otros machos. As6, el tiempo que el macho permanec6a sobre la hembra se prolongaba notablemente si durante la c6pula hab6a sufrido alg6n intento de desplazamiento. En otras especies (*Leuctra andalusiaca* Aubert, 1962 e *Isoperla nevada*) esta relaci6n no exist6a y el tiempo de guarda era aproximadamente constante tanto si se sufr6an como si no intentos de desplazamiento. Finalmente, en otra especie (*Capnioneura mitis* Despax, 1932), los intentos de desplazamiento no fueron detectados, por lo que de existir deb6an ser muy poco frecuentes. Nuestros datos adem1s apoyan la idea de que la selecci6n sexual ha favorecido periodos de tiempo largos de permanencia del macho en posici6n de c6pula como mecanismo de guarda de la pareja en especies que son ocasionalmente poli1ndricas. Contrariamente, en especies en las que la hembra suele copular una 6nica vez, se observan cortos per6odos de permanencia del macho en posici6n de c6pula, ya que la guarda de la pareja no supondr6a beneficios que compensaran sus costes (mayor detectabilidad por depredadores, p6rdida de tiempo que podr6an invertir en otras actividades como la alimentaci6n, etc.).

Recientemente hemos descrito, a partir de observaciones realizadas en la naturaleza (ver figura 3), la existencia de bolas de apareamiento (*mating balls*) en plec6pteros (6). Estas bolas hab6an sido descritas previamente en otros grupos animales como col6bridos y anuros, y tienen lugar cuando varios

machos intentan copular simultáneamente con una misma hembra y se aglomeran en torno a ella.

Todos los criterios señalados en estos grupos animales como favorecedores de esta conducta (inexistencia de combates entre machos por obtener apareamientos, alta densidad de población en la época reproductora, tendencia a la agregación y dimorfismo sexual en tamaño a favor de las hembras) se dan en las especies de plecópteros en las que hemos detectado bolas de apareamiento, lo que pone de manifiesto cómo una misma estrategia ha evolucionado por convergencia en grupos filogenéticamente distantes.

**3.3. Alimentación.** Como se señaló en los antecedentes, se acepta que los Nemouroidea se alimentan durante el estado adulto, principalmente de líquenes y algas. Se ha demostrado asimismo la importancia de la dieta en este grupo para la formación de los huevos o para el incremento de la longevidad.



**Figura 3. Bolas de apareamiento.** El Perlidae *Dinocras cephalotes* (Curtis, 1827) (a la izquierda) y el Perlodidae *Hemimelaena flaviventris* (a la derecha).

Nuestros estudios de cuantificación de la dieta de una veintena de especies de este grupo apoyan la idea de que la alimentación juega un papel importante en esta superfamilia, tanto en la hembra como en el macho, y que este proceso es necesario para la actividad propia de los adultos (búsqueda de la pareja, apareamiento, puesta, etc.). En estos estudios los cianolíquenes y las cianobacterias parecen ser los componentes principales de la dieta, aunque otros componentes como los ascomicetos o los granos de polen (sobre todo en las especies primaverales) forman también parte de la dieta de este grupo (5, 9).

Respecto a los *Perloidea*, aunque se asumía tradicionalmente que no se alimentaban en el estado adulto, posteriores trabajos mostraron que al menos

algunas especies, como *Siphonoperla torrentium* (Pictet, 1842), sí lo hacían. Posteriormente, con nuestros trabajos hemos demostrado que las especies estudiadas de Chloroperlidae y de Perlodidae de pequeña o mediana dimensión, como *Chloroperla nevada* Zwick, 1967, *Xanthoperla apicalis* (Newman, 1836), *Isoperla nevada*, *I. grammatica* o *Hemimelaena flaviventris*, se alimentan durante la fase imaginal (fundamentalmente de polen), e incluso hemos detectado cambios en la dieta a lo largo del período de vuelo. Contrariamente, las especies de Perlidae y las de Perlodidae de gran tamaño *Perla marginata* (Panzer, 1799), *Dinocras cephalotes*, *Perlodes microcephalus* (Pictet, 1833) o *Besdolus ravizzarum* (Pictet, 1841) entre otras) no se alimentan durante la etapa adulta (5, 10). A partir de estos datos, hemos propuesto la hipótesis de que las especies de plecópteros de gran tamaño no necesitan nutrirse en el estado adulto y que el tamaño límite a partir del cual los adultos no ingieren alimento ronda 1,5 cm de longitud total. La energía necesaria para la actividad del adulto provendría de las reservas acumuladas en la fase ninfal, durante la cual tendría lugar también el desarrollo de los huevos. Hasta ahora esta hipótesis ha sido confirmada con nuevos datos procedentes de estudios que hemos realizado en especies de plecópteros de otros continentes, como *Antarctoperla michaelsoni* (Klapálek, 1904) y *Limnoperla jaffueli* (Navás, 1928) de Chile, *Anacroneuria starki* Fenoglio & Morisi, 2000 y *A. talamanca* Stark, 1988 de Nicaragua y *Neoperla* sp. Needham, 1905 de Gabón, las dos primeras de pequeño tamaño adulto y con ingesta de alimento frente a las restantes con tamaño superior a 1,5 cm y sin alimentación adulta. El hecho de que los huevos maduren durante el estado de ninfa en el caso de la mayoría de los Perloidea de pequeño tamaño (que sí consumen alimento en estado adulto) rechaza la hipótesis de que la maduración previa o no a la emergencia explique la existencia o no de alimentación adulta. Por otra parte, si bien los Nemouroidea suelen ser fitófagos durante la etapa ninfal, los Perloidea presentan una amplitud de dieta que no justificaría las diferencias en alimentación adulta basándose en la dieta ninfal.

#### 4. CONCLUSIONES

La existencia de modelos de llamadas muy dispares entre especies filogenéticamente próximas y, en muchos casos, cohabitantes en un mismo río y con un período de vuelo similar, apoya el papel de éstas como mecanismos de aislamiento reproductivo.

De nuestros estudios en comportamiento de apareamiento en plecópteros podemos concluir: 1) que existen mecanismos de guarda de la pareja, 2) que el tiempo de guarda de la pareja puede estar condicionado, en algunas especies, por la existencia de intentos de desplazamiento por parte de otros machos, 3) que las especies en las que la hembra copula una única vez, no se observan mecanismos de guarda de la pareja, y 4) que algunas especies de plecópteros desarrollan la formación de bolas de apareamiento similares a las observadas en otros grupos animales con los que comparten una serie de estrategias vitales, lo que indica que este comportamiento se ha desarrollado por convergencia en grupos lejanos filogenéticamente.

Por otra parte, nuestros resultados apoyan la hipótesis de que sólo las especies de plecópteros de gran tamaño carecen de alimentación durante la fase imaginal. Proponemos que esto es una consecuencia de una tasa metabólica baja y una gran acumulación de reservas durante el estadio ninfal en estas especies, más que de la presencia o no de huevos maduros al final del desarrollo ninfal o de una diferencia en la composición de la dieta de las fases juveniles, como se había sugerido anteriormente. Los resultados parecen indicar que un tamaño de aproximadamente 1.5 cm de longitud total es el límite a partir del cual los plecópteros no necesitan alimento durante el estadio adulto. Los resultados también parecen mostrar que la alimentación en los plecópteros adultos es un aspecto adaptativo más que una consecuencia filogenética.

**5. AGRADECIMIENTOS** Queremos agradecer a la Dra. J. Cabrero Hurtado y al Dr. J.P. Martínez Camacho (Dpto. Genética, Universidad de Granada, España), así como al Dr. S. Fenoglio (Dpto. Scienze Ambientali e della Vita, Università del Piemonte Orientale, Italia) sus valiosos comentarios sobre el manuscrito original.

## 6. REFERENCIAS

1. Fochetti, R. & Tierno de Figueroa, J.M. **2008**. Global diversity of stoneflies (Plecoptera; Insecta) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595: 365-377.
2. Stewart, K.W. 1997. Vibrational Communication in Insects. Epistome in the language of Stoneflies?. *American Entomologist*, summer 1997: 81-91.
3. Stewart, K.W. & Sandberg, J.B. **2006**. Vibratory communication and mate searching behaviour in stoneflies. 179-186. En: Drosopoulos, S. & Claridge, M.F. (eds.), *Insect sounds and communication. Physiology, Behaviour, Ecology and Evolution*. Taylor & Francis Group. Boca Raton, FL.
4. Tierno de Figueroa, J.M. **2003**. Mate guarding and displacement attempts in stoneflies (Insecta: Plecoptera). *Biologia Bratislava*, 58(5): 925-928.
5. Tierno de Figueroa, J.M. & Fochetti, R. **2001**. On the adult feeding of several European stoneflies (Insecta, Plecoptera). *Entomological News*, 112(2): 128-132.
6. Tierno de Figueroa, J.M., Luzón-Ortega, J.M. & López-Rodríguez, M.J. **2006**. Mating balls in stoneflies (Insecta, Plecoptera). *Zoologica baetica*, 17: 93-96.
7. Tierno de Figueroa, J. M., Luzón-Ortega, J.M. & Stewart, K.W. **2002**. The drumming of *Isoperla pallida* Aubert and *Guadalgenus franzi* (Aubert) (Plecoptera, Perlodidae) and review and evolutionary considerations of Southern Iberian Peninsula Perlodidae. *Zoological Science*, 19(8): 871-875.
8. Tierno de Figueroa, J.M. & Sánchez-Ortega, A. **1999**. Imaginal feeding of certain Systellognathan stonefly species (Insecta: Plecoptera). *Annals of the Entomological Society of America*, 92(2): 218-221.
9. Tierno de Figueroa, J.M. & Sánchez-Ortega, A. **2000**. Imaginal feeding of twelve Nemouroidean stonefly species (Insecta, Plecoptera). *Annals of the Entomological Society of America*, 93(2): 251-253.
10. Tierno de Figueroa, J.M., Sánchez-Ortega, A., Membiela Iglesia, P. & Luzón-Ortega, J.M. **2003**. Plecoptera. En: *Fauna Ibérica*, vol. 22. Ramos, M.A. et al. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales. CSIC.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Drosopoulos, S. & Claridge, M.F. (eds.). 2006. ***Insect sounds and communication. Physiology, Behaviour, Ecology and Evolution***. Taylor & Francis Group.
- Stewart, K.W. 1994. Theoretical considerations of mate finding and others adult behaviors of Plecoptera. ***Aquatic Insects***, 16(2): 95-104.
- Tierno de Figueroa, J.M. & Sánchez-Ortega, A. 2003. Historia natural de los Plecópteros. En: *Plecoptera*. Tierno de Figueroa, J.M., Sánchez-Ortega, A., Membiela Iglesia, P. & Luzón-Ortega, J.M. ***Fauna Ibérica***, vol. 22. Ramos, M.A. et al. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales. CSIC. Madrid: 28-45.



# Tema 3

---

## Diversidad, Filogenia y Filogenómica



---

# 3.1

## The Evolution of Viviparity in Salamanders (Amphibia, Caudata): Organization, Variation, and the Hierarchical Nature of the Evolutionary Process

David Buckley<sup>1</sup>, Marina Alcobendas<sup>2</sup>, Mario García-París<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dpt. Integrative Biology & Museum of Vertebrate Zoology, U. California, Berkeley, CA-94720-3140, USA. <sup>2</sup>Dpto. Biodiversidad y Biología Evolutiva. Museo Nacional de Ciencias Naturales-CSIC. c/ José Gutiérrez Abascal 2, 28027-Madrid, España.

### ABSTRACT

Organization and variability are core concepts in evolutionary biology. Nature is variable, but also highly organized, and this organization is both a consequence and a causality of the evolutionary process. In order to analyze the evolution of phenotypes, the organizational properties of the system studied have to be considered. Here, we analyze under this perspective the evolution in salamanders of a new reproductive strategy, viviparity. We have undertaken distinct approaches to characterize the generation of the novelty at different organizational levels (genes, cells, organism, populations). We highlight the necessity of integrative research programs to account for the complex, dynamic, and hierarchical nature of the evolutionary process.

### 1. BACKGROUND

One of the most fascinating characteristics of natural systems such as cells, organisms, populations, and ecosystems, is organization. Elements within these systems are structurally and functionally integrated, and the nature and origin of the organization has been of longstanding interest for natural scientists. Organisms, for instance, are highly organized entities, and this organization is expressed both internally and externally (1). Internally, there is a strong structural and functional relation among all the parts forming the organism (e.g., molecules, cells, tissues and organs). This organization takes form during development, from the unicellular zygote to the multi-cellular adult. Externally, organisms are also organized in functional units, such as in populations, demes and societies. We can also define structural units, which would be derived from the genealogical link among individuals. These externally organized structural units would correspond, for example, to evolutionary lineages (species). The genealogical nature of the elements forming natural systems (cellular lineages or organism lineages, for instance) promotes their hierarchical organization. Hierarchies are a recurrent way to organize complexity in nature.

Just as organization is a ubiquitous characteristic of natural systems, so is variability. Variations are pervasive in nature. No two individuals are the same, and the diversity in phenotypes (body plans, sizes, colors and shapes) is

paralleled by variants in behaviors and functions. Furthermore, this variability is found at all levels of biological organization: between species, between individuals of the same species, and within individuals (e.g., asymmetries, distinct cellular lineages, or allelic variants), to name a few. These variants are necessary since, although highly organized, natural systems are also highly dynamic. Dynamism is a fundamental property given that natural systems do not occur within fixed frameworks but against constantly shifting backgrounds. Organisms, for instance, are continually challenged by a changing environment, which includes abiotic and biotic factors (e.g., climate, predators). Individuals respond to this challenge by acclimating themselves to the new conditions. In the long term and as a consequence of this challenge, adaptations may evolve in populations by natural selection. Variations provide the raw material for natural selection to work with.

The structural and functional organization observed in natural systems is not accidental: organization in nature is a consequence of the evolutionary process. During the last four billion years, endless rounds of generation and sorting of variants, together with the compilation, replication, and transmission of the information to successive generations, have led to the organized biota on Earth. The genealogical nature of the relationships among elements in natural systems, together with the functional and structural relations distilled from the processes of adaptation through natural selection of variants, are responsible for the organizational patterns observed in nature.

The study of the evolution of phenotypes and adaptations is a central theme in evolutionary biology. The two core concepts, organization and variation, orbit this central theme. Given the organizational properties of natural systems, the evolution of new phenotypic characters and adaptations involve changes and interactions across all levels of the biological organization. In order to understand the evolution of phenotypes and adaptations, it is necessary to understand how phenotypic characters are generated and expressed at different levels of the biological organization. In particular, understanding how variability arises and is sorted at the different levels of the hierarchy, the mechanisms that generate this variability, and how variability is related among levels are key components of this research.

Traditionally, the importance of natural selection as the primary causal agent in evolution has been highlighted. Mutation as the raw source of variants, and natural selection as the evolutionary force driving the fixation of the novelty, have been considered as a sufficient explanatory framework to analyze the evolution of phenotypes in nature. More recently, however, there has been a renewed interest in studying the mechanistic processes that generate phenotypes, emphasizing the role of these generative rules as internal causal actors in evolution. In this latter approach, organization is not just viewed as an inherent consequence of evolution; rather, organizational patterns profoundly influence further evolution.

Patterns of reproduction in salamanders are rather diverse (see below), including oviparous and viviparous species, direct developers and paedomorphic forms, among others. However, this variability is not randomly and evenly distributed across the phylogeny: while paedomorphic forms can be found within most of the lineages, viviparity is restricted to a few species within one family (Salamandridae), and direct developers are only present in

Plethodontidae, which accounts for almost two-thirds of all the species of salamanders. Understanding how these patterns of variability have evolved and how the different reproductive phenotypes have themselves evolved, therefore, requires approaches that span a broad range of temporal and spatial scales, including the analysis of the history of the characters under a systematic and comparative perspective, the study of the mechanistic processes that generate the characters and their variability at the different levels of organization, and the inference of external selective forces that have fine-tuned the performance of the characters and permitted their eventual fixation in populations (2). We have been following this kind of hierarchical and integrative approach to study the evolution of reproductive modes in salamanders (Amphibia, Caudata).

In the following sections, we first provide some background on the patterns of reproduction in salamanders. Second, we describe the system chosen to address the evolution of reproductive strategies in urodeles, the fire salamander *Salamandra salamandra*. We then summarize the different approaches we have taken, as well as ongoing and future research lines. Answers to evolutionary questions are seldom simple, and adopting a pluralistic and integrative approach helps to disentangle the complexity and hierarchical nature of the evolutionary process.

## 2. REPRODUCTION IN CAUDATA

Amphibians possess complex life cycles, usually beginning with the release in water of unattended eggs that will be fertilized by the males, followed by the hatching of free-living aquatic larvae that metamorphose into terrestrial adults (3). The standard oviparous biphasic life cycle, however, has been modified repeatedly in the three orders of Amphibians [frogs and toads (Anura), caecilians (Gymnophiona), and salamanders (Caudata)]. In salamanders, for instance, the suborder Salamandroidea, comprising seven out of the ten families of salamanders and around 90% of all the species of salamanders, presents internal fertilization. Among them, we find species with the 'standard' oviparous life cycle (eggs laid in water, hatching of aquatic larvae, and metamorphosis before the terrestrial stage), together with paedomorphic forms (larval forms reaching sexual maturity; no metamorphosis), direct developers (larval stage is lacking; adult structures form directly from the embryo), and viviparous species.

Viviparity is defined by the retention of the developing young within the females' genital tract. Females will give birth, thus, to fully formed terrestrial juveniles. Furthermore, mothers supply the growing embryos with some nutrients in addition to the yolk provision of the eggs (4). Viviparity is an uncommon phenomenon in Caudata. It has evolved independently in only a few species of salamanders, all within Salamandridae (Fig. 1). Twenty-one genera and 81 species are recognized in the family (AmphibiaWeb, <http://amphibiaweb.org/>, July 2009). Viviparity occurs in all the species within *Lyciasalamandra*, in *Salamandra atra*, in *S. lanzai*, and in some populations of *S. salamandra*. Also, it has been suggested that viviparity occurs in *S. algira*, although little is known about the physiological characteristics of live bearing in this species.

The physiology of viviparity differs in salamandrids. For instance, gestation in *S. atra* is extended up to 3 or 4 years. Females produce only two juveniles. Only one egg is fertilized in each oviduct and the unfertilized eggs serve as nutrients for the developing embryos. Furthermore, the mothers also supply the embryos with a nutritious material secreted in the uterus. Gestation periods are much shorter in *Lyciasalamandra* (around 9 months) with females giving birth to several juveniles.

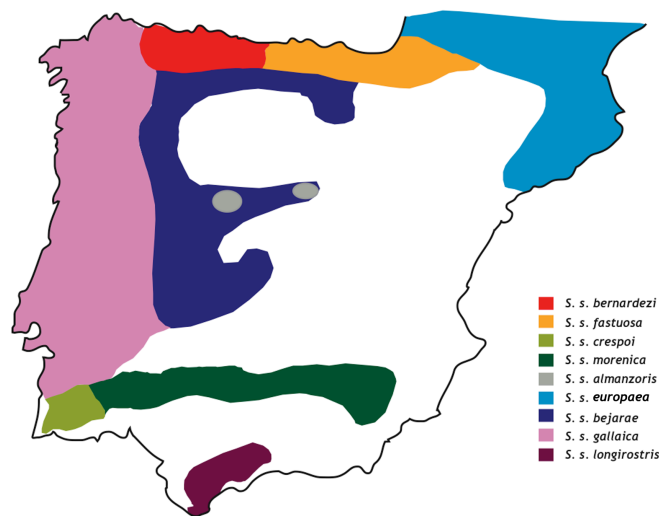


**Figure1. Modes of reproduction in Salamandridae.** Simplified phylogeny of Salamandridae based on mtDNA (modified from García-París *et al.* 2003 and Veith *et al.* 1998). "Newts" comprise 65 species of oviparous species. Modes of reproduction are plotted in the tree (white=oviparity; gray=ovoviviparity; black=viviparity). *S. salamandra* is an ovoviviparous species, but in some populations viviparity has evolved.

### 3. VIVIPARITY IN *S. SALAMANDRA*

The fire salamander *S. salamandra* is widely distributed in western Eurasia. Morphological patterns and life history traits are very variable in this species. The highest levels of variability are found in the Iberian Peninsula, where at least nine subspecies are currently recognized (5) (Fig. 2) (A re-examination of the subspecific taxonomy, including the recently described *S. s. alfredschmidti* is underway). One of the most striking features in *S. salamandra* is the polymorphism in modes of reproduction. *Salamandra salamandra* females, unlike most of the amphibians that present a characteristic biphasic life cycle, do not lay eggs. Instead, they release 16 to 60 small larvae directly into ponds or streams. This mode of reproduction is referred to as ovoviviparity. Larvae will spend from one to several months in water, until they reach their terrestrial phase after metamorphosis. This pattern of reproduction is modified in the Northern Iberian populations of fire salamanders. Most populations included in

the subspecies *S. s. bernardezi* and *S. s. fastuosa*, are viviparous (Fig. 2). Females give birth to a few (1-15) fully metamorphosed, terrestrial juveniles. The complete developmental cycle from fertilization to metamorphosis occurs, thus, within the female's genital tract. During the first developmental stages, the nutrients from the egg yolk nourish the embryos. However, the embryos will soon hatch within the uterus, starting to feed actively on unfertilized or abortive eggs (i.e., oophagy), and on other siblings (adelphophagy) (6). The intrauterine cannibalistic behavior in *S. salamandra* is exclusive to this species among salamanders.



**Figure 2. Distribution of *S. salamandra* subspecies in the Iberian Peninsula.** Schematic representation of the distribution of the subspecies. Viviparity occurs in populations of *S. s. bernardezi* and *S. s. fastuosa*

Intraspecific polymorphisms in reproductive modes are rather unusual among vertebrates. Furthermore, the fact that viviparous populations of *S. salamandra* occur within the continuous distribution range of the species provides us with an extraordinary and unique natural system to study the origin, maintenance, and evolution of reproductive strategies in salamanders.

#### 4. HIERARCHICAL APPROACH TO THE EVOLUTION OF VIVIPARITY IN *S. SALAMANDRA*

**4.1. Historical and phylogeographic approach.** We performed a phylogeographic analysis (analysis of the variability of mitochondrial and nuclear genetics markers in a spatial context) to frame the evolution of viviparity with a historical and geographic background (7). We inferred a paleogeographic scenario that could explain the history of the populations of *S. salamandra* in the Iberian Peninsula. In this scenario, we hypothesized that several lineages of populations would have split during the late Pliocene or early Pleistocene.

Viviparity would have evolved in one of these isolated lineages in the North of the Iberian Peninsula. During the Quaternary glacial-interglacial cycles, populations would have expanded and contracted their ranges, leading eventually to the current distribution of the species. Mitochondrial markers reveal where these secondary contacts among the isolated lineages took place. Interestingly, viviparity is now present in three of these mitochondrial lineages. Furthermore, these lineages are genetically homogeneous from a nuclear perspective, suggesting that after the secondary contact, gene flow led to the admixture of nuclear gene pools, spreading viviparity across the three distinct mitochondrial lineages leading to the distribution observed nowadays. We are now refining this study to (i) analyze in further detail the historical demographic trends in both groups of populations (e.g., range expansions, populations bottlenecks), (ii) estimate the divergence times between groups of populations, relating these estimates to plausible paleogeographic scenarios, and (iii) study the population dynamics at fine spatial and temporal scales, especially at the contact zones between ovoviviparous and viviparous groups of population, to get a better understanding of the historical, demographic and population processes that occurred in the past, and occurring at present.

**4.2. Viviparity and development.** The evolution of the different reproductive modes in amphibians is sometimes related to modifications during development of individuals (e.g., paedomorphosis, direct development). In a recent work (8), we analyzed this possibility in *S. salamandra*, comparing and characterizing the developmental sequences of embryos from ovoviviparous and viviparous females. We raised *in vitro* ovoviviparous and viviparous embryos, highlighting the main ontogenetic differences between them. We found that the evolution of viviparity in *S. salamandra* is related to changes in the timing of developmental events, that is, to heterochronic changes during development. First, the developmental program of viviparous embryos was accelerated compared to the development of the ovoviviparous con-specifics. Viviparous juveniles were fully formed after 90 days of *in vitro* development, while ovoviviparous individuals reached an aquatic larva morphology after 90 days of development; they need to spend from one to several months in water before they metamorphose. Second, hatching was pre-displaced in viviparous embryos; it occurred early in development, while in ovoviviparous embryos hatching occurs when females deliver the larvae in the water (or shortly before that event). Third, pre-displacement and acceleration of development characterized the cephalic and pharyngeal structures of the viviparous embryos. Most of these structures are related to feeding, and their precocious development enables the viviparous embryos to feed within the maternal genital tract (intrauterine cannibalism, including oophagy and adelphophagy). Development, thus, is modified in viviparous embryos and these modifications entail changes in the timing of developmental events (i.e., heterochronies). The evolution of viviparity in *S. salamandra* is related to heterochronic patterns during development, highlighting the importance of developmental processes in the evolution of reproductive modes in amphibians.

**4.3 Viviparity and modifications at the histological and cellular level.** One of the most striking features of viviparity in the fire salamander is the intrauterine

cannibalistic behavior exhibited by the embryos at early developmental stages. This behavior is favored by the heterochronic development of the structures related to feeding, such as the early development of jaws and cephalic structures, the early opening of the mouth and the stomodeum, and the early differentiation of the foregut. Thus far, we have analyzed such heterochronies at a morphological level. We are now performing more detailed histological studies, to reveal which structures (muscles, cartilages, bones) are actually modified in viviparous embryos and at which stages of development modifications occur. Interestingly enough, most of the modified structures identified so far have a common embryonic cellular origin: the neural crest cells. The Neural Crest Cells (NCC) arise in the lateral boundaries of the neural folds during neurulation. They migrate following specified pathways, and then differentiate to form the variety of cell types or tissues in which they are involved. We hypothesize that migration and differentiation of NCC in viviparous embryos might also be modified during the development of viviparous embryos. A similar pattern of early differentiation of the structures related to feeding is found in marsupials when compared to other mammals. It has been shown that the morphological heterochronic patterns are the consequences of the heterochronic migration of NCC during development: the neural crest populations that will inhabit the mandibular arch and frontonasal regions are particularly advanced relative to surrounding tissues. Another part of the project, thus, entails the analysis and characterization of the emergence and migration of neural crest cells in ovoviviparous and viviparous embryos by mean of cellular markers. These two approaches will reveal how viviparity is characterized at the histological and cellular level of organization, providing more clues on the origin and the evolutionary potential of the new reproductive strategy.

**4.4. Viviparity, genomics, and transcriptomics.** New sequencing technologies are triggering the use of comparative genomics as a new tool in ecological and evolutionary studies. Some of the techniques (e.g., transcriptomics) may be applied to non-model organisms, for which genomic information is not yet available. Following this approach, we will analyze the patterns of gene expression in ovoviviparous and viviparous embryos at a variety of developmental stages, particularly during the initial lecithotrophic embryonic stages (yolk as the only source of nutrients) and once the viviparous embryos start their active feeding. We will also compare gene expression profiles of viviparous and non-viviparous females during different reproductive stages, selecting the oviducts as targets for the comparison. Although no differences have been found with histological techniques in the oviducts of ovoviviparous and viviparous pregnant females, we hypothesize that some differences in the patterns of gene expression may relate to the evolution of viviparity, differences that could be identified with such techniques.

**4.5 Viviparity, metamorphosis, phenotypic plasticity, and environment.** It is well known, as well, that the environment may play an important role in determining alternative reproductive strategies in some amphibians (e.g., facultative paedomorphism in salamanders). The environment may also control different reproductive traits such as the length of the larval period and the size at metamorphosis; these traits are tightly related to the fitness of individuals. In

another study, we analyzed the relative influence of the environment in generating phenotypic variability in reproductive traits in *S. salamandra* (9). We set up an experimental design to analyze the relative role of genes, maternal effects, and phenotypic plasticity during the development of larvae. We raised larvae from different ovoviviparous females in four distinct environments (define by two temperature sets and two different diets) to analyze the influence of two environmental factors, temperature and nutrients, on several metamorphic traits (time to metamorphosis, size and weight at metamorphosis, growth rates). Both parameters (nutrients and temperature) influenced the development of larvae, although the amount of phenotypic variability generated depended on the initial size of the larvae (a maternal effect) more than on the larval genotype. Among other things, we found that the developmental trajectories, the growth rates, and the phenotypic responses to the four experimental environments, were rather similar across families. There was no genetic variability on the phenotypic plasticity of the system, restricting then the evolutionary potential of the reaction norms.

Ovoviviparous individuals experience three different environments during their life: the mother's oviduct as embryos, aquatic environments as larvae, and terrestrial habitats as adults. The three environments and, thus, the selective pressures are very different at these three life stages. The basic experiment designed to account for the effects of temperature and nutrients of the developmental trajectories should be further expanded, to characterize the influence of different factors during the distinct life phases, and comparing the results to viviparous forms. For instance, the hormonal regime during the development of ovoviviparous and viviparous embryos is different and has not been precisely characterized. What is the influence of maternal hormones (e.g. progesterone) on the extended intra-oviductal development of viviparous embryos? Furthermore, what are in turn the physiological implications of viviparity for the females?

## 5. FINAL REMARKS

While studying the evolution of phenotypes and adaptations, there are essential questions to ask at every level of the biological organization. Evolutionary biology is a truly multidisciplinary science that benefits from the integration of knowledge from numerous research areas. Here, we have presented some research lines undertaken to analyze the evolution of viviparity in *S. salamandra*. We analyzed how viviparity is expressed at different organizational levels (genetic, cellular, histological, morphological) to understand the mechanisms that 'generate' the character at these different levels, and how the sorting and organization of variants across levels result in the evolution of the observed reproductive phenotype. This integrative approach will highlight the evolutionary potentials and restrictions of the system studied.

This approach has now to be expanded in order to further compare the observations obtained thus far in a phylogenetic context. First, extending the approach to the other viviparous taxa will inform us about the organizational processes that have permitted the independent evolution of viviparity within the family. For example, we are now conducting a phylogenetic analysis of the



developmental sequences of species within Salamandridae to explore if the same developmental events and structures are consistently modified in all the viviparous taxa. Related comparative analyses can also be performed across salamander families. In a world where generation and sorting of variants is the norm, similar solutions have repeatedly evolved to solve very different selective challenges. These similarities (homoplasies) are pervasive in some systems, such as the reproductive modes and morphological differentiation in salamanders (10). The comparative phylogenetic analysis of processes and elements across families could show that the same elements, processes or organizational levels are recurrently modified to give rise to the different reproductive modes and morphologies in Caudata. This would, in short, reveal how the organizational properties of natural systems are consequences, but also triggers, of evolution, enlightening the hierarchical and dynamic nature of the evolutionary process.

**6. ACKNOWLEDGEMENTS** DB greatly thanks MH Wake and DB Wake for their permanent support and encouragement. Comments from M. Modrell and members of DB Wake lab and C Moritz lab have substantially improved the text. Financial support for DB came from the “Amphibian Tree of Life” grant (NSF- 0334939)

## 7. REFERENCES

1. Wake, M.H. **2008**. Organisms and organization. **Biol. Theory**, 3(3): 213-233.
2. Autumn, K. *et al.* **2002**. Integrating historical and mechanistic biology enhances the study of adaptation. **Quart. Rev. Biol.**, 77:383-408.
3. Duellman, W. E. and Trueb, L. **1986**. *Biology of Amphibians*. Mc Graw-Hill.
4. Wake, M. H. **1993**. Evolution of oviductal gestation in Amphibians. **J. Exp. Zool.**, 266: 394-413.
5. Buckley, D. and M. Alcobendas. **2002**. *Salamandra salamandra* (Linnaeus, 1758) in J. M. Pleguezuelos, R. Márquez, and M. Lizana, eds. *Atlas y Libro Rojo de los Anfibios y Reptiles de España*. Dirección General de Conservación de la Naturaleza - Asociación Herpetológica Española.
6. Dopazo, H. J. and M. Korenblum. **2000**. Viviparity in *Salamandra salamandra* (Amphibia: Salamandridae): Adaptation or exaptation? **Herpetologica**, 56:144-152.
7. García-París, M. *et al.* **2003**. Dispersal across contact zones in Iberian populations of fire salamanders (*Salamandra*) inferred from discordance of genetic and morphological traits. **Evolution**, 57:129-143.
8. Buckley, D. *et al.* **2007**. Heterochrony, cannibalism, and the evolution of viviparity in *Salamandra salamandra*. **Evol. & Develop.**, 9:105-115.
9. Alcobendas, M. *et al.* **2004**. Variability in survival, growth, and metamorphosis in the larval fire salamanders (*Salamandra salamandra*): effects of larval birth size, sibships and environment. **Herpetologica**, 60:232-245.
10. Wake, D.B. **1991**. Homoplasy: the result of natural selection, or evidence of design limitations? **Am. Nat.**, 138:543-567.

## 7. RECOMMENDED READINGS

- Alberch, P. and Blanco, M. J. **1996**. Evolutionary patterns in ontogenetic transformation: from laws to regularities. **Int. J. Dev. Biol.**, 40: 845-858.

- Müller, G. **2007**. Evo-devo: extending the evolutionary synthesis. **Nat. Rev. Gen.**, 8: 943-949.
- Valentine J. W. **2003**. Architectures of biological complexity. **Integr. Comp. Biol.**, 43: 99-103

---

## 3.2

### Especies Crípticas y Murciélagos. ¿Cuántas Especies hay en la Península Ibérica?

Javier Juste, Juan Luís García-Mudarra y Carlos Ibáñez

*Grupo de Ecología y Sistemática de Murciélagos. Departamento de Ecología Evolutiva. Estación Biológica de Doñana (C.S.I.C.). Avda. Américo Vespucio s/n 41092. Sevilla, España. [juste@ebd.csic.es](mailto:juste@ebd.csic.es)*

#### RESUMEN

Presentamos una introducción a las especies crípticas y sus orígenes, subrayando la importancia que el estudio de la diversidad genética de los organismos está teniendo para el reconocimiento de las especies crípticas; estas son: grupos de especies diferenciados evolutivamente pero sin mostrar variación morfológica. Su reconocimiento tiene importantes consecuencias tanto a nivel científico como para la estima y conservación de la biodiversidad. Concretamente entre los murciélagos ibéricos hemos detectado diferenciación críptica en el 20 % de las especies tradicionalmente conocidas, que implican el reconocimiento de al menos tres nuevas especies y otras tres nuevas subespecies para la fauna ibérica de murciélagos.

#### 1. INTRODUCCIÓN

Desde Aristóteles hasta la fecha, hemos establecido unidades taxonómicas (*especies*) como categorías conceptuales que encuadran unidades discretas de la Vida (*linajes evolutivos*). Esta abstracción se realiza a partir de la distinción de características (*caracteres diagnósticos*) en los organismos y que nos permiten diferenciar un linaje evolutivo de todos los demás conocidos. El diagnóstico se ha basado hasta hace pocos años en caracteres morfológicos que en general han funcionado extraordinariamente bien para describir la diversidad biológica. La distinción de especies como unidades discretas de la vida (y consiguientemente la estimación de la biodiversidad) está condicionada por la capacidad o sensibilidad del observador para valorar o distinguir esos caracteres que identifican las especies como entidades únicas y reconocibles. No es de extrañar por lo tanto, que con la aparición de nuevas técnicas de análisis (p.e. citogenética) se hayan podido diferenciar linajes a nivel de especie que permanecían desapercibidos dentro de un grupo de organismos con el mismo aspecto externo. De esta forma aparece el concepto de *especies crípticas* las cuales se pueden definir como: dos o más especies previamente consideradas como una sola debido a su similitud morfológica. Estas especies serán *especies gemelas* si, además de ser morfológicamente indistinguibles, evolutivamente están estrechamente relacionadas, lo cual no es necesariamente cierto en todos los casos.

Con el desarrollo de la Biología Molecular, y en especial a partir de la difusión de las técnicas de amplificación de ADN por PCR, se ha puesto a disposición de los investigadores una enorme cantidad de nuevos caracteres (*nucleótidos*) cuyo estudio secuencial permite reconocer, comparar, distinguir y cuantificar diferencias a todas las escalas de la diversidad biológica, incluido el nivel de especie. Muchas veces por casualidad o como resultado colateral de otros intereses científicos, el estudio comparado de secuencias de ADN ha puesto en evidencia la presencia de linajes diferenciados con evolución independiente en todos los grupos de organismos (1). Esta herramienta ha permitido además cuantificar el grado de divergencia genética entre linajes y establecer los umbrales de diferenciación para especies próximas. El ritmo de la evolución genómica difiere enormemente entre organismos (debido a sus historias de vida, sistema reproductor, etc.), por ello los umbrales de diferenciación específica difieren también enormemente, no solo entre grupos sino a veces entre familias de un mismo grupo y entre genes dentro de un mismo organismo. Aún así, se puede llegar a inferir la presencia de aislamiento reproductor y evolución independiente entre dos linajes a partir del grado de diferenciación genética entre ellos, y en una aplicación práctica del concepto genético de especie, usar la variación genética para reconocer especies crípticas. Para ello, la magnitud de divergencia requerida para la distinción de dos linajes a nivel específico tiene que ser calibrada para cada grupo y marcador. La interpretación de las distancias genéticas no es un proceso simple y directo, y dada las grandes fluctuaciones naturales que sufre esta variación, el estudio comparado de la diferenciación proporciona en numerosas ocasiones hipótesis de partida que requiere estudios de confirmación. La comparación molecular ha proporcionado además una potente herramienta para el estudio jerárquico de las relaciones evolutivas (*recomposición filogenética*) entre taxones, generando nuevas definiciones de especie (p.e. *concepto genealógico*) de gran utilidad práctica en taxonomía. La diferenciación molecular no puede ser entendida como sustituta de la taxonomía clásica morfológica, sino más bien como su potente complemento. De hecho y una vez identificados linajes putativamente específicos, es importante proseguir con la búsqueda de caracteres diagnóstico a posteriori -idealmente morfológicos- pero también etológicos o ecológicos que definan estos linajes moleculares y que ayuden tanto a su descripción tradicional taxonómica como a la identificación práctica de las nuevas especies.

El reconocimiento de especies crípticas tiene importantes implicaciones tanto a nivel puramente científico como en las estimas de la biodiversidad, y en la gestión y conservación del medio natural. Son numerosos los estudios ecológicos cuyas conclusiones quedan en entredicho ya que sus especies objeto sabemos ahora corresponden a complejos de especies. Por otro lado el reconocimiento de especies crípticas ha servido para identificar nuevas áreas geográficas sobresalientes por su diversidad (2) o alertar sobre especies amenazadas que han pasado a estar más amenazadas todavía y con distribuciones más restringidas como es el caso de algunos murciélagos.

Durante la especiación críptica se produce un proceso de diferenciación evolutiva (*cladogenésis*) en un marco de continuidad (*estasis*) morfológica (3). Existe un vivo debate sobre las causas de este conservadurismo morfológico durante la especiación que se ha asociado, bien a sistemas reproductores

basados principalmente en relaciones no-visuales, como a la existencia de fuertes presiones selectivas estabilizadoras. Apoyan el primer caso numerosas especies crípticas de insectos, anfibios o murciélagos que manteniendo una misma morfología sí se diferencian claramente en sus señales acústicas o señales químicas. Por otro lado, fuertes presiones de selección en ambientes extremos podrían estar limitando las posibilidades de variación morfológica, mientras que presiones de selección direccionales en caracteres sin reflejo en la morfología (p.e. bioquímicos, de comportamiento o ecológicos), podrían también conducir a procesos de especiación críptica. Estos procesos pueden ser antiguos y por lo tanto especiación críptica no es sinónimo de diferenciación reciente.

La presencia de especies crípticas se ha confirmado en hongos, plantas y animales y concretamente en todos los grupos de metazoos estudiados. Además parece que no existe un sólo y único proceso determinante de especiación críptica ya que ésta aparece en organismos con todo tipo de mecanismos reproductivos y en todos los ambientes. De hecho, la proporción de especies crípticas parece similar en todos los grandes biomas, una vez corregido el número de especies crípticas por el esfuerzo de estudio (1). Aunque a escala mas fina es posible que ambientes de máxima riqueza de biodiversidad (e.j. arrecifes coralinos y/o bosques tropicales) sean propicios a especiación críptica ya que muchos de los organismos que conforman esos ecosistemas están conectados por estrechas interacciones interespecíficas, muchas a nivel bioquímico (ej. fitófagos exclusivos) en los cuales pequeños cambios, sin afectar a la morfología pueden tener consecuencias evolutivas de gran importancia (3). Por otro lado, parece que la proporción de especies crípticas muestra una distribución homogénea a lo largo de los grupos taxonómicos, una vez tenidas en cuenta las diferencias en intensidad de esfuerzo prestado a cada uno de ellos. De hecho, el número de especies crípticas conocidas parece directamente proporcional al número de especies descritas dentro de cada grupo, independientemente del grupo considerado (1). Por lo tanto, y contrariamente a lo intuitivamente esperado, parece que no existen mas especies crípticas entre insectos que entre reptiles ni en los trópicos más que en zonas templadas.

Los murciélagos constituyen un grupo de mamíferos a priori muy interesante para el estudio de especiación críptica: frente a su relativamente grande diversificación (más de 1100 especies) y ubicuidad, presentan importantes constricciones para su evolución morfológica relacionadas con sus necesidades de vuelo y el uso de la ecolocación (análisis de los ecos de sonidos de alta frecuencia emitidos para comunicarse con sus co-específicos así como para orientarse y buscar alimento). Entre los murciélagos europeos, a los que nos restringimos en este estudio, la incorporación de nuevos caracteres morfológicos como el hueso peneal (*báculo*) llevó a reconocer a finales de los sesenta dos nuevas especies: *Myotis brandti* y *Plecotus austriacus* identificadas como especies crípticas de *Myotis mystacinus* y *Plecotus auritus* respectivamente (4). Sin embargo el caso más sorprendente lo constituyó el hallazgo dentro de la especie más común y estudiada de Europa, el *Pipistrellus pipistrellus*, de dos fonotipos diferenciados (45 y 55 kHz) en la misma localidad. Estudios posteriores con ADN mitocondrial (*ADNmt*) (5)

confirmaron que estos fonotipos correspondían en realidad a dos especies crípticas bien diferenciadas y simpátricas en muchas partes de Europa.

Entre los murciélagos la calibración de las distancias genéticas (6) se ha realizado para el gen de ADNmt citocromo b (*cytb*), gen que ha demostrado presentar en su delimitación específica, niveles de congruencia muy altos con la taxonomía tradicional morfológica (7) y utilizando un modelo evolutivo concreto (K2P). La variación media correspondiente al nivel de especie en murciélagos alcanza el 8 % para especies gemelas y el 11.5% entre especies dentro de un mismo género (6). Estos valores nos proporcionan una 'regla' con la que interpretar las distancias genéticas entre linajes. Sin embargo, el amplio intervalo de variación encontrado para los citados valores, corrobora la necesidad de cautela a la hora de establecer inferencias que han de ser confirmadas con otros marcadores y/o otro tipo de caracteres de historia de vida o ecológicos. En la primera evaluación con marcadores moleculares realizada a nivel europeo aparecieron dos especies nuevas para la ciencia (*Myotis alcathoe* y *Plecotus macrobullaris*), crípticas de *M. mystacinus* y *P. auritus*, pero el estudio tenía pobre representación de Iberia.

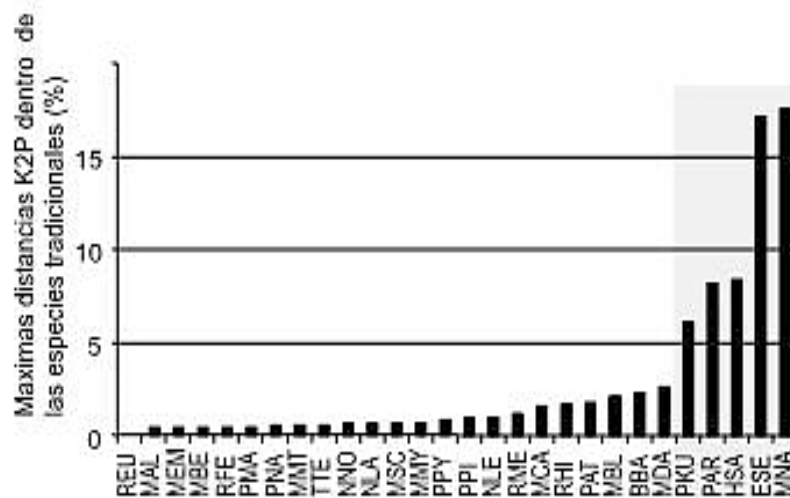
## 2. OBJETIVOS

Como parte de un estudio general del papel del estrecho de Gibraltar como barrera geográfica para los murciélagos, nuestro grupo decidió caracterizar genéticamente en primer lugar las poblaciones ibéricas de murciélagos. Para ello se realizó un muestreo diseñado para evaluar la variación genética intraespecífica de las 26 especies conocidas para la península con la reciente incorporación de *P. pygmaeus*. Para cada una de las especie se compararon secuencias de un fragmento de ADNmt del *cytb* dos a dos entre individuos de 4 poblaciones cubriendo idealmente la máxima amplitud geográfica. Se utilizaron además secuencias de otros puntos de Europa usadas como referencia.

## 3. RESULTADOS

Un primer resultado de esta comparación fue el hallazgo en el norte de la península de dos de las especies crípticas que habían sido recientemente descritas en los Balcanes (*Plecotus macrobullaris* y *Myotis alcathoe*) y consideradas endémicas para esa zona. Además, se comprobó la existencia de un número de especies de murciélagos relativamente elevado que presentaban discontinuidades genéticas importantes dentro de lo que se consideraban especies bien definidas (Fig.1).

Los cinco complejos específicos que mostraron distancias genéticas máximas intraespecíficas superiores al 5% se estudiaron en más profundidad. Para ello, y para cada complejo, se amplió el número de muestras y de localidades y se secuenciaron otros fragmentos de ADN, concretamente del gen NADH deshidrogenasa 1 (*ND1*) y del gen nuclear de activación de la recombinación 2 (*RAG-2*). Con las secuencias obtenidas y para cada fragmento, se realizaron recomposiciones filogenéticas con distintos criterios.



**Figura1.** Distribución de los valores máximos de distancia genética K2P en el citocromo b para cada una de las especies de murciélagos de la península Ibérica. En sombreado el corte de las 5 especies con distancias > 5 % (ver texto). Modificado de Ibáñez et al. 2006

**3.1. Complejo *Myotis nattereri*.** Este complejo está compuesto por tres linajes bien diferenciados en todos los marcadores (Fig. 2) y con distancias K2P en el *cytb* que superan el 10%. El linaje más diferenciado ocupa gran parte de la península Ibérica y muestra algunas peculiaridades morfológicas como son una franja de pelos característica en el borde del uropatagio diferenciada del resto de linajes de este complejo. Este linaje tiene costumbres principalmente cavernícolas frente a los hábitos forestales que típicamente muestra la especie nominal. Estas diferencias morfológicas, moleculares y ecológicas apoyan su reconocimiento como una nueva especie de la fauna ibérica, bien definida, y a la que corresponde el nombre de *Myotis escalerae* Cabrera, 1904 con localidad típica en Foyos, Valencia. Los otros dos linajes están evolutivamente más relacionados entre sí, a pesar de mantener un nivel importante de diferenciación genética (9%). Hasta el momento no se han encontrado diferencias morfológicas entre ellos y ambos presentan costumbres arborícolas. Un linaje está presente por toda Europa desde Grecia, Suiza y Alemania hasta Hungría (aparentemente sin entrar en la península Ibérica) y corresponde claramente a la forma nominal *M. nattereri* (Kuhl, 1817) con localidad típica en Hessen, Hanau (Alemania). El otro linaje se ha localizado en bosques húmedos de las montañas de la mitad norte de la península en donde entra en contacto ocasionalmente con *M. escalerae*. Este mismo linaje se ha encontrado recientemente también en Austria e Italia. El grado de diferenciación molecular respecto al 'verdadero' *M. nattereri* indica que muy probablemente se trate de una especie nueva aún por describir, pero conviene ser cautos hasta que se conozca más sobre su morfología y ecología.

**3.2. Complejo *Eptesicus serotinus*.** Este complejo incluye dos linajes muy diferenciados con distancias genéticas que superan el 16% en el *cytb* y evidenciados por todos los marcadores moleculares (Fig. 2). Uno de los linajes ocupa el tercio sur de la península Ibérica mientras que el otro se extiende por el resto de Europa, incluyendo los tercios centro y norte de la península. No se conoce con precisión el límite entre los dos linajes y puede haber una zona más o menos ancha de contacto. El linaje del sur se extiende también al otro lado del estrecho de Gibraltar (8). Además de la diferenciación molecular, estos linajes muestran diferencias claras en la coloración del pelaje: pálida y pajiza la una ('sureño') y marrón intenso el otro ('norteño'). Nuevamente, no hay dudas para reclamar su consideración taxonómica a nivel específico, cuya denominación en este caso corresponde a *Eptesicus isabellinus* (Temminck, 1839) con tierra típica en Trípoli, (Libia). Curiosamente, esta nueva especie para Iberia es uno de los murciélagos más abundantes en muchas zonas de Andalucía. El otro linaje corresponde al 'verdadero' *Eptesicus serotinus* (Schreber, 1774) con localidad típica en Francia. La especie *E. isabellinus* ha aparecido de momento en toda Andalucía, parte de Extremadura y Castilla La Mancha (Ciudad Real), mientras que *E. serotinus* se ha encontrado en parte de Extremadura, Castellón, Guadalajara, Valladolid, Aragón, La Rioja, País Vasco e islas Baleares.

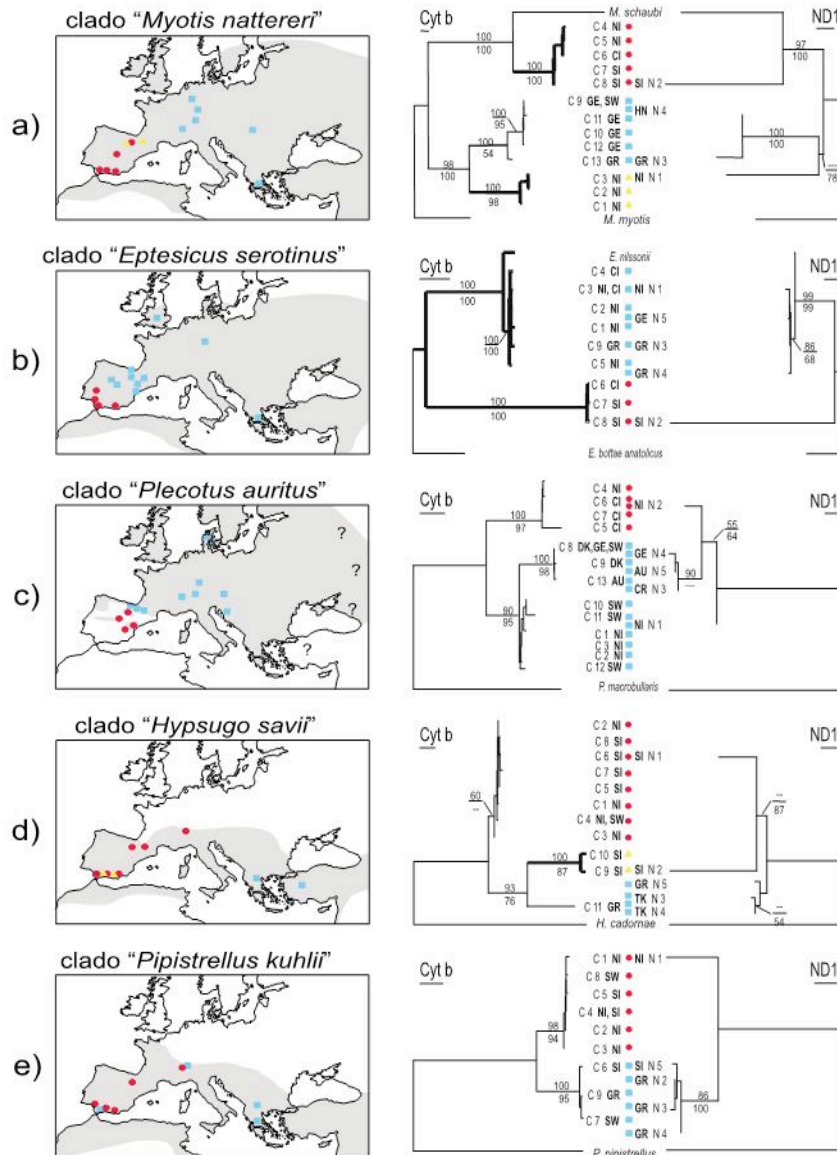
**3.3. Complejo *Plecotus auritus*** Este complejo presenta dos linajes principales en Iberia (Fig. 2). Uno aparece en Pirineos y País Vasco y se extiende por el resto de Europa, es el correspondiente a la especie *P. auritus* (Linnaeus, 1758) con localidad típica 'Suecia'. El otro linaje se distribuye por todo el Sistema Ibérico y Sistema Central en general por encima de 1000 metros. La distancia K2P entre ambos linajes alcanza el 8% en el *cytb*. Este linaje se diferencia morfológicamente del anterior y se ha descrito recientemente como subespecie *P. a. begognae* de Paz, 1994 para las montañas del centro peninsular. *P. begognae* debe ser considerada una especie válida, opinión mantenida por varios autores (9), aunque está pendiente su confirmación con estudios más detallados sobre la distribución y genética de ambos orejados en especial en posibles zonas de contacto como la cornisa cantábrica.

**3.4. Complejo *Hypsugo savii*.** El complejo *Hypsugo savii* presenta tres linajes en el continente europeo (Fig. 2) que se diferencian bien con los marcadores mitocondriales (sobre un 7% de distancia K2P en el *cytb*) aunque el marcador nuclear presenta poca resolución a este nivel. Un linaje aparece solo en los Balcanes y Turquía, otro en Europa Occidental, desde Suiza a la península Ibérica y el tercero que está presente solo en Andalucía, en simpatria con el anterior aunque en muy baja densidad. Este último linaje se extiende por el norte de África y es posible que su presencia en Iberia sea fruto de una expansión reciente.

A la espera de estudios con más muestras que cubran toda el área de distribución es aconsejable considerar a estos linajes como subespecies de *Hypsugo savii*. La localidad típica de *H. savii* es Pisa (Italia) y se desconoce cual es el linaje de esa zona que es al que daría nombre (el de los Balcanes o el de Europa Occidental). La otra subespecie europea estaría por describir y la



del norte de África y parte de Andalucía pudiera corresponder a *H. s. darwinii* Tomes, 1859 con localidad típica en Canarias.



**Figura 2.** Relaciones filogenéticas (basadas en fragmentos de ADNmt de los genes *cytb* y *ND1*) y distribución de los linajes principales hallados en los 5 complejos de murciélagos con diferenciación importante (>5%) dentro de la península Ibérica. Los árboles mostrados resultan de reconstrucciones por NJ y criterios de Mínima Evolución con modelos evolutivos ajustados para cada análisis. En negrita se resaltan los linajes apoyados también por el gen nuclear *RAG-2*. El sombreado indica la distribución aproximada del complejo específico. Modificado de Ibáñez et al. 2006

**3.5. Complejo *Pipistrellus kuhlii*.** Este complejo está compuesto por dos linajes (Fig. 2). Uno ocupa Europa Occidental desde Suiza hasta Iberia y el otro se extiende por la mitad este de Europa desde Grecia hasta Suiza y todo el norte de África. Este último linaje se encuentra de forma puntual en Andalucía. La diferencia entre ambos linajes es la menor de los casos considerados (un 6% de distancia K2P en el *cytb*) y no es detectada por el marcador nuclear. Nuevamente se necesitan estudios detallados principalmente en las zonas de contacto, tentativamente consideramos a ambos linajes como subespecies. La localidad típica de *P. kuhlii* (Kuhl, 1817) es Friuli-Venezia Giulia, Trieste (Italia) y podría corresponder a cualquiera de los dos linajes como subespecie nominal. El otro linaje está por describir. Resumiendo, estos resultados implican que 5 de las especies tradicionales de murciélagos ibéricos presentan procesos de diferenciación críptica, en diverso grado de magnitud. Ello supone más diversidad críptica de la hallada por ahora en toda Europa (10). Además, otras especies -p.e. *M. daubentonii* (Kuhl 1817)- muestran niveles importantes, aunque menores, de diferenciación y estructuración genética que necesitan ser evaluados.

#### 4. CONCLUSIONES

Los estudios de diferenciación genética están poniendo en evidencia la importancia y generalización en la Naturaleza de los procesos de especiación con estasis morfológica o especiación críptica. Los murciélagos ibéricos presentan linajes diferenciados a nivel genético en más del 20 % de las especies tradicionales. La magnitud de la diferenciación sugiere que la mayoría de los linajes se remontan a finales del Terciario o Plioceno. Estos linajes corresponden a diversas especies y subespecies nuevas para la fauna ibérica y algunos de ellos constituyen taxones todavía no conocidos para la ciencia que urge describir. Los linajes más diferenciados parece que presentan distribución alopátrida o segregación ecológica mientras que esta distinción es menos clara en los linajes menos diferenciados. Además, los nuevos linajes específicos no parecen corresponder a especies gemelas ya que no se ordenan en grupos hermanos. En cualquier caso, urge profundizar en la distribución, relaciones evolutivas y requerimientos ecológicos de estos nuevos taxones. Solamente a partir de estos conocimientos será posible establecer estrategias de conservación adecuadas. Finalmente, Los resultados obtenidos subrayan la importancia de la contribución del Mediterráneo Occidental y del refugio ibérico en particular, a la diversidad de murciélagos de Europa.

**5. AGRADECIMIENTOS** A todos los amigos y compañeros, especialmente de la Sociedad Española para el Estudio de los Murciélagos (SECEMU), por su contribución fundamental a los muestreos. A Juan Quetglas y Manuela G. Forero por sus comentarios al borrador.

## 6. REFERENCIAS

1. Pfenninger, M. and Schwenk, K. **2007**. Cryptic animal species are homogeneously distributed among taxa and biogeographical regions. *BMC Evolutionary Biology* 7:121
2. Brayan L. et al. **2006**. High level of cryptic species diversity revealed by sympatric lineages of Southeast Asian forest frogs *Biology Letters*, 2. 470–474.
3. Bickford, D. et al. **2006**. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, 22. 148-155.
4. Topal G. **1958**. Morphological studies on the os penis of bats in the carpatian Basin. *Annales Historico-Naturae Musei Nationalis Hungarici*, 50 (N.S. 9):331-342.
5. Barratt, E.M. et al. **1997**. DNA answers the call of pipistrelle bat species. *Nature* 387. 138-139.
6. Bradley, R.D. and Baker, R.J. **2001**. A test of the genetic species concept: Cytochrome-b sequences and mammals. *Journal of Mammalogy* 82. 960–973.
7. Avise, J.C. and Walker, D. **1999**. Species realities and numbers in sexual vertebrates: perspectives from an asexually transmitted genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 96:992–995.
8. Juste et al. **2009**. mtDNA signatures at different spatial scales: from the effects of the Strait of Gibraltar to population structure in the meridional serotine bat (*Eptesicus isabellinus*). *Heredity*, 103: 178-187.
9. Juste et al. **2004**. Mitochondrial phylogeography of the long-eared bats (*Plecotus*) in the Mediterranean Palaeartic and Atlantic Islands *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 31: 1114-1126.
10. Mayer, F. et al. **2007**. Molecular species identification boosts bat diversity. *Frontiers in Zoology*, 4:4 doi:10.1186/1742-9994-4-4

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Mayer, F. & von Helversen, O. **2001** Cryptic diversity in European bats. *Proceeding of the Royal Society of London. B* 268, 1825-1832.
- Ibáñez C. et al. **2006**. The Iberian contribution to cryptic diversity in European bats *Acta Chiropterologica* 8, 277–297.
- García-Mudarra, J.L. et al. **2008**. The Straits of Gibraltar: barrier or bridge to Ibero-Moroccan bat diversity? *Biological Journal of the Linnean Society*. 96, 434-450.

---

# 3.3

## Historia Evolutiva de la Abeja Ibérica

**Pilar De la Rúa, Irene Muñoz, Ana Piñero, Raquel Hernández-García, Fernando Cánovas, José Galián y José Serrano**

*Área de Biología Animal, Dpto. de Zoología y Antropología Física, Facultad de Veterinaria, Campus de Espinardo, Universidad de Murcia, 30100 Murcia (España)*

### RESUMEN

Presentamos en este trabajo los datos más recientes sobre la distribución de linajes y sublinajes mitocondriales en las poblaciones de abejas ibéricas. Estos resultados se discuten en relación con las últimas hipótesis planteadas sobre el origen y la evolución de la abeja de la miel de la Península Ibérica, *Apis mellifera iberiensis*. La evolución de esta subespecie está determinada por eventos ocurridos después de la última glaciación y otros más actuales derivados del manejo apícola tales como la trashumancia y la compra de abejas reinas.

### 1. INTRODUCCIÓN

La abeja de la miel *Apis mellifera* es el insecto más beneficioso del mundo ya que además de producir miel, poliniza cultivos por valor de millones de euros al año. Fue descrita por Linneo en 1758, y debido a su notable variación geográfica, se han descrito numerosas entidades taxonómicas reconocidas como subespecies. En el último catálogo publicado sobre la taxonomía del género se detallan un total de 29 subespecies (1) cuya distribución natural abarca África y la región Paleártica occidental. Las razas geográficas de *A. mellifera* son alopátricas y producen híbridos totalmente fértiles. Los numerosos eventos de hibridación documentados en la abeja de la miel (2) indican que incluso las subespecies que ocupan áreas de distribución más alejadas pertenecen a la misma especie.

Su historia evolutiva presenta una complejidad notable debido a la intervención tanto de factores naturales como de otros antrópicos. Aunque el género *Apis* se diversificó durante el Mioceno tardío en el sudeste asiático y el subcontinente indio, *A. mellifera* se originó en África hace unos dos millones de años según datos moleculares recientes (3). Desde allí se dispersó por Europa y el Medio Oriente mediante sucesivas colonizaciones que generaron hasta cinco linajes evolutivos (A, M, C, O, e Y). Hacia Eurasia ocurrieron al menos dos expansiones: una de ellas colonizó Europa occidental (linaje M) a través de las penínsulas Ibérica e Italiana, y otras en dirección este habrían colonizado Asia y Europa del Este (linajes O y C). Estos linajes han sido caracterizados mediante estudios fisiológicos, etológicos, ecológicos, morfométricos y

moleculares (4). Cuatro de ellos se encuentran de forma natural en la cuenca mediterránea: el linaje africano (A), el linaje de Europa occidental y del norte (M), el linaje de Europa oriental (C) y el linaje de Oriente Medio (O).

La subespecie que habita la Península Ibérica es *A. m. iberiensis* Engel 1999 antes conocida como *A. m. iberica* Goetze 1964. Los primeros estudios basados en la morfometría y en el comportamiento (1) constataron la existencia de un gradiente de distribución norte-sur siendo las abejas del norte peninsular más parecidas a las europeas septentrionales y las del sur a las africanas. Estudios posteriores basados en enzimas, feromonas, ADN mitocondrial y microsatélites (4) apoyan la hipótesis de que las abejas ibéricas son el resultado de una amplia intergradación entre abejas del linaje M que sobrevivieron al último máximo glacial y abejas norteafricanas del linaje A que recolonizaron el suroeste europeo. Esta hipótesis asume que poblaciones de abejas del linaje M sobrevivieron a la última glaciación en diferentes refugios en la Península Ibérica y que realizaron una expansión colonizadora hacia el norte en la última era postglacial. Además en el mismo periodo de tiempo debieron ocurrir diferentes oleadas de colonización de abejas procedentes de África (linaje A). La hibridación entre abejas de ambos linajes habría dado lugar a la distribución clinal de poblaciones de los linajes A y M, la cual es gradual en el este peninsular y más abrupta en el noroeste.

La historia evolutiva de *A. mellifera* en la Península Ibérica ha estado probablemente influida en épocas recientes por las técnicas apícolas. En este sentido la práctica intensiva de la trashumancia en las últimas décadas (que afecta ya al 80% de las colonias), la pérdida masiva de colmenas por varroosis y otras patologías, y la compraventa de colmenas a escala trans-regional están cambiando de forma acelerada la citada distribución clinal.

Uno de los marcadores moleculares más ampliamente usado en estudios sobre la biogeografía de las poblaciones y subespecies de *A. mellifera* es el cromosoma mitocondrial (ADNmt). Esta molécula tiene herencia materna, y en el caso de la abeja de la miel, todos los miembros de una colmena (obreras y zánganos) comparten el mismo ADNmt heredado de la reina, de forma que estudiando sólo un individuo se obtiene información al nivel de colmena. Además su análisis proporciona información sobre eventos evolutivos del pasado.

En el caso de *A. mellifera* existe una región en el ADNmt localizada entre el ARN transferente de la leucina (ARN<sup>t<sup>leu</sup></sup>) y la subunidad dos del gen de la citocromo oxidasa (cox2), que presenta unas características que la hacen particularmente útil para los estudios evolutivos. En concreto presenta dos tipos de secuencias, una denominada P (con 67 pb) que puede aparecer con una delección de 12 pb (P<sub>0</sub> o P<sub>1</sub>) o estar ausente, y otra denominada Q que puede aparecer repetida en tándem hasta cuatro veces. Además la variabilidad en la secuencia de esta región intergénica permite realizar experimentos de polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción (RFLP son sus siglas en inglés) que caracterizan distintos haplotipos según su patrón de RFLP. Los distintos linajes definidos morfométricamente se caracterizan por la presencia de un tipo de secuencia P, de forma que las subespecies que forman el linaje O y el linaje africano poseen la secuencia de tipo P<sub>0</sub> o P<sub>1</sub> en aquellas poblaciones africanas con distribución atlántica, las del linaje M tienen una secuencia de tipo P y las del linaje C no presentan este tipo de secuencia y tan solo tienen una

copia de la secuencia de tipo Q. En los linajes O, M y A la secuencia de tipo Q puede aparecer repetida en tándem hasta cuatro veces.

Recientemente se ha publicado un estudio sobre el flujo de genes del linaje M, en concreto entre *A. m. mellifera* y *A. m. iberiensis* (5). Estos autores analizaron el ADNmt y nuclear de 27 poblaciones de abejas en la Península Ibérica, Francia y Bélgica. Respecto al ADN nuclear, analizaron 10 *loci* de microsatélites. Estos marcadores son *loci* polimórficos presentes en el ADN nuclear; consistentes en repeticiones de 1 a 6 nucleótidos en tándem con una alta tasa de mutación y que son utilizados como marcadores moleculares en una gran variedad de aplicaciones en el campo de la genética de poblaciones. Según el resultado del análisis de estos marcadores, los Pirineos presentan una barrera natural para el flujo de genes, mientras que los resultados del análisis del ADNmt apoyan la hipótesis de que la Península Ibérica fue un refugio durante la última glaciación para las abejas del oeste de Europa. Estos datos sugieren que durante el periodo interglacial en el que nos hallamos hubo una ruta principal de migración desde los refugios del norte de la península hacia Europa occidental pasando por los Pirineos occidentales. En este estudio se pusieron de manifiesto los factores más importantes que están interactuando para generar la diferenciación entre *A. m. mellifera* y *A. m. iberiensis*: la barrera que suponen los Pirineos al flujo génico entre poblaciones, el aislamiento por distancia y la expansión de las poblaciones ibéricas hacia Escandinavia y Europa central, conforme las condiciones climáticas iban siendo favorables.

Con el mismo tipo de análisis del ADNmt, Cánovas et al. (6) realizaron un análisis de la distribución de los haplotipos mitocondriales de *A. m. iberiensis* en la Península Ibérica con respecto a una nueva división del linaje evolutivo africano en “sublinajes”, anteriormente desarrollada en trabajos realizados por Franck et al. (7). En dicho trabajo se establecieron tres sublinajes africanos según la distribución y frecuencia de los diferentes haplotipos presentes en el continente africano y el europeo, de forma que el sublinaje AI se distribuye mayoritariamente en la Península Ibérica, el AII en el Norte de África, principalmente Marruecos mientras que el AIII tiene distribución atlántica, comprendiendo la región macaronésica y la costa atlántica de la Península Ibérica.

El extenso muestreo realizado en este trabajo permitió corroborar hipótesis previas acerca de la variación clinal de los linajes evolutivos africano (A) y europeo occidental (M). En las 1021 colonias muestreadas se observaron un total de 22 haplotipos (12 del linaje M y 10 del linaje A), la frecuencia de los cuales muestra que los haplotipos A disminuyen siguiendo una tendencia SO-NE mientras que los M aumentan. Los resultados apoyan la hipótesis de un origen africano de *A. mellifera* y una colonización temprana de Europa occidental aprovechando los periodos interglaciares más cálidos del Pleistoceno, seguido de una diferenciación regional, posiblemente en refugios, durante los periodos más fríos. La distribución de los haplotipos parece estar influida al nivel regional por la adaptación a condiciones climáticas locales y por prácticas apícolas, tal y como se ha mencionado con anterioridad.

## 2. OBJETIVOS

Vamos a ilustrar el enfoque y el desarrollo de los trabajos ya realizados sobre la caracterización genética de las poblaciones peninsulares de abejas domésticas, detallando la investigación que está ahora mismo en curso sobre la distribución de los linajes evolutivos M y A (incluyendo sus distintos sublinajes) en poblaciones occidentales de *A. m. iberiensis*. El transecto que va desde Asturias hasta Huelva es de los menos estudiados hasta la fecha y su análisis es necesario para completar la visión de conjunto de toda la Península, al tiempo que contrastamos algunas hipótesis, como la que predice que el cambio de distribución de los linajes será brusco entre Asturias y León, debido a la barrera que supone el Macizo Asturiano al flujo génico con las poblaciones de la submeseta norte.

## 3. RESULTADOS

**3.1. Distribución de los haplotipos mitocondriales.** Se ha analizado la variabilidad de la región intergénica ARN<sup>leu</sup>-cox2 mediante PCR-RFLP de una abeja obrera de al menos una colmena de ocho apiarios de Asturias, seis de León, seis de Zamora, ocho de Salamanca, nueve de Cáceres, siete de Badajoz y siete de Huelva.

Se han detectado un total de 16 haplotipos, ocho de ellos pertenecen al linaje A (A1, A2, A3, A8, A9, A10, A11 y A16), siete al M (M4, M4', M4'', M6, M7, M12 y M38) y uno al linaje oriental C (C1). Todos estos haplotipos han sido descritos anteriormente excepto M38 que presenta un patrón de restricción nuevo. La diversidad de haplotipos hallada corrobora la alta diversidad mitocondrial existente en la Península Ibérica. La mitad de ellos pertenece al linaje A siendo el haplotipo A2 el más común. Este haplotipo está ampliamente distribuido en toda la península (5, 6) excepto en Galicia (6). En cuanto a los haplotipos del linaje M, se ha encontrado más frecuentemente el M4 que es el más habitual en las colonias de abeja ibérica pertenecientes a dicho linaje y en otras poblaciones europeas (2, 5). Este haplotipo es quizás ancestral dada su amplia distribución y la alta frecuencia con que se encuentra en poblaciones ibéricas y francesas. La presencia de muestras incluidas en el linaje evolutivo C demuestra la introducción de reinas de abejas probablemente italianas, por parte de los apicultores.

**3.2. Distribución de los linajes evolutivos.** Hemos encontrado tres de los cinco linajes evolutivos descritos en *A. mellifera*: el 61,67% del total de las colmenas analizadas pertenecen al linaje Africano A, el 36,67% al linaje Europeo Occidental M y sólo un 1,67% pertenece al linaje Oriental C.

De norte a sur, se ha observado que en las provincias de Asturias y de León, el porcentaje de colmenas que pertenecen al linaje M es del 80% y del 85,71% respectivamente. En Zamora este linaje no se ha encontrado en ninguna colmena, pero sí que se ha observado que el 10% de las colonias analizadas pertenece al linaje europeo oriental C. En Salamanca el 33,33% de las colonias analizadas pertenecen al linaje M, mientras que en Cáceres dicho porcentaje es del 20%; en Badajoz hay un ligero incremento de colonias del

linaje M (33,33%) que disminuye hasta el 12,5% en Huelva. La frecuencia de colmenas pertenecientes al linaje africano es inversamente proporcional a lo anteriormente descrito (Tabla 1).

Provincia	Sublinajes			Linajes			N
	AI	AII	AIII	A	M	C	
Asturias	2			2	8		10
León	1			1	6		7
Zamora	5	1	3	9		1	10
Salamanca	3	3		6	3		9
Cáceres	4	4		8	2		10
Badajoz	4			4	2		6
Huelva	2		5	7	1		8

**Tabla 1. Distribución de sublinajes africanos y linajes evolutivos A, M y C en las provincias muestreadas.** Se muestra el número de colmenas que pertenecen a cada tipo así como el número total (N) de colmenas muestreadas en cada provincia.

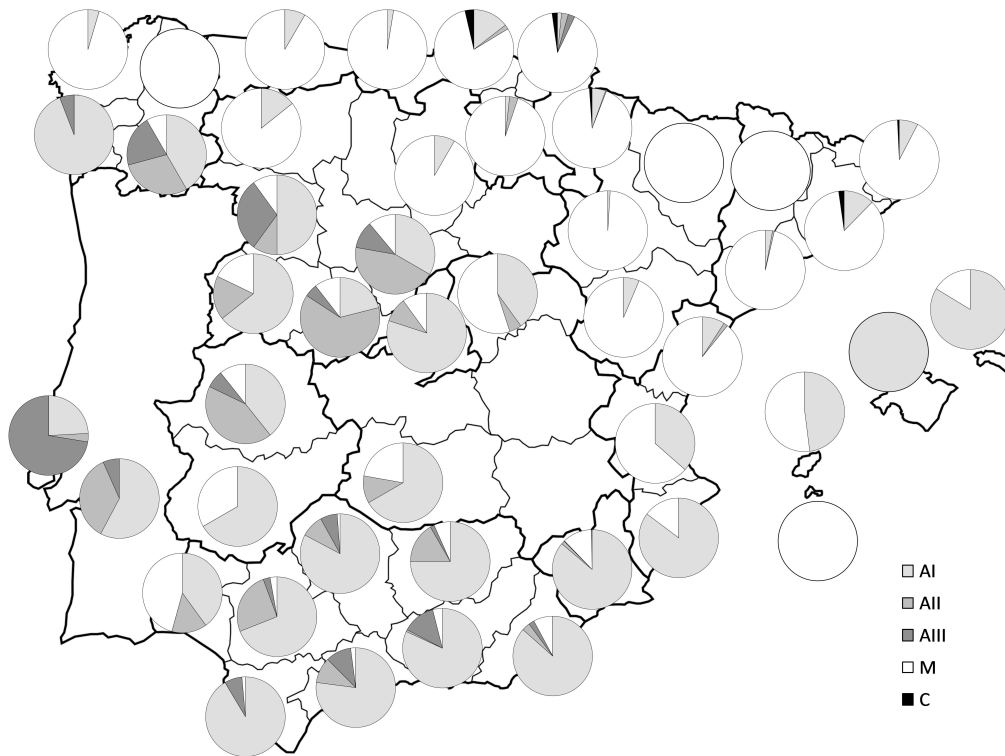
**3.3. Distribución de los sublinajes africanos.** Los haplotipos africanos observados en la Península Ibérica corresponden a tres sublinajes: el sublinaje AI se ha encontrado con mayor frecuencia (56,76%). Se ha detectado en todas las provincias analizadas, variando su frecuencia entre el 66,67% observado en Zamora y el 14,28% observado en León. El sublinaje AII se ha encontrado en Huelva (62,5%), Cáceres (40%), Salamanca (33,33%) y Zamora (10%). El sublinaje AIII se ha detectado únicamente en el 30% de las colmenas analizadas de Zamora (Tabla 1).

**3.4. Distribución de los linajes y sublinajes evolutivos en la Península Ibérica.** Estos resultados han sido incluidos en el mapa de distribución de linajes y sublinajes publicado por Cánovas et al. (6) junto con los resultados publicados por Miguel et al. (5) para tener un mapa que incluya el mayor número de datos posible (Figura 1).

Se observa que la distribución por provincias de los linajes evolutivos forma una cline con dirección NO-SE, ocurriendo el re-emplazamiento de los linajes de una forma brusca en Galicia y más gradual en las provincias mediterráneas.

El sublinaje africano AI es el más abundante de los tres detectados, apareciendo incluso en provincias del norte peninsular aunque con una frecuencia muy baja. El sublinaje AII se ha detectado con una frecuencia relativamente baja excepto en algunas provincias del centro occidental de la península. Por último el sublinaje AIII presenta una frecuencia muy baja excepto en Zamora y Orense y Lisboa en Portugal.





**Figura 1. Distribución de linajes evolutivos A, M y C y sublinajes A en la Península Ibérica.** Se muestran los diagramas de sectores de frecuencias de los sublinajes A y los linajes evolutivos A, M y C en las colmenas de *A. m. iberiensis* muestreadas en cada provincia.

#### 4. CONCLUSIONES

Los datos obtenidos en este trabajo confirman que el gradiente de distribución SO-NE de haplotipos a escala peninsular, también existe en el transecto estudiado, ya que los haplotipos del linaje A son más frecuentes en las provincias muestreadas hacia la mitad sur y su frecuencia disminuye hacia el norte, de forma que los haplotipos del linaje M son mayoritarios en las provincias de Asturias y León. Se ha corroborado la hipótesis de este trabajo ya que la frecuencia de A y M varía bruscamente (en pocos kilómetros) de León a Zamora, tal y como se halló en Galicia (6). Sin embargo, tal cambio no puede ser atribuido a barreras montañosas, puesto que éstas no existen de forma manifiesta entre León y Zamora. Por ello se puede proponer la hipótesis de que las poblaciones del linaje M se han refugiado en el borde septentrional de la península, empujadas por el avance de las poblaciones de abejas del linaje africano, que se ven favorecidas por unas condiciones climáticas cada vez más cálidas. Esta hipótesis es congruente con el hecho de que las poblaciones del norte peninsular muestran mayores adaptaciones morfológicas y ecológicas a los climas fríos que las del sur peninsular (8).

La transición del linaje A al M ocurre en toda la Península Ibérica apoyando así la hipótesis de un origen natural del patrón a escala peninsular.

Las poblaciones de abejas del linaje A que colonizaron la península provinieron del Norte de África (3). Según Garnery et al. (9) y Arias y Sheppard (10) las poblaciones de abejas colonizadoras africanas se diferenciaron en el linaje M hace unos 1,1-0,85 millones de años, tras sucesivos episodios de extinción, refugio y recolonización durante el periodo de oscilaciones climáticas del Pleistoceno. Los primeros colonizadores probablemente pertenecieron al sublinaje AI, tal y como se puede inferir de la alta frecuencia y la distribución tan extensa que presenta este sublinaje en la Península Ibérica. Las abejas pertenecientes al sublinaje AII llegaron probablemente después ya que es menos frecuente y no tan disperso. El último sublinaje en llegar fue posiblemente el AIII ya que aparece muy escasamente y restringido a la zona occidental de la península. Este último sublinaje muestra un patrón de distribución ibero-atlántico ya que se ha encontrado mayoritariamente en los archipiélagos macaronésicos.

Según los resultados obtenidos por Miguel et al. (5) existen dos factores que influyen en la distribución de los linajes evolutivos en las poblaciones europeas de abejas: el aislamiento por distancia y las barreras geográficas. Los resultados de este trabajo no corroboran este último factor ya que se debería de haber encontrado el límite de distribución del linaje africano en la provincia de León, si el Macizo Asturiano de la Cordillera Cantábrica (que separa Asturias de León) hubiera actuado como barrera a la distribución del mismo. Este hecho contrasta con los resultados de Miguel et al. (5), que sí que hallaron una marcada influencia del Sistema Central e Ibérico norte en la distribución clinal de los linajes evolutivos en las poblaciones de la abeja ibérica. Alternativamente, se ha propuesto que los factores climáticos ejercen una presión selectiva sobre el genoma mitocondrial de las abejas, favoreciendo a las poblaciones con linaje A en los lugares más cálidos y secos y a las del linaje M en los lugares más fríos y húmedos (6).

Otros factores que están influyendo en la distribución de los linajes evolutivos son la práctica de la trashumancia y el efecto de enfermedades como la varroosis y otras virosis que por otro lado, pueden ser la causa del síndrome de despoblamiento de las colmenas que se está detectando en los últimos años. La trashumancia la realiza actualmente cerca del 80% de los dos millones y medio de colmenas censadas en España. El manejo inadecuado e intensivo puede causar pérdidas de reinas que son sustituidas por otras con diversos orígenes. Este trasiego de reinas puede cambiar la dotación mitocondrial original de las poblaciones de abejas como ocurrió en el caso de poblaciones insulares de Formentera, Ibiza y las Islas Canarias. Esta práctica sería la causante de la alta frecuencia del linaje M observada en provincias del sur (Huelva, Badajoz) con climas templados y de la presencia de colmenas caracterizadas por pertenecer al linaje europeo oriental C. Por tanto, si bien los factores climáticos e históricos han dado lugar a un patrón de distribución natural de los linajes y sublinajes evolutivos a lo largo de la Península Ibérica, los factores antropogénicos están modificándolo rápidamente debido al gran desarrollo que ha tenido la apicultura trashumante durante las dos últimas décadas.

**5. AGRADECIMIENTOS** Queremos agradecer la generosa contribución de los apicultores y del grupo de investigación del Centro Apícola Regional de Marcahamalo, que nos han aportado las muestras, así como el interés por este estudio demostrado por las Asociaciones de Apicultores, y la subvención de diferentes organismos. Los nuevos resultados presentados en este artículo corresponden al trabajo de fin de carrera de la licenciatura de Ciencias Ambientales de Ana Piñero.

## 6. REFERENCIAS

1. Engel, M. S. **1999**. The taxonomy of recent and fossil honey bees (Hymenoptera: Apidae; *Apis*), *Journal of Hymenoptera Research*, 8: 165–196.
2. Soland-Reckeweg, G. et al. **2009**. Gene flow in admixed populations and implications for the conservation of the Western honeybee, *Apis mellifera*, *Journal of Insect Conservation*, 13: 317–328.
3. Whitfield C.W., et al. **2006**. Thrice out of Africa: Ancient and recent expansions of the honey bee, *Apis mellifera*, *Science*, 314: 642–645.
4. De la Rúa, P., et al. **2009**. Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees, *Apidologie* 40: 263–284.
5. Miguel, I., et al. **2007**. Gene flow within the M evolutionary lineage of *Apis mellifera*: role of the Pyrenees, isolation by distance and post-glacial re-colonization routes in the Western Europe, *Apidologie*, 38: 141–155.
6. Cánovas, F., et al. **2008**. Geographical patterns of mitochondrial DNA variation in *Apis mellifera iberiensis* (Hymenoptera: Apidae), *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 46: 24–30.
7. Franck, P., et al. **2001**. Genetic diversity of the honeybee in Africa: microsatellite and mitochondrial data, *Heredity*, 86: 420–430.
8. Ruttner, F. **1988**. Biogeography and Taxonomy of honeybees, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
9. Garnery, L., et al. **1992**. Evolutionary history of the honey bee *Apis mellifera* inferred from mitochondrial DNA analysis, *Molecular Ecology*, 1: 145–154.
10. Arias, M.C., Sheppard, W.S. **1996**. Molecular phylogenetics of honey bees subspecies (*Apis mellifera* L.), *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 5: 557–566.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- De la Rúa, P., et al. **2005**. Biogeography of European honeybees. Chapter 1. En: *Beekeeping and conserving biodiversity of honeybees*. Northern Bee Books.
- Michener, C.D. **2000**. *The Bees of the World*. Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- Moritz, R. F. A., Southwick, E. E. **1992**. *Bees as Superorganisms: An Evolutionary Reality*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.

---

## 3.4

### El Origen de los Animales Bilaterales. Filogenias, Genómica, y Fósiles

**Jaume Baguñà, Marta Riutort y Pere Martinez**

*Departament de Genètica, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Diagonal 645, 08028 Barcelona.*

#### RESUMEN

Establecer las relaciones filogenéticas entre grupos clave de organismos es imprescindible para determinar los grupos antes y después de cada transición/innovación evolutiva e inferir su polaridad. Para analizar la filogenia de los metazoos bilaterales y la naturaleza del LCBA (Last Common Bilaterian Ancestor) hemos utilizado marcadores moleculares cuantitativos y cualitativos, genómica comparada, análisis filogenómicos, y la expresión de genes del desarrollo. Todos los análisis indican que los platelmintos acelomorfos son el primer grupo divergente del tronco de los bilaterales. De ello deducimos que el LCBA debía ser un organismo simple, pequeño, béntico, y de desarrollo directo. La muy escasa presencia de fósiles radiales y bilaterales en Ediacara y en la transición al Cámbrico, seguramente de índole tafonómica, sugiere la presencia de 'stem-groups' simples de metazoos radiales y bilaterales en Ediacara, 50-80 millones de años antes de la aparición, aparentemente súbita, de bilaterales más complejos en el Cámbrico.

#### 1. INTRODUCCIÓN

De los 34 filos animales actuales, 30 de ellos, que abarcan el 99 por ciento de las especies existentes, presentan simetría bilateral. El éxito evolutivo de la simetría bilateral sobre otros tipos de simetría (asimétrica, esférica, cilíndrica, y radial), reside en la presencia de un segundo eje corporal, el dorso-ventral (ortogonal al eje principal o antero-posterior) que define el plano de simetría bilateral facultando una locomoción direccional y una diferenciación entre dorsal y ventral ideal para la colonización del bentos. Otras características clave son la presencia de la tercera capa embrionaria, o mesodermo, que facultó desarrollar tejidos y órganos complejos, y la formación de un sistema nervioso condensado, diferenciado en "cerebro" anterior y cordones nerviosos longitudinales.

La mayoría de hipótesis sobre el origen de los bilaterales les supone derivados de organismos, adultos o en fase larvaria, con simetría n-radial, o cilíndrica (1). Pese a 150 años de debates, no hay consenso alrededor de ninguna de ellas. Por esta razón, y con la irrupción de las técnicas moleculares y de expresión génica en la década de 1980s, las investigaciones se han dirigido principalmente en obtener filogenias más 'objetivas' y robustas de los

Metazoos utilizando caracteres moleculares, y en reconstruir a partir de estudios de expresión génica de los genes mayores del desarrollo las características morfológicas y moleculares del denominado "Urbilaterio" (el ancestro común de todo los bilaterales, o LCBA, según las siglas en inglés del "Last Common Bilaterian Ancestor").

Entre 1995 y 2000 se publican diversas filogenias moleculares de Metazoos que culminan en un nuevo esquema denominado la Nueva Filogenia Animal (2), que cuestiona las filogenias vigentes basadas en caracteres morfológicos. El mayor punto de disensión refiere a los metazoos bilaterales. Según la Nueva Filogenia, los bilaterales acelomados y pseudocelomados, anteriormente considerados los bilaterales más basales, se agrupan junto a los bilaterales celomados en dos grandes superclados de protostomados: los Ecdisozoa y los Lophotrochozoa. El tercer superclado lo forman los Deuterostomia. La nueva filogenia fue corroborada por los primeros estudios comparados de los genes homeóticos del cluster Hox. A partir de estos datos, y de la expresión comparada de genes del desarrollo, se inició la reconstrucción morfológica y molecular del LCBA. Ya que acelomados y pseudocelomados no eran los bilaterales más basales, el LCBA emergió como un organismo estructuralmente complejo, segmentado, con sistema nervioso central y cerebro anterior, sistema digestivo completo con boca ventral y ano, y con sistema circulatorio y cavidades celomáticas derivadas del endomesodermo. Esta nueva visión implicaba que los bilaterales acelomados y pseudocelomados se habrían originado por simplificación estructural a partir de bilaterales celomados complejos. Estas ideas coincidían con los esquemas postulados por las teorías gonocélica, enterocélica, y nefrocélica de la evolución morfológica (1). Sin embargo, y al igual que en estas teorías, el origen de este LCBA complejo a partir de organismos radiales quedaba sumido en una densa niebla especulativa.

Paralelamente a la Nueva Filogenia Animal, otros estudios moleculares mostraron que un filo de bilaterales acelomados, los Platelminetos, ahora situados dentro de los Lophotrochozoa, son en realidad polifiléticos. Así, sus dos órdenes más basales, los Acelos y los Nemertodermátidos, surgían como la primera rama que diverge del tronco de los bilaterales, mientras que el resto de Platelminetos (Catenulida y Rhabditophora) eran en realidad lofotrocozoos (3,4). Estos resultados eran contrarios a la Nueva Filogenia Animal ya que situaban de nuevo a grupos acelomados como bilaterales basales. Los acelos y los nemertodermátidos presentan caracteres morfológicos harto distintos a los del LCBA complejo: pequeño tamaño, acelomados, no segmentados, sistema digestivo con boca y ano común, sin sistemas circulatorio y excretor, y con desarrollo directo (sin larva). Sin embargo, presentan ya un eje DV y un mesodermo definitivo, cordones nerviosos longitudinales, y una agrupación de neuronas en la región anterior. Según esta concepción el LCBA sería morfológicamente simple. Esta visión era similar a una de las antiguas hipótesis morfológicas: la del Planuloide-Aceloide (1) que postulaba una transición desde formas larvianas/embrionarias de organismos radiales a los primeros bilaterales, transición también totalmente especulativa.

La solución al dilema LCBA simple vs LCBA complejo requiere en primer lugar establecer definitivamente las relaciones filogenéticas de los Metazoos bilaterales y, en segundo lugar, iniciar un estudio comparado en profundidad de

los mecanismos moleculares del desarrollo embrionario entre organismos radiales y bilaterales. Una filogenia muy robusta permitiría mapear los caracteres morfológicos (y moleculares) en nodos clave de la transición radial-bilateral y de esta manera determinar la dirección del cambio evolutivo. A su vez, la genética del desarrollo y la genómica comparada permitirían correlacionar los patrones de expresión génica entre taxones diversos con la aparición de determinadas estructuras en estos nodos clave.

Solventar este dilema permitiría deducir en primer lugar el grupo de organismos que llevó a cabo la transición radial-bilateral así como explorar, e incluso experimentar *de novo*, los mecanismos que iniciaron la simetría bilateral. En segundo lugar, iluminaría uno de los grandes dilemas evolutivos planteado ya por Darwin (1859): si la denominada Explosión Cámbrica (la súbita aparición de la mayoría de filos bilaterales en el Cámbrico hace 530-520 millones de años) fue real o si, por contra, es un artefacto tafonómico y los bilaterales surgieron y se diversificaron a lo largo de un período de 50-80 millones de años desde el inicio del período Ediacara hace 630-600 millones de años.

## 2. OBJETIVOS

Los objetivos principales de este estudio fueron: 1) corroborar la posición de los acelomorfos (Acelos+Nemertodermátidos) como el primer grupo actual que se separó del tronco de los bilaterales; y 2) asumiendo el punto anterior, iniciar un estudio genómico en diversas especies de acelos para aislar, caracterizar, determinar su expresión espacial y temporal, e iniciar análisis funcionales de los genes que controlan el establecimiento de los patrones antero-posterior (AP), dorso-ventral (DV), de la gastrulación y formación del mesodermo, y del desarrollo de los sistemas nervioso y muscular. Para ello, hemos empleado diversas estrategias: 1) secuenciar genes nucleares y mitocondriales para determinar, en análisis multigénicos y filogenómicos, y empleando distintos modelos evolutivos y métodos de inferencia, la posición filogenética definitiva de este grupo; 2) usar marcadores moleculares cualitativos tales como número y tipo de genes Hox, conjunto de microRNAs (miRNAs), presencia de indels (inserciones y deleciones), y otras marcas moleculares, como criterios adicionales de su posición filogenética; y 3) iniciar estudios de genómica estructural y funcional en diversas especies de acelos para determinar la expresión de genes clave del desarrollo en embriones, juveniles y adultos.

Mientras las dos primeras estrategias son idóneas para resolver el dilema LCBA simple vs complejo, la última aproximación es clave para, a través de un estudio comparado entre la expresión de genes del desarrollo en acelomorfos con aquellos organismos de simetría radial más cercanos a los metazoos bilaterales (p.ej. los cnidarios antozoos), especular sobre el/los mecanismo/mos de cambio genético y celular que dieron lugar a la simetría bilateral.

### 3. RESULTADOS

**3.1. Análisis multigénicos y filogenómicos.** La secuenciación de genes nucleares, genes mitocondriales, y el uso de colecciones de ESTs (“Expressed Sequence Tags”), así como un muestreo exhaustivo de la mayoría de filos animales, han generado filogenias moleculares más completas y robustas que las obtenidas entre 1990-2000 únicamente a partir de secuencias de los genes ribosómicos 18S y 28S rDNA.

Los estudios multigenómicos (hasta unos 30 genes) y los filogenómicos (desde unos 40 genes) han corroborado en primer lugar la división de los metazoos bilaterales en los tres grandes superclados propuestos por la Nueva Filogenia Animal. En segundo lugar, ambos estudios confirman la polifilia de los Platelminetos. Finalmente, los acelomorfos, bien como grupo monofilético bien parafiléticamente, aparecen como el primer grupo que diverge dentro de los metazoos bilaterales. Esta posición basal ha sido confirmada en el mayor estudio filogenómico realizado hasta la fecha que incluye 1.500 genes y 96 taxones (5).

Otro resultado interesante de los estudios filogenómicos es la aparición de filos acelomados y pseudocelomados en posiciones basales dentro de cada uno de los 3 superclados. Nos referimos a Gnatostomúlidos y Gastrotricos en los Lofotrocozos, Priapúlidos y Quinorrincos en los Ecdisozoos y los Xenoturbellida en los Deuterostomados. Aunque son necesarios estudios más exhaustivos, la presencia de estos grupos en la base de los tres superclados y el carácter de bilaterales basales de los acelomados acelomorfos, cuestionan la denominada Nueva Filogenia Animal.

**3.2. Análisis filogenéticos con marcadores cualitativos.** Una fuente complementaria de información filogenética son aquellos eventos que por su alta improbabilidad de recurrencia puedan considerarse únicos y, como tales, “firmas o huellas moleculares” que agruparían los filos o grupos descendientes del grupo ancestral donde tal evento ocurrió. Nos referimos a inserciones y deleciones (indels), integración de retrotransposones (SINEs y LINEs), cambios en el orden génico en mitocondrias y cloroplastos, duplicaciones génicas, y cambios en el código genético. A ellas cabe añadir el reciente descubrimiento de los microRNAs (miRNAs) como marcador cladogenético.

La comparación de secuencias del gen mitocondrial *nad5* de diversos deuterostomados, lofotrocozoos, ecdisozoos y de no bilaterales (esponjas, ctenóforos y cnidarios) revelan la presencia de aminoácidos señal y trechos de secuencia específicos comunes a lofotrocozoos y ecdisozoos en contraposición a las secuencias en deuterostomados y no bilaterales (M. Telford; comunicación personal). Las secuencias del gen *nad5* de Platelminetos (Catenulida +Rhabditophora) y de Acelomorfos muestran que si bien los primeros son claramente protostomados, los segundos presentan marcadores típicos de deuterostomados y de no bilaterales. Aunque ello no sea prueba del carácter bilateral basal de los acelomorfos, si lo es de la polifilia de los antiguos Platelminetos.

Los genes del cluster Hox codifican para factores de transcripción que regulan el patrón antero-posterior (AP) en todos los bilaterales. En la mayoría de estos, los genes Hox están agrupados en un cluster genómico y su número

es, como mínimo, de 7 u 8 divididos en tres clases: anterior, central y posterior. Dado que los no bilaterales carecen de genes Hox (esponjas, ctenóforos) o su número y clases son muy limitados (cnidarios), descubrir un cluster Hox intermedio entre el de cnidarios y bilaterales sería prueba de la ancestralidad del grupo en el cual se halle y fuente de estudio para analizar la evolución del cluster. Los análisis realizados en 5 especies de acelos y 1 especie de nemertodermátido han revelado la presencia de un cluster Hox de 3-4 genes que incluyen las tres clases: anterior, central y posterior. En la única especie analizada a nivel genómico, *Symsagittifera roscoffensis*, los genes no están agrupados en el genoma aunque en embriones y juveniles se expresan colinealmente en el espacio en sentido AP de manera similar a los demás bilaterales (6). Finalmente, el análisis del filo Xenoturbellida, considerado un deuterostomado basal, indica la presencia de 5 genes Hox: 1 gen anterior, 3 centrales y 1 posterior. Si descartamos la posibilidad que los clusters Hox en estos grupos se hubieran originado por reducción a partir de otros más complejos, estos datos sugerirían hallarnos de nuevo ante estadios intermedios en la evolución del cluster a partir del más reducido en cnidarios.

Un carácter cualitativo adicional son los miRNAs; RNAs no codificantes que controlan la expresión génica disminuyendo la estabilidad de la traducción de mRNAs diana. Su diversidad parece correlacionada con el número de tipos celulares diferenciados, y en consecuencia con la complejidad biológica, lo que sugeriría que el número de miRNAs distintos habría incrementado paulatinamente a lo largo de la evolución. Si estas características fuesen invariantes para todos los grupos, los miRNAs serían el reloj filogenético ideal. Los datos más recientes indican que el número de miRNAs distintos correlaciona notablemente con la jerarquía de las relaciones filogenéticas y con el origen de determinadas innovaciones evolutivas. La comparación de los miRNAs entre no bilaterales, acelos, y el resto de bilaterales es hartamente consistente (7). Mientras lofotrocozoos, ecdisozoos y deuterostomados presentan un conjunto común de miRNAs (unos 30), tan sólo 6 de ellos se hallan presentes en acelos. Y de estos 6, sólo 2 están en cnidarios, y ninguno en esponjas. Es decir, el patrón sucesivo de miRNAs incluyentes reflejan la cladogénesis de metazoos. Así, el número escaso de miRNAs en acelos en contraposición a su menor número en cnidarios y al mayor en el resto de bilaterales confirman a los acelomorfos como el grupo más basal de metazoos bilaterales.

**3.3. Expresión génica y homologías axiales y blastodérmicas entre bilaterales y no bilaterales.** Establecer las homologías entre los ejes corporales y entre las hojas blastodérmicas de organismos bilaterales y no bilaterales (básicamente radiales) es un aspecto clave de la evolución comparada animal. Varios son los interrogantes. Primero, es el denominado eje Oral-Aboral (O/AB) en cnidarios y ctenóforos homólogo al eje Antero-Posterior (AP) o al eje Dorsal-Ventral (DV) de bilaterales? Y si fuese homólogo a alguno de ellos (p.ej al eje AP), a que extremo se corresponde? (p.ej. es O=A ó es O=P o viceversa?). Segundo, asumiendo la homología entre los ejes O/AB y AP, cómo surgió el eje DV, clave en la evolución de la bilateralidad? Tercero, al carecer los no bilaterales de verdadero mesodermo, cómo y donde surgió este en los bilaterales? Finalmente, cual es la relación entre ejes corporales,



gastrulación y formación del blastoporo, formación del mesodermo, y establecimiento del eje DV?

Responder estas preguntas en el pasado llevó a postular homologías plausibles para deducir de ellas escenarios posibles de evolución (1). En los últimos 10 años las técnicas de Biología Molecular y Genómica Comparada han permitido detectar, caracterizar y determinar la expresión de genes mayores del desarrollo en organismos no bilaterales como cnidarios (mayormente en *Nematostella vectensis*) y esponjas. Estudios similares se han iniciado ya en acelos. La obtención del genoma completo de *N. vectensis* ha revelado que posee la mayoría de genes del desarrollo de especies más complejas. *N. vectensis* expresa la mayoría de genes de gastrulación en la zona blastoporal, los genes mesodérmicos de bilaterales en su endodermo, y los genes neurales en su sistema nervioso difuso. Sorprendentemente, los genes *Hoxs* y otros genes anteriores marcadores del patrón AP, y los genes marcadores de polaridad DV en bilaterales, no se expresan de manera polarizada en *N. vectensis*, y su expresión es además harto variable en otros cnidarios. Por contra, el eje O/AB parece controlado por genes de la cadena *Wnt* activados asimétricamente en la región oral del embrión. En resumen, aunque el eje O/AB parece ser homólogo al eje AP de bilaterales, los genes *Hoxs* no tienen relevancia axial en cnidarios. Además, aunque presenta estructuras internas con simetría bilateral, no hay pruebas fehacientes de un eje DV real en cnidarios tal como corrobora la falta de expresión asimétrica de marcadores DV. Sobre la correspondencia entre extremos oral/aboral en cnidarios y anterior/posterior en bilaterales, no existe hoy en día consenso alguno.

En los acelos *Convolutriloba longifissura* y *Symsagittifera roscoffensis*, la expresión de los genes *Hoxs* es, como en el resto de bilaterales, colinear a lo largo del eje AP (6). Los datos sobre otros genes anteriores y posteriores son aun escasos. Los genes DV parecen expresarse en dominios similares a los de bilaterales. Finalmente tanto los genes mesodérmicos como los genes de gastrulación se expresan alrededor del polo posterior en embriones y del único orificio del aparato digestivo en juveniles/adultos situado en posición antero-ventral. De ello, se ha postulado la homología del ectodermo oral y el sistema nervioso anterior entre acelos y cnidarios, mientras que endomesodermo y línea germinal tendrían orígenes distintos en ambos grupos (8). De estas presuntas homologías, se deduce la homología de la región anterior (incluyendo la boca) entre cnidarios y bilaterales y se postula que la región anal ha evolucionado separadamente en diversos grupos de bilaterales (9).

## 4. CONCLUSIONES

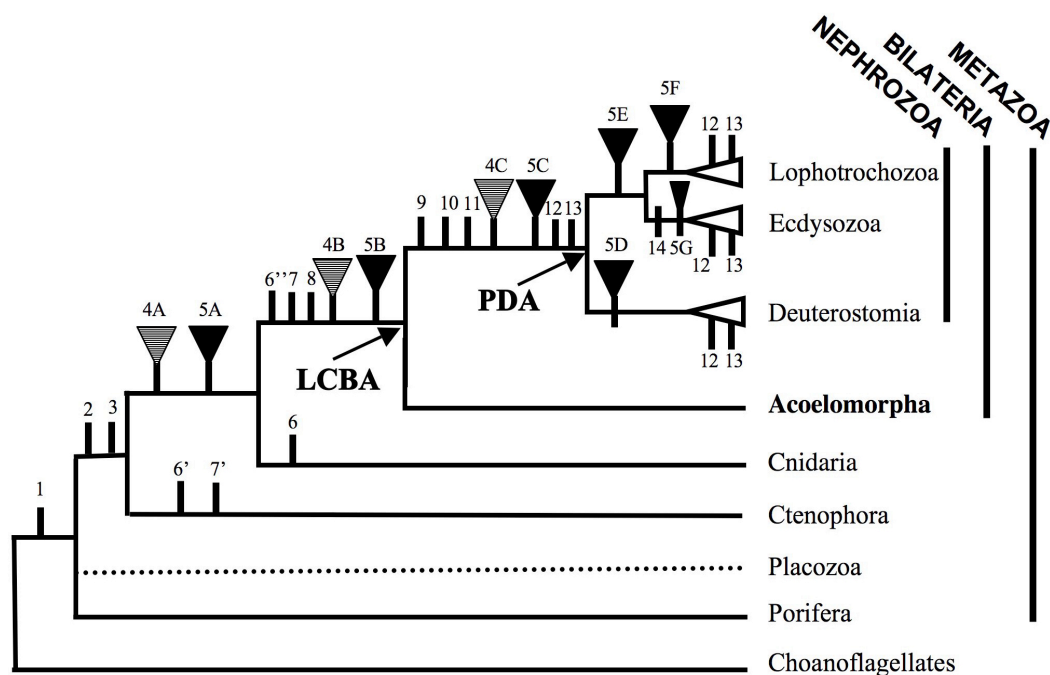
**4.1. Filogenias y genómica de los bilaterales.** Las filogenias moleculares obtenidas mediante métodos multigénicos y filogenómicos y el uso de marcadores cualitativos moleculares corroboran a los acelomorfos como el primer grupo que divergió del tronco de los Metazoos bilaterales (Fig 1). Al tiempo, refuta uno de los postulados básicos de la Nueva Filogenia Animal y define al LCBA como un organismo morfológicamente simple, afín a formas larvarias y juveniles de organismos no bilaterales como cnidarios según postula la hipótesis del planuloide-aceloide (1). La posición basal de los acelomorfos la

confirman también la presencia de un cluster Hox simple, el conjunto restringido de miRNAs, y los patrones de expresión de genes AP y DV que, aun siendo claramente bilaterales, presentan algunas características de cnidarios (9). Estos resultados indican la necesidad de profundizar en el estudio comparado entre cnidarios y acelomorfos, en especial en lo referente a comparar los patrones de expresión de los genes de gastrulación, de los genes mesodérmicos y de los implicados en la determinación del eje DV.

**4.2. El problema de la falta de registro fósil en Ediacara y el origen de los bilaterales.** Pese a diversos análisis realizados o en curso y a los estudios comparados mencionados entre cnidarios antozoos, acelomorfos y otros bilaterales, el origen del eje DV y la simetría bilateral aun están por resolver. En ausencia de mecanismos celulares y moleculares claros (imposibles de inferir en muchos casos), algunas de las grandes innovaciones y transiciones morfológicas en evolución han sido iluminadas gracias a los numerosos fósiles que representan los estadios intermedios en la evolución de dichas estructuras (p.ej. evolución de los tetrápodos, aves, mamíferos, cetáceos, angiospermas, plantas vasculares, etc,...). En contraposición a estos ejemplos, el registro fósil de bilaterales, e incluso de no bilaterales, en el PreCámbrico (hoy denominado Ediacara) es por desgracia extremadamente pobre. Exceptuando los embriones fósiles de Doushantou (580 millones de años) de adscripción taxonómica completamente desconocida, y la presencia de *Kimberella* y huellas fósiles hace 560-550 millones de años, no hay restos de bilaterales en Ediacara. Lo más sorprendente sin embargo es la ausencia casi total de esponjas y cnidarios fósiles en este período. En Ediacara, las esponjas sólo están representadas por espículas inciertas y tardías (560 millones de años). Sin embargo, la detección a lo largo de todo el Ediacara de biomarcadores lipídicos atribuidos a esponjas, permite inferir que o bien las esponjas operarían sin soporte espicular, y/o en Ediacara las esponjas eran organismos muy simples, similares a las larvas de esponja actuales. En cualquier caso, la diversificación (macroscópica) de esponjas sucedió en el Cámbrico y aun más tardíamente, como certifica la ausencia durante 200 millones de años de registro fósil para las Demoesponjas. Un panorama similar aplica a los cnidarios. En primer lugar, y según datos moleculares, la divergencia entre antozoos y medusozoos sucede bien entrado el Cámbrico y no en el Ediacara. En segundo lugar, exceptuando cnidarios fósiles de dudosa validez en Doushantou, no hay fósiles contrastados de cnidarios, mientras que su radiación es evidente en el Cámbrico, curiosamente en paralelo a la de los bilaterales.

Si exceptuamos la denominada fauna de Ediacara formada por organismos, algunos de gran tamaño, de forma discoidal o en fronda, inmóviles, sin conexión aparente con los Metazoos actuales, y que se supone son un tipo de forma de vida (fototrófica quizás) que no prosperó, la conclusión casi ineludible de la falta de fósiles en el Ediacara es que nos hallamos ante un problema tafonómico derivado del pequeño tamaño y fragilidad de los metazoos entonces existentes, y de condiciones adversas de fosilización. En este contexto, la posición filogenética de los acelomorfos como primer grupo en divergir del tronco de los bilaterales y sus características como organismo simple, béntico, y de desarrollo directo, estarían más de acorde con un mundo precámbrico poblado por grupos basales ("stem-groups") de las actuales

esponjas, cnidarios, ctenóforos y primeros bilaterales con simetrías inicialmente cilíndricas para pasar a simetría radial y, coetánea o posteriormente, a simetría bilateral formando un segundo eje, el DV. Estas formas serían parecidas a los estadios larvarios (básicamente bénticos) de estos grupos y no a los adultos actuales. En otras palabras, tan fútil y peligroso es extrapolar como 'deberían' ser estos grupos en el Ediacara/Cámbrico, en especial sus 'stem-groups', en base a los grupos actuales, como lo es derivar los bilaterales a partir de esponjas adultas o cnidarios adultos (en ausencia de fósiles) tal como postularon las antiguas hipótesis enterocélica y gonocélica o los defensores hoy en día de un LCBA complejo.



**Figura 1. Nueva propuesta taxonómica para los Metazoos y posición filogenética de los Acelomorfos.** Caracteres morfológicos y moleculares (cualitativos) mapeados sobre las ramas de un árbol filogenético de consenso deducido de caracteres moleculares. Las autapomorfías sucesivas son: 1, eje O/AB(AP) (genes Wnt) + simetría cilíndrica + epitelios sellados; 2, neuronas + células epiteliomusculares; 3, endodermo; 4, cluster Hox/ParaHox (2 Hox/2 ParaHox); 5A, microRNAs (conjunto básico; n=2-3); 6, simetría radial; 6', simetría biradial; 6'', eje DV + simetría bilateral; 7, mesodermo; 7', células musculares (por convergencia); 8, agrupaciones de neuronas en un ganglio anterior; 4B, Hox cluster (3/4 Hox + 3 ParaHox); 5B, miRNAs (n=6-7); 9, Cerebro anterior + cordones longitudinales; 10, digestivo con boca y ano; 11, sistema excretor; 4C, cluster Hox completo (7/8 Hox + 3 ParaHox); 5C, miRNAs de Nephrozoa (n=25-30); 12, celoma (monofilético o polifilético); 13, segmentación corporal (monofilética o polifilética); 5D-5G. miRNAs de Deuterostomados, Protostomados, Lofotrocozoos y Ecdisozoos (n ≥ 30); 14, muda o ecdisis. LCBA: Last Common Bilaterian Ancestor; PDA: Protostomate-Deuterostomate Ancestor.

## 5. REFERENCIAS

1. Willmer, P. **1990**. *Invertebrate Relationships: Patterns in Animal Evolution*. Cambridge University Press, Cambridge.
2. Adoutte, A. et al. **2000**. The new animal phylogeny: reliability and implications. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 97: 4453-4456.
3. Ruiz-Trillo, I. et al. **1999**. Acoel flatworms: earliest extant Bilaterians Metazoans, not members of Platyhelminthes. **Science**, 283: 1919-1923.
4. Baguña, J and Riutort, M. **2004**. The dawn of bilaterian animals: the case of acoelomorph flatworms. **BioEssays**, 26: 1046-1057.
5. Hejnol, A. et al. **2009**. **Assessing the root of bilaterian animals with scalable phylogenomic methods**. **Proc. R. Soc. B** (en prensa)
6. Moreno, E. et al. **2009**. Tracking the origin of the bilaterian Hox patterning system: insights from the acoel flatworm *Symsagittifera roscoffensis*. **Evol. Dev**, 11: 574-581.
7. Sempere, L.F. et al. **2007**. Phylogenetic distribution of microRNAs supports the basal position of acoel flatworms and the polyphyly of Platyhelminthes. **Evol. Dev**, 9: 409-415.
8. Hejnol, A and Martindale M.Q. **2008**. Acoel development indicates the independent evolution of the bilaterian mouth and anus. **Nature**, 456: 382-386.
9. Hejnol, A and Martindale, M.Q. **2008**. Acoel development supports a simple planula-like urbilaterian. **Phil. Trans. Royal. Soc. B**. 363: 1493-1502.

## 6. LECTURAS RECOMENDADAS

- Carroll, S.B., Grenier, J.K and Weatherbee, S.D. **2005**. *From DNA to Diversity* (2<sup>nd</sup> Ed). Blackwell Publishing, Malden

---

# 3.5

## Animales y sus Ancestros Unicelulares. Una Visión Filogenómica

Iñaki Ruiz-Trillo

*ICREA Researcher. Parc Científic de Barcelona & Departament de Genètica- Universitat de Barcelona. Edifici Hèlix; 1era planta, laboratorio A04. Baldiri Reixac 15. 08028 Barcelona. España*

### RESUMEN

El origen de animales o metazoos a partir de sus ancestros unicelulares continúa siendo una de las grandes preguntas biológicas que quedan por resolver. Para poder realizar un análisis de genómica comparada entre animales y sus ancestros, necesitamos primero discernir cuáles de los unicelulares actuales son los filogenéticamente más cercanos a metazoos. El presente capítulo muestra parte del camino recorrido durante los últimos años con la idea de identificar estos linajes unicelulares. Una vez identificados los posibles “ancestros” de los metazoos, será el análisis de sus genomas lo que nos aportará los datos necesarios para poder resolver el cómo y porqué de la transición unicelular-multicelular que tuvo lugar en el origen de los animales.

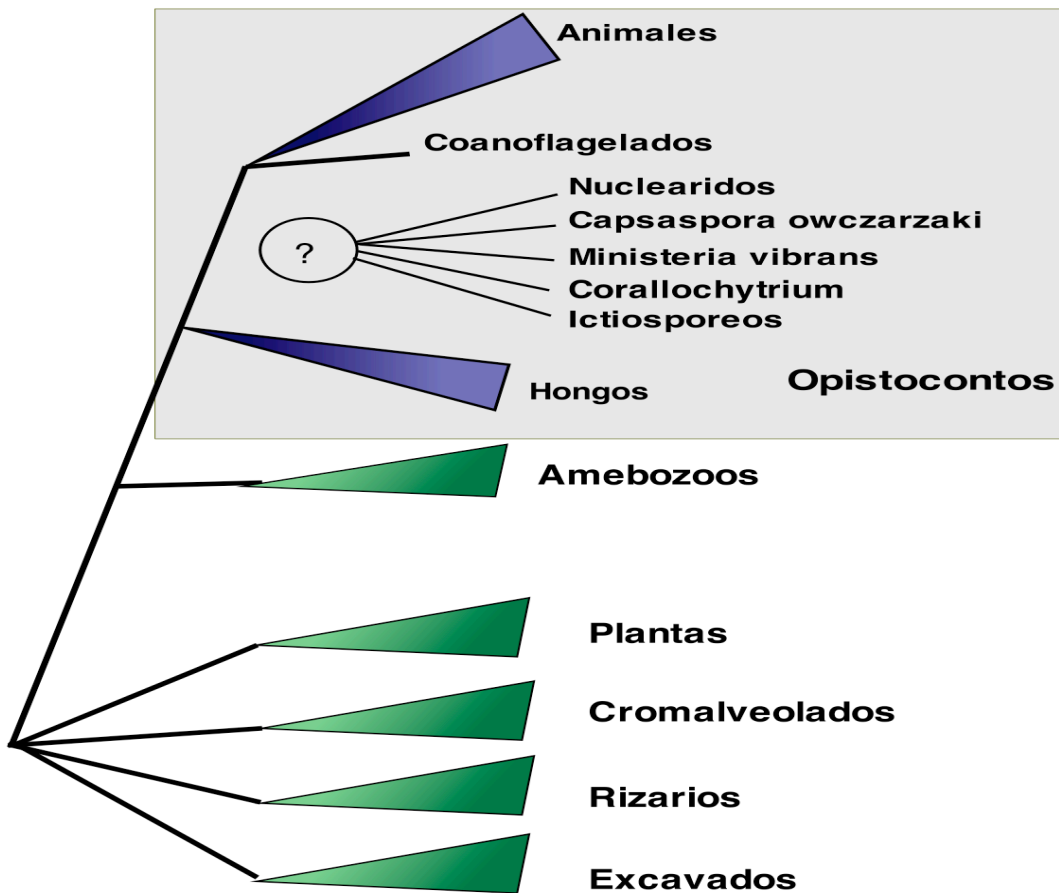
### 1. INTRODUCCIÓN

Cómo se originaron los animales a partir de sus ancestros unicelulares es, sin duda, una de las grandes preguntas biológicas que permanecen a día de hoy sin una respuesta clara. No es que no se haya avanzado nada. Sabemos más de lo que sabíamos hace una década. Sin duda. Por ejemplo, disponemos de un buen registro fósil que abarca toda la etapa correspondiente al origen de los animales. Y gracias a este extenso registro fósil sabemos que hace unos 540 millones de años, en el denominado período Cámbrico, ya se hallaban en la Tierra representantes de todos los filums animales actuales (entre ellos, artrópodos, anélidos, esponjas, platelmintos, nemátodos, y cordados). También sabemos que la aparición de los animales en el registro fósil es repentina: estratos tan sólo 25 millones más antiguos no poseen fósiles atribuibles a metazoos actuales. Esta rápida aparición ha recibido el pegadizo nombre de “explosión Cámbrica”. El si esta explosión representa un hecho biológico (la aparición repentina y la rápida diversificación de los animales) o un problema técnico del registro fósil continúa siendo debatido, pero todo parece indicar que el origen y radiación de los metazoos ocurrió a una celeridad sin igual (1).

Otra cuestión es la posible o posibles causas de esta rápida explosión biológica. Las teorías abundan, desde las que implican causas ecológicas (el inicio de una cruel “guerra armamentística”, o podríamos decir “tecnológica”, entre presa y depredador) hasta las que argumentan causas ambientales (un incremento de los niveles de oxígeno en la atmósfera lo que permitió un

aumento de tamaño y complejidad) (1). Probablemente sea una combinación de las dos. Y muy probablemente hubo algún cambio genético o molecular importante que permitió el origen de los animales. No en vano, los metazoos derivaron de eucariotas unicelulares ancestrales. Sin duda, el nuevo estilo de vida multicelular (o pluricelular) aportó una serie de ventajas evolutivas, como la posibilidad de aumentar de tamaño y también de complejidad, o el poder disponer de linajes celulares diferenciados. Pero también trajo consigo una serie de problemáticas, como el comunicar adecuadamente las células entre sí, el poder adherir las diferentes células, y el disponer de una maquinaria genética responsable de una eficiente diferenciación celular. Estos tres tipos de funciones (comunicación, adhesión y diferenciación celular) son las funciones que uno esperaría encontrar en un organismo multicelular, pero no en un unicelular. La pregunta es: ¿se crearon estas funciones “*de novo*”?, o ¿los genes involucrados en estas funciones existían ya en los protistas unicelulares? Para poder responder a esta pregunta, uno debe poder comparar la maquinaria genética de metazoos con la de los organismos unicelulares filogenéticamente más cercanos a animales (2, 3).

Esto nos lleva a otro punto clave, que es el marco filogenético del origen de metazoos. ¿disponemos de una filogenia robusta de metazoos?, ¿sabemos quiénes son los ancestros unicelulares de los animales? Es éste otro campo que ha avanzado mucho. Así, y gracias a las técnicas de secuenciación automática, la filogenia molecular está resolviendo muchas de las cuestiones taxonómicas y sistemáticas que quedaban pendientes. Muchas, pero no todas. Por ejemplo, la disputa sobre la posición filogenética de los filums más basales se encuentra ahora mismo (a fecha de 2009) en unos de sus puntos más álgidos. Al menos cinco análisis multigénicos independientes publicados en los últimos 10 meses, han mostrado diferentes topologías respecto a la posición filogenética relativa de cnidarios, ctenóforos, esponjas, y placozoos (ver 4). Más complejo, si cabe, es la parte del árbol correspondiente a los organismos unicelulares filogenéticamente más cercanos a animales. Se sabe que metazoos y hongos comparten un ancestro común y que juntos forman el clado denominado opistocontos. Los coanoflagelados, flagelados unicelulares de vida libre, sería otro linaje opistoconto. De hecho, análisis moleculares muestran a los coanoflagelados como grupo hermano de los animales. Pero, aparte de animales, coanoflagelados y hongos, ¿existen otros linajes opistocontos? Pues sí, secuencias ribosomales colocaron hace ya unos cuatro o cinco años a varios linajes prácticamente desconocidos dentro de este clado. Estos linajes serían los *nuclearidos*, unas amebas de vida libre, los *ictiosporeos*, un grupo de parásitos y simbioses de peces y artrópodos, *Ministeria vibrans* y *Corallochytrium limacisporum*, amebas de vida libre, y *Capsaspora owczarzaki*, una ameba simbiote del molusco *Biomphalaria glabrata*. La posición filogenética concreta de estos linajes dentro de los opistocontos era incierta, y no se sabía ni si eran más cercanos a hongos o a animales (ver Figura 1). Sin duda, situar filogenéticamente a estos linajes era condición *sine qua non* para poder abordar la problemática del origen de metazoos.



**Figura 1. Esquema de los eucariotas.** El esquema muestra los diferentes linajes de opistocontos, cuya posición filogenética se desconocía hace tan sólo unos pocos años.

## 2. OBJETIVOS

Nuestro objetivo era discernir la posición filogenética de los diferentes linajes de opistocontos, para poder tener así un marco filogenético robusto del origen de metazoos. Concretamente decidimos obtener y cultivar dos de los linajes opistocontos más desconocidos, la ameba *Capsaspora owczarzaki* y un ictiosporeo, *Sphaeroforma arctica*. De ambos linajes obtuvimos un número importante de datos moleculares tanto por amplificación por PCR como por proyectos de EST (*expressed sequence tags*). Con estos datos realizamos análisis filogenéticos y filogenómicos, los resultados de los cuáles se comentan a continuación.

## 3. RESULTADOS

**3.1. Análisis Filogenético.** Nuestros datos moleculares obtenidos a partir de PCR nos permitieron mejorar las relaciones filogenéticas de los diferentes linajes de opistocontos (5, 6). Así, por ejemplo, y gracias también a datos

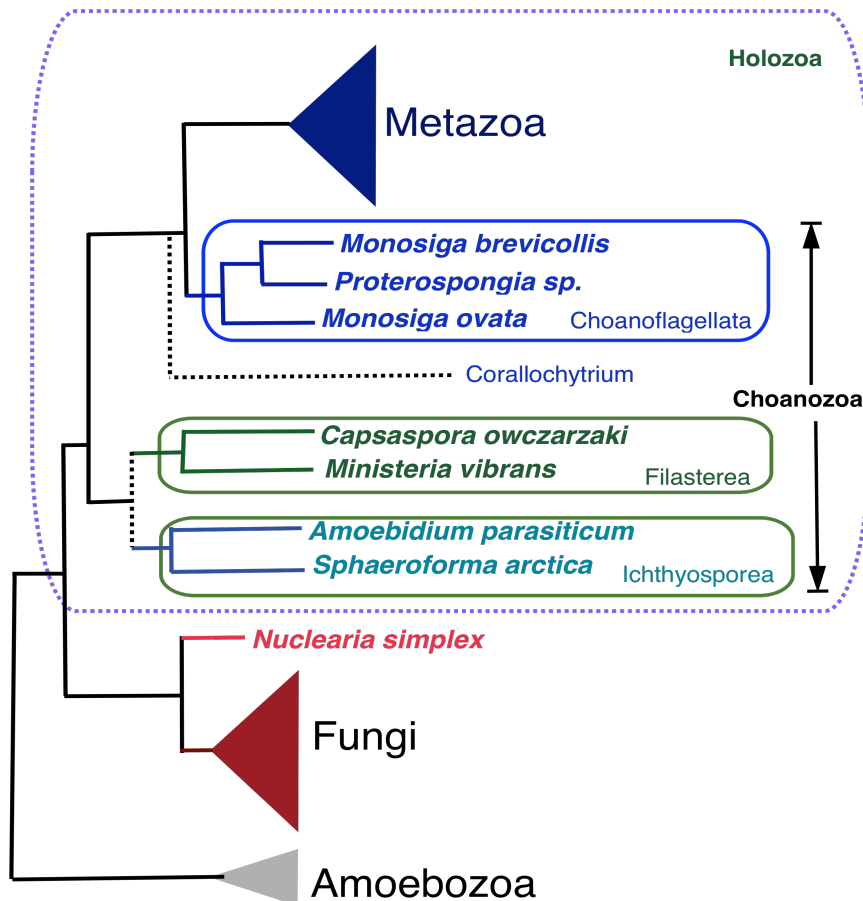
obtenidos por otros grupos, análisis filogenéticos basados en cinco proteínas nucleares nos permitieron discernir que nuclearidos son más cercanos a hongos que a animales, mientras que el resto de linajes unicelulares (coanoflagelados, ictiosporeos, *Ministeria*, *Corallochytrium* y *Capsaspora*) son filogenéticamente más cercanos a animales que a hongos. De todas maneras, las relaciones entre estos linajes de opistocontos unicelulares seguían por resolver, pues los datos no aportaban suficiente información.

**3.2. Análisis Filogenómico.** La ventaja de la filogenómica respecto a los análisis filogenéticos basados en un único (o unos pocos) genes es que se aumenta considerablemente la señal filogenética, y, a priori, se reduce el ruido de fondo causado por las posiciones con señal filogenético bajo o erróneo. Es por esto, que decidimos obtener cuántos más datos genómicos mejor de nuestras especies. Sin duda, la obtención de secuencias de ESTs es una de las maneras más fáciles y económicas de conseguir muchos datos genómicos. El nombre de EST viene por “expressed sequence tags”, pues se trata de secuenciar al azar (más de 9000 clones en nuestro caso) clones de una librería de cDNA, es decir clones procedentes de una librería creada a partir del RNA mensajero (de esta manera no hay problema de secuenciar intrones y/o zonas integénicas, sino únicamente información codificante). Y fué gracias a los datos obtenidos mediante proyectos de ESTs que pudimos realizar alineamientos de hasta 110 proteínas nucleares concatenadas, una después de la otra. A partir de este super-alineamiento, inferimos el árbol filogenético (de ahí el nombre de filogenómica). En nuestro caso, estos análisis filogenómicos si pudieron confirmar las posiciones filogenéticas de los diferentes linajes (7). Análisis posteriores de otros autores ayudaron a colocar filogenéticamente *Ministeria* (8). La figura 2 muestra de manera esquemática nuestro conocimiento actual del marco filogenético de los opistocontos basado tanto en diferentes publicaciones como en análisis no publicados realizados por nuestro grupo. Así, nuclearidos son, sin duda, el grupo hermano de hongos, mientras que los coanoflagelados serían el grupo hermano de metazoos. *Corallochytrium* continúa en una posición indeterminada, ya que no existen datos filogenómicos, aunque probablemente sea grupo hermano (o cercano) a coanoflagelados. En una posición más basal, aparecería un clado denominado Filasterea, que englobaría *Ministeria* y *Capsaspora*. Queda por resolver también, ya que existen estudios contradictorios (7,8), si Filasterea sería o no grupo hermano de los Ichthyosporea. Análisis filogenéticos no publicados parecen sugerir que Ichthyosporea y Filasterea serían de hecho grupos hermanos, pero se necesitan más datos.

**3.3. Genómica comparada.** Al disponer de datos de EST con cientos de genes anotados, pudimos también identificar si *Capsaspora owczarzaki* y/o *Sphaeroforma arctica* tienen o no genes involucrados en multicelularidad. Sin entrar en demasiado detalle, pues merecería otro capítulo, si merece la pena comentar que en el genoma de *Capsaspora* identificamos genes involucrados en adhesión y comunicación celular, algunos de los cuáles (como, por ejemplo, miembros de la familia génica MAGUK) se creían específicos de metazoos. Esto respondería, en parte, a una de las preguntas iniciales: algunos genes



involucrados en multicelularidad se encontraban ya en los ancestros unicelulares de metazoos.



**Figura 2. Marco filogenético de los Opistocontos.** Esquema del marco filogenético de los opistocontos a fecha de Abril del 2009. El esquema se basa en datos multigénicos y filogenómicos (4, 5, 6, 7).

#### 4. CONCLUSIONES

Gracias a los datos moleculares conseguidos hemos podido mejorar sensiblemente el marco filogenético de los opistocontos. Ahora sabemos ya qué linajes unicelulares de los actuales son los filogenéticamente más cercanos a animales. Y también cuáles son los más cercanos a hongos (Figura 2). Así, sabemos que los nuclearidos son claves para entender el origen de hongos. Y que tanto coanoflagelados como *Capsaspora* o *Ministeria*, como los ictiosporeos, se presentan como organismos claves para poder entender la transición unicelular-multicelular que tuvo lugar en el origen de metazoos. Sabemos además que el análisis de sus genomas será muy importante para identificar el kit genético básico de los animales multicelulares. Obtener el

genoma de estos organismos y compararlo con el de metazoos basales es nuestro siguiente paso.

**5. AGRADECIMIENTOS** Agradezco a Andrew J. Roger el haberme acogido en su laboratorio donde se realizó todo este trabajo. Agradezco también la inestimable ayuda de Franz Lang y Michael Gray. Finalmente, agradecer a María José, Mariona y Martí su paciencia y apoyo.

## 6. REFERENCIAS

1. Valentine, J.W. **2004**. On the origin of phyla. The University of Chicago Press, *Ed.* Chicago and London.
2. Ruiz-Trillo et al. **2007**. The origins of multicellularity: a multi-taxon genome initiative. **Trends in Genetics**, 23. 113-118.
3. King N. **2004**. The unicellular ancestry of animal development. **Dev Cell**, 7:313-325.
4. Schierwater B. et al. **2009**. Concatenated analysis sheds light on early metazoan evolution and fuels a modern "urmetazoon" hypothesis. **PLoS Biology**, 7. e20.
5. Ruiz-Trillo et al. **2004**. *Capsaspora owczarzaki* is an independent opisthokont lineage. **Current Biology**, 14. R946-947.
6. Ruiz-Trillo et al. **2006**. Insights into the evolutionary origin and genome architecture of the unicellular opisthokonts *Capsaspora owczarzaki* and *Sphaeroforma arctica*. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, 53. 1-6.
7. Ruiz-Trillo et al. **2008**. A phylogenomic investigation into the origin of metazoa. **Molecular Biology and Evolution**, 25. 664-672.
8. Shalchian-Tabrizi et al. **2008**. Multigene phylogeny of choanozoa and the origin of animals. **PLoS ONE**. 3:e2098.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Valentine, J.W. **2004**. On the origin of phyla. The University of Chicago Press, *Ed.* Chicago and London.
- Conway Morris, S. **1998**. The Crucible of Creation. Oxford University Press, *Ed.* Oxford.

# Tema 4

---

## Desarrollo, Morfología y Evolución

# 4.1

## Origen y Evolución de la Metamorfosis de los Insectos

**Xavier Bellés**

*Instituto de Biología Evolutiva (CSIC-UPF), Passeig Marítim 37, 08003 Barcelona*

### RESUMEN

La metamorfosis de los insectos presenta dos modelos, el hemimetábolo, o crecimiento gradual, en que las ninfas son muy similares a los adultos, y el holometábolo, con transformaciones bruscas, en que las larvas son considerablemente diferentes respecto a los adultos, y en los que hay una fase intermedia, pupal, entre la larva y el adulto. El origen y la evolución de la metamorfosis de los insectos se han interpretado de diferentes formas según las épocas. Actualmente se contraponen dos teorías, una que postula que la holometabolía se originó por eclosión prematura del embrión y finalización del desarrollo en la fase de pupa, y otra que mantiene que los insectos eclosionan todos en un estado equivalente, y que la fase de pupa de los holometábolos equivale a la última fase ninfal de los hemimetábolos. Sin embargo, solamente se dispone de información detallada funcional de unas pocas especies, a menudo muy modificadas. La elucidación de los mecanismos que originaron el paso de hemimetábolos a holometábolos se podrá abordar más cabalmente si se estudia una diversidad mayor de especies, que representen a los grupos más característicos.

### 1. UN ENIGMA INTEMPORAL

¿Como se transforma una oruga en mariposa? Esa pregunta, que resume la maravilla y el misterio de la metamorfosis, ha fascinado al hombre desde los tiempos más remotos. En las culturas occidentales, Aristóteles fue probablemente el primero que pasó de la mística concepción dual de *psyché*, alma-mariposa, a la observación de la naturaleza, aportando las primeras descripciones naturalísticas de las transformaciones de los insectos. Aristóteles creía que la vida embrionaria de los insectos continuaba hasta la formación del adulto perfecto, que la larva era una suerte de huevo andante.

En 1651, William Harvey proponía que el huevo contenía tan pocos nutrientes que el embrión se veía forzado a eclosionar antes de completar el desarrollo; durante las fases larvarias acumulaba suficientes recursos para llegar a la fase de un nuevo huevo, es decir, la pupa. Jan Swammerdam, contemporáneo de Harvey, mostró con sus habilísimas disecciones que la pupa no era una suerte de huevo, sino un paso intermedio entre la larva y el adulto.

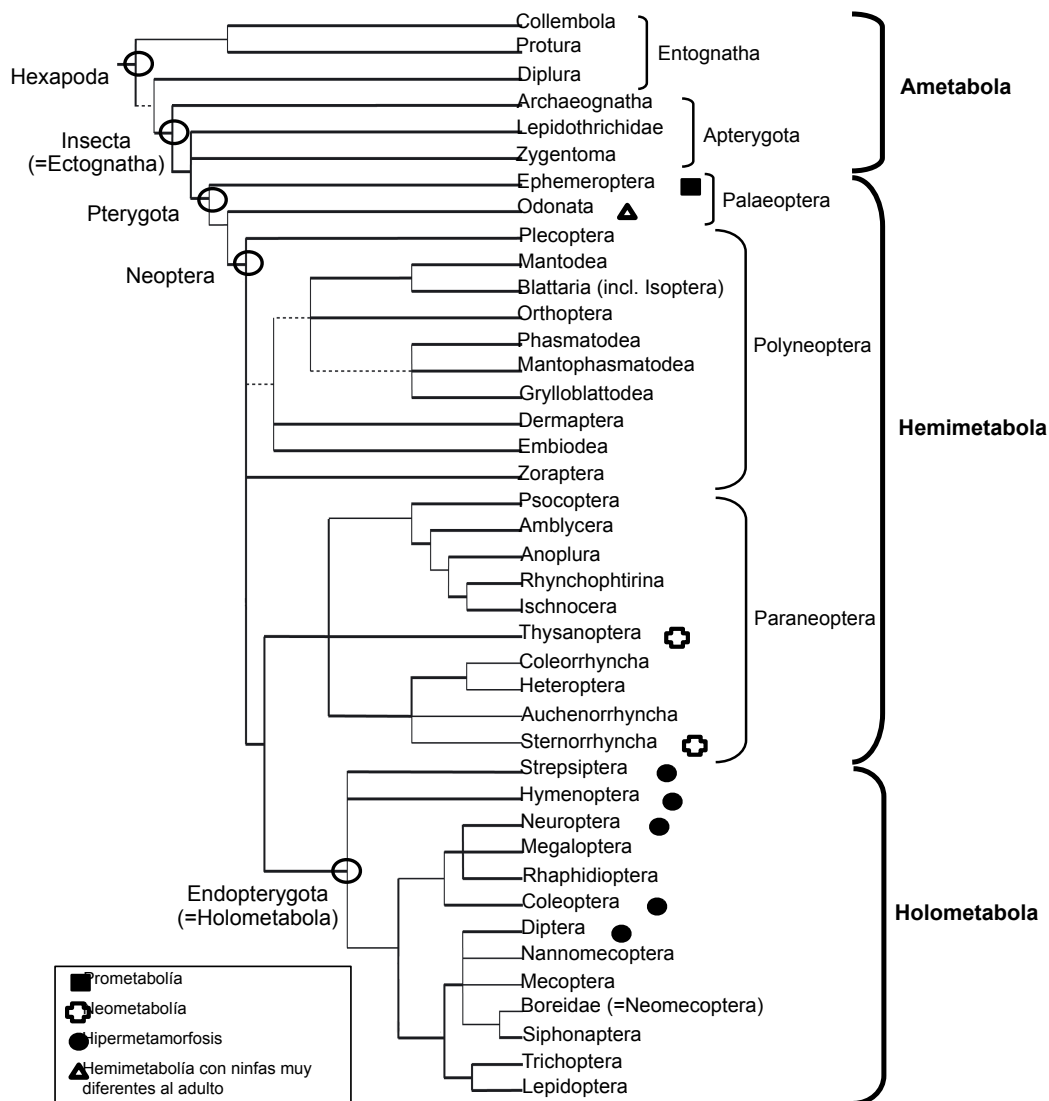
En 1883, John Lubbock razonaba, al modo de Harvey, que el origen de la metamorfosis se explicaría por la eclosión prematura del embrión. De acuerdo con Lubbock, en el caso de especies en que la larva se parece al

adulto (metamorfosis hemimetábola), como en las cucarachas, el embrión pasa dentro del huevo por todas las fases de desarrollo (protópoda, polípoda, oligópoda). En cambio, las especies con larvas vermiformes y estadio de pupa (metamorfosis holometábola), eclosionarían del huevo antes de completar el desarrollo que se observa en los hemimetábolos. Algunos autores, como Charles Pérez en 1902, calificaron dicha hipótesis como extravagante, pero Antonio Berlese la reelaboró en 1913, mientras que Augustus Daniel Imms le dio gran difusión en el ámbito anglosajón a partir de 1925 (véase Wigglesworth, 1954, lectura recomendada).

Según la teoría de la eclosión prematura, las fases ninfales de los hemimetábolos serían equivalentes a la pupa de los holometábolos. Para los detractores de dicha teoría, como Howard Hinton, el desarrollo postembrionario sería equivalente en hemimetábolos y holometábolos, de modo que la última fase ninfa hemimetábola sería homóloga a la pupa holometábola. Entre esas dos concepciones, se propusieron otros sistemas de homologación más o menos intermedios, como los de Poyarkoff en 1914 o de Heslop-Harrison en 1955 (véase Sehnal et al., 1996, lectura recomendada).

## 2. TIPOS DE METAMORFOSIS Y MARCO FILOGENÉTICO

Como hemos visto, no todos los insectos presentan un desarrollo postembrionario que pasa por transformaciones bruscas. Los más modificados son los holometábolos, que se corresponden con el clado monofilético Endopterygota (=Holometabola) (Figura 1). Los holometábolos eclosionan en forma de larva con una morfología bastante diferente a la del adulto, crecen progresivamente a través de mudas hasta llegar a la última fase larvaria, tras la cual sigue la fase pupal, a menudo quiescente y parecida al adulto, y la fase definitivamente adulta, con alas voladoras y genitalia completamente formada. En muchos casos, los primordios de órganos adultos se hallan en el interior de la larva en forma de los denominados discos imaginales, cuyo desarrollo completo y exteriorización se produce bruscamente en la transición metamórfica (1). Dentro de los holometábolos, la diversidad de situaciones respecto a la clase de discos imaginales que posea la especie (de alas, de patas, de genitalia) y el momento en que empiezan a detectarse, es notable (1) y requeriría de estudios en todos los grupos representativos para poder establecer regularidades consistentes. Los órdenes más conocidos de holometábolos son los coleópteros, los himenópteros, los lepidópteros y los dípteros. En algunos grupos las larvas cambian bruscamente la morfología de una fase a otra una o más veces antes de llegar a pupa. Se trata del fenómeno de la hipermetamorfosis. Los casos de cambios más drásticos se asocian con hábitos predadores muy especializados o con modos de vida parásitos. Existen ejemplos en algunos neurópteros (mantíspidos), algunos coleópteros (en melíidos, en ripifóridos y en algunas otras familias), en todos los estrepsípteros, en numerosos himenópteros, en algunos dípteros y en algunos ejemplos aislados de otros órdenes de holometábolos (Figura 1). El caso de los melíidos está bien estudiado morfológicamente y es espectacular (véase Sehnal et al., 1996, lectura recomendada).



**Figura 1. Filogenia de los hexápodos indicando los tipos de metamorfosis en los distintos taxa.** El grueso de las ramas indica en grado de robustez (de menor a mayor, líneas de puntos, líneas finas y líneas gruesas). La filogenia se basa en diversos autores a partir de la década de 2000, véase Grimaldi y Engel (2), y Kjer y colaboradores (3).

Los insectos hemimetábolos eclosionan en forma de ninfa con una morfología que es similar a la del adulto, y crecen progresivamente a través de mudas hasta llegar a la última fase, a la que sigue la de adulto, que tiene una morfología ligeramente diferente a la ninfa, sobre todo por la presencia de alas voladoras y una genitalia perfectamente formada. Los polineópteros y paraneópteros contienen los hemimetábolos más típicos (Figura 1) y los ejemplos más familiares se hallan en los ortópteros, los blátidos y los hemípteros. Determinados grupos de paraneópteros, como diversos tisanópteros y esternorrincos (aleiródidos y machos de algunos cóccidos), presentan un desarrollo básicamente hemimetábolo, pero en el que se

intercalan entre 1 y 3 estadios quiescentes que se parecen al estado de pupa de los holometábolos, y que algunos autores denominan desarrollo neometábolo (véase Sehna et al., 1996, lectura recomendada). Los odonatos y los efemerópteros constituyen sendos grupos monofiléticos, cuya metamorfosis sería del tipo hemimetábolo, pero con peculiaridades. En los odonatos, la ninfa es acuática y relativamente diferente del adulto, que es aéreo. En los efemerópteros, el desarrollo postembrionario transcurre por una serie de fases ninfales parecidas al adulto pero sin alas desarrolladas, la última da paso a la fase de subimago, con alas funcionales pero sin capacidad reproductora, y a ésta sigue el adulto, alado y reproductivo. Ese peculiar desarrollo ha sido calificado con el término de prometábolo (véase Sehna et al., 1996, lectura recomendada). Los hexápodos no insectos, los dipluros y los apterigotos (Figura 1) son ametábolos, eclosionan en forma de ninfa con la misma morfología que tendrá el adulto, y crecen durante toda su vida a través de mudas prácticamente sin experimentar cambios morfológicos. Incluso después de alcanzar el estado adulto, o reproductivo, pueden seguir mudando y creciendo, lo cual no sucede en los holometábolos y hemimetábolos.

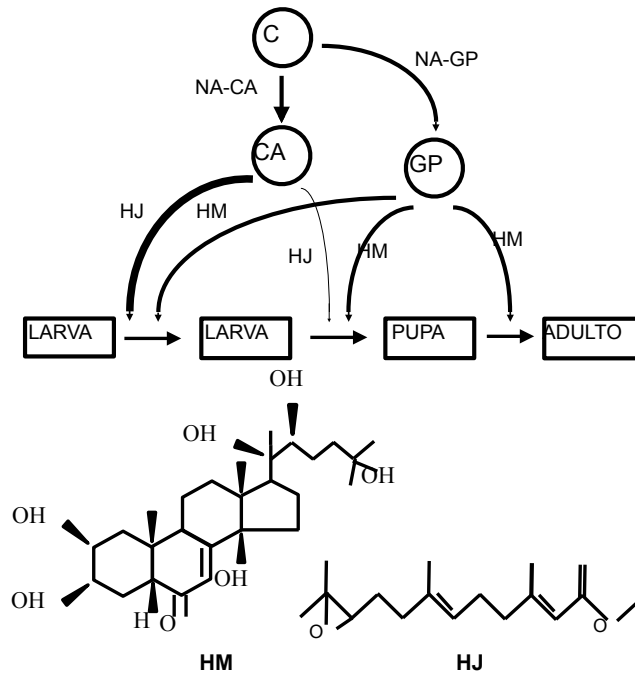
### 3. LA BASE ENDOCRINA

La información fundamental de la base endocrina de la metamorfosis fue establecida por Vincent B. Wigglesworth a partir de la década de 1930 (véase Wigglesworth, 1954, lectura recomendada). Los insectos, en virtud de tener un exosqueleto rígido, deben mudar para crecer, y la muda es la base de la metamorfosis, ya que las transformaciones se producen a través de las mudas. La hormona que induce la muda tiene una estructura ecdisteroidal y se produce en las glándulas protorácicas (Figura 2). Hacia el final de cada estadio juvenil, los niveles de producción incrementan rápidamente, alcanzan valores máximos y después decrecen, manteniéndose bajos hasta la próxima muda. Las diferentes partes del pico de ecdisteroides se corresponden con diferentes momentos del ciclo de muda. Así, los primeros momentos del incremento se corresponden con las mitosis y divisiones celulares que tienen lugar en las células epidérmicas, la mayor parte del pico se corresponde con la apólis, es decir, con la síntesis de la nueva cutícula bajo la antigua, y la parte final del pico coincide con la ecdisis, es decir, con el desprendimiento de los restos de la antigua cutícula o exuvia (4).

Después de la hormona de muda, la hormona más importante es la hormona juvenil, de estructura sesquiterpenoide y producida por las glándulas retrocerebrales denominadas corpora allata. Durante las mudas juveniles, los niveles de hormona juvenil son altos, y descienden bruscamente hasta hacerse indetectables en la fase preadulta (Figura 2). La hormona juvenil, pues, reprime la metamorfosis y su ausencia determina el paso a adulto (4).

La producción de ambos tipos de hormona está regulada por neurosecreciones de naturaleza peptídica. Además, existen otros péptidos que tiene un papel importante en la écdisis y en la esclerotización de la nueva cutícula. Sobre los mecanismos de acción de las hormonas ecdisteroidales se dispone de un cúmulo de información considerable, especialmente a nivel de su receptor, de los genes efectores y de los factores de transcripción que se sitúan

entre el receptor y los genes efectores. Los mecanismos de acción de la hormona juvenil son mucho menos conocidos, y no se conoce el receptor de la misma (4) (véase también Truman y Riddiford, 2002, lectura recomendada).



**Figura 2. Esquema clásico del control endocrino de la metamorfosis.** La hormona de muda (HM) induce las mudas sucesivas, y los niveles de hormona juvenil (HJ) determinan el carácter de ésta, larvaria (niveles altos), pupal (niveles bajos) o imaginal (niveles nulos). La HJ se produce en los corpora allata (CA) y la HM en las glándulas protorácicas (GP), en ambos casos bajo la influencia de neuropéptidos activadores (NA-CA y NA-GP respectivamente) originados en el cerebro (C) o en otras partes del sistema neuroendocrino. La HM tiene estructura ecdisteroidal y la HJ sesquiterpénica. Reproducido de Bellés (5).

#### 4. SENTIDO FUNCIONAL Y ORIGEN DE LA METAMORFOSIS

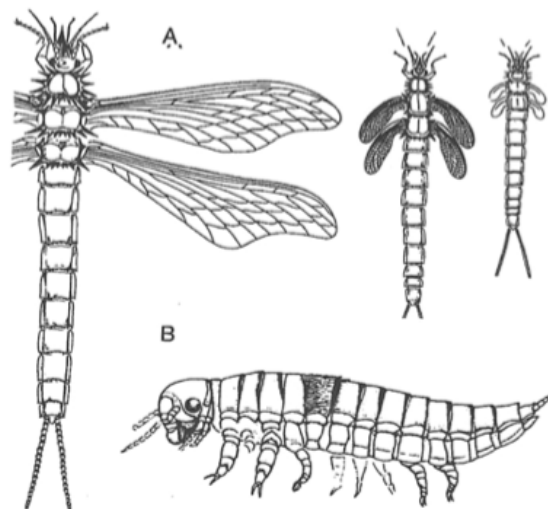
Los insectos, con casi un millón de especies descritas, y probablemente más de 10 millones por describir, es uno de los grupos animales que han experimentado mayor éxito evolutivo, y en ese éxito los holometábolos destacan del resto. Entre el 45 y el 60% de todas las especies que existen son insectos holometábolos. Si exceptuamos el medio marino, los insectos holometábolos han ocupado todo tipo de hábitats, desde la cimas de las más altas montañas hasta las simas más profundas en las entrañas de la tierra, y desde los territorios más gélidos hasta los desiertos más tórridos.

El éxito de los holometábolos ya sugiere que ese tipo de metamorfosis debe ser muy útil. El hecho de que las fases juveniles exploten unos recursos diferentes a los del adulto (por ejemplo, los mosquitos, con larvas acuáticas y filtradoras, y con adultos aéreos y hematófagos), hace que juveniles y adultos



de la misma especie no compitan entre sí. Ello confiere una importante ventaja y puede haber sido el motor evolutivo que ha conducido a la actual disparidad de formas y fisiologías dentro de la misma especie (véase Wigglesworth, 1954, lectura recomendada).

Los primeros insectos alados aparecieron en el Paleozoico. Los estratos del Carbonífero, hace unos 350 millones de años, aportan ya una diversidad notable de especies con alas funcionales. Los restos fósiles permiten saber que los primitivos apterigotos y los primeros insectos alados eran ametábolos (Figura 3). Hacia finales del Carbonífero e inicios del Pérmico, hace unos 300 millones de años, prácticamente todos los pterigotos presentaban un desarrollo postembrionario dividido en fases ninfales, transiciones metamórficas, y una fase adulta, es decir, se había producido la hemimetabolía. Los primeros fósiles de insectos que pueden considerarse holometábolos aparecen en estratos del Pérmico, hace unos 280 millones de años (Figura 3) (6). El registro fósil y la reconstrucción filogenética (Figura 1) nos sugieren que la innovación de la holometabolía solo se habría producido una vez.



**Figura 3. Fósiles de insectos.** A: Adulto y dos estadios larvarios de *Mischoptera* sp. (paleodictiopteroide del Carbonífero superior) que muestra un desarrollo amétabolo en individuos alados. B: Presunta larva de holometábolo, la más antigua que se habría descubierto, del Carbonífero superior. Reproducido de Kukalová-Peck (6).

De acuerdo con los estudios filogenéticos más recientes (Figura 1) (2-3), el grupo hermano de los endopterigotos (=holometábolos) sería el de los paraneópteros, cuyas especies son hemimetábolos pero incluyendo varios grupos con casos de neometabolía, es decir, un tipo de desarrollo postembrionario en el que se intercalan entre 1 y 3 estadios quiescentes que se parecen al estado de pupa de los holometábolos (véase Sehnal et al., 1996, lectura recomendada). Con lo cual, lo más parsimónico es pensar que los holometábolos se habrían originado a partir de ancestros hemimetábolos, y el caso de la hemimetabolía nos sugiere que la pupa podría no haber sido una innovación tan excepcional. A partir, pues, de una ninfa relativamente parecida

al adulto del ancestro de endopterigotos + paraneópteros, puede imaginarse una evolución holometábola que favorecería las modificaciones morfológicas y también fisiológicas que permitiesen explotar nuevos recursos. Que favoreciese, por ejemplo, los cambios conducentes a la transformación de una ninfa con patas y muñones alares en una larva vermiforme, ápoda y áptera, mucho más eficaz a la hora de hacer galerías en un fruto carnoso (como en una mosca de la fruta), o para vivir en el interior de otro insecto (como sucede en los himenópteros entomoparásitos), de modo que se optimizase el crecimiento. El adulto, en cambio, optimizaría la capacidad reproductiva; aparte de dotarse de la genitalia externa, ganaría movilidad al hacerse volador, facilitando así el encuentro de pareja.

## 5. TEORÍAS ACTUALES. NUEVOS RETOS

En los últimos tiempos, el concepto de equivalencia de las ninfas de hemimetábolos con las larvas y pupa de holometábolos defendido principalmente por Hinton, ha sido el más comúnmente aceptado. Sin embargo, la hipótesis de Lubbock y de Berlese de la eclosión prematura del embrión (o de la “desembrionización”, por usar la fea palabra que aparece en los trabajos anglosajones) ha experimentado una suerte de renacimiento gracias al enfoque endocrino que le han dado James Truman y Lynn Riddiford (7). Bajo ese enfoque, y en esencia, la hipótesis es que los hemimetábolos eclosionan tras tres “mudas” embrionarias, dando la ninfa parecida al adulto, mientras que los holometábolos eclosionarían tras dos “mudas”, dando la larva vermiforme, muy diferente al adulto. La hipótesis sigue siendo muy atractiva, por su simplicidad y aparente gran poder explicativo. Sin embargo, estudios ultraestructurales recientes basados en una buena representación de especies pterigotas (de efemerópteros, odonatos, plecópteros, neurópteros, coleópteros, lepidópteros, mecópteros y dípteros), indican que los insectos producen tres capas de cutícula sucesivas (tres “mudas”), y eclosionan en un estadio de desarrollo equivalente. Los dípteros ciclorrafos (las moscas, es decir, los dípteros más modificados, como *Drosophila melanogaster*, que es en la que tradicionalmente se han basado la mayor parte de los estudios experimentales), serían una excepción, ya que presentan dos cutículas embrionarias, seguramente por pérdida secundaria de la segunda (8).

Una primera consideración que puede hacerse es que resulta arriesgado generalizar partiendo de datos basados en unas pocas especies que no representen la gran diversidad morfológica y funcional de los insectos. Sobre todo si nos basamos en unos pocos modelos holometábolos considerablemente modificados, como lepidópteros y dípteros, que son sobre los que se han realizado la mayor parte de los estudios experimentales. No está claro que el enfoque endocrino aporte soluciones definitivas al problema del origen y la evolución de la metamorfosis, dado que la regulación hormonal acostumbra a ser muy plástica y proclive a exaptaciones y convergencias. Pero si se sigue ese enfoque quizá se debería insistir en dos frentes. En especies modelo de las que ya se dispone de notable información experimental, y que representen tanto a hemimetábolos (hemípteros, ortópteros, blátidos) como a holometábolos (dípteros, himenópteros, coleópteros, lepidópteros), sería conveniente comparar

los mecanismos de regulación hormonal a escala molecular que ocurren en las transiciones metamórficas y en las no metamórficas. En otro frente, se debería obtener una información de base (especialmente niveles de ecdisteroides y de hormona juvenil en el embrión y en las fases premetamórficas y metamórficas del desarrollo postembrionario) en una mayor diversidad de especies, en particular aquellos holometábolos que tienen las características más cercanas a las ancestrales (himenópteros, coleópteros), hemimetábolos de tipo neometábolo (tisanópteros), y hemimetábolos basales, en particular los paleópteros (tanto odonatos como, sobre todo, efemerópteros, de tipo prometábolo) (Figura 1).

También sería interesante estudiar las correlaciones endocrinas en las diferentes fases de las especies hipermetamórficas. En algún modelo de coleóptero melóido, por ejemplo, estudiar cómo se regula hormonalmente el paso sucesivo de larvas oligópodas a protópodas y de protópodas a oligópodas de nuevo, para dar finalmente la pupa y el adulto. De algún modo, la hipermetamorfosis compendia en una sola especie, en un solo individuo, casi todas las posibilidades de transformación metamórfica que se dan en a lo largo de la escala entera de los insectos, lo cual puede resultar muy práctico en términos de economía experimental. El caso de la hipermetamorfosis nos sugiere que quizá no sea necesario invocar una eclosión prematura del embrión para explicar el origen y la evolución de la metamorfosis. La explicación quizá se base en un juego de heterocronías, sobre todo en el desarrollo de alas y apéndices, cada una seleccionada ad hoc para lograr una mejor adaptación a diferentes modos de vida en diferentes estadios. En este sentido, el papel de los microRNAs, maestros en la organización de heterocronías, resulta otro aspecto relevante que convendría explorar más. Nuestros datos más recientes sobre este tema indican que los microRNAs son indispensables para que se produzca correctamente la metamorfosis, al menos en hemimetábolos (9).

En su relación del viaje en el Beagle, Charles Darwin nos cuenta que cuando llegó a San Fernando, en Chile, las autoridades habían arrestado a un tal Sr. Renous acusado de brujería, ya que conseguía transformar unos repugnantes gusanos en bellísimas mariposas (10). No era más que la persistencia del misterio de la metamorfosis llevado a un extremo raro de ignorancia. Mucho se ha avanzado desde entonces para desvelar ese misterio, que ha desconcertado a no pocos naturalistas incluyendo al propio Darwin. Sigue siendo un reto difícil, aunque las nuevas escalas moleculares de observación y las nuevas herramientas experimentales, auguran próximos debates estimulantes e iluminadores.

**6. AGRADECIMIENTOS** Se agradece al Ministerio de Ciencia e Innovación la financiación del proyecto consolider CGL 2008-03517/BOS para estudiar el papel de los microRNAs en la metamorfosis de los insectos.

## 7. REFERENCIAS

1. Svacha, P. 1992. What are and what are not imaginal discs: reevaluation of some basic concepts (Insecta, Holometabola). *Dev. Biol.*, 154(1). Pp: 101-117.

2. Grimaldi, D. and Engel, M. S. 2005. *Evolution of the insects*. Cambridge University Press, Cambridge.
3. Kjer, K. M. et al. 2006. A molecular phylogeny of Hexapoda. **Arthropod Syst. Phylogenet.**, 64. Pp. 35-44.
4. Nijhout, H. F. 1994. *Insect Hormones*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
5. Bellés, X. 1988. Las hormonas endocrinas de los insectos. En: *Insecticidas biorracionales*. (Bellés, X., ed.), Pp: 13-67. CSIC, Madrid.
6. Kukalová-Peck, J. 1991. Fossil history and evolution of hexapod structures. En: *The insects of Australia*. vol. 1. Pp: 141-179. Melbourne University Press, Carlton.
7. Truman, J. W. and Riddiford, L. M. 1999. The origins of insect metamorphosis. **Nature**, 401(6752). Pp: 447-452.
8. Konopova, B. and Zrzavy, J. 2005. Ultrastructure, development, and homology of insect embryonic cuticles. **J. Morphol.**, 264(3). Pp: 339-362.
9. Gómez-Orte, E. and Bellés, X. In press. MicroRNA-dependent metamorphosis in hemimetabolan insects. **Proc. Natl Acad. Sci. USA**.
10. Darwin, C. 1839. *Journal of researches into the geology and natural history of the various countries visited by H.M.S. Beagle under the command of Captain Fitzroy, R.N. from 1832 to 1836*. Henry Colburn, London.

## 8. LECTURAS RECOMENDADAS

- Wigglesworth, V. B. 1954. *The physiology of insect metamorphosis*. The University Press, Cambridge.
- Sehnal, F. et al. 1996. Evolution of insect metamorphosis. En: *Metamorphosis*. (Gilbert, L. I. et al., ed.). Pp: 3-58. Academic Press, San Diego.
- Truman, J. W. and Riddiford, L. M. 2002. Endocrine insights into the evolution of metamorphosis in insects. **Annu. Rev. Entomol.**, 47. Pp: 467-500.

---

## 4.2

### **Evolución y Desarrollo: Mutantes y Genes Heterocrónicos en *Drosophila***

**Julián Mensch, Nicolás Lavagnino, Valeria Carreira, Esteban Hasson y Juan José Fanara**

*Departamento de Ecología Genética y Evolución. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Ciudad Universitaria - Pabellón 2. C1428 EHA Buenos Aires. Argentina.*

*“Como el estado embrionario de cada especie o grupo de especies nos revela parcialmente la estructura de sus ancestrales progenitores menos modificados, podemos ver con claridad por qué las formas de vida antigua y extintas se asemejan a los embriones de sus descendientes, nuestras especies actuales”. El Origen de las Especies. Charles Darwin.*

#### **RESUMEN**

El mismo Darwin advirtió sobre la utilidad de los estudios embriológicos, no sólo por su contribución al conocimiento de los diferentes estadios del desarrollo que constituyen los complejos ciclos de vida de los organismos, sino porque además ese proceso resultaría un reflejo de la historia evolutiva de los diversos linajes animales. En la actualidad, con la misma lógica, la biología evolutiva del desarrollo (*evo-devo*) investiga cómo las modificaciones en los procesos ontogenéticos condujeron a la presente diversidad biológica. Desde Darwin el concepto de heterocronía vincula los procesos de ontogenia y filogenia. En este artículo revisaremos brevemente los cambios que sufrió el concepto de heterocronía en los últimos 150 años, concluyendo con su interpretación a nivel genético y celular basada en un estudio actual en el cual se procedió a la identificación y caracterización de mutantes y genes heterocrónicos en *Drosophila melanogaster*.

#### **1. INTRODUCCIÓN**

**1.1 Haeckel: el origen de la heterocronía.** En su intento por interpretar a los procesos naturales de una manera holista y unificadora, el biólogo alemán Ernst Haeckel planteó a mediados del siglo XIX un vínculo directo entre la ontogenia y la filogenia. Haeckel (1) sostenía que "...Estas dos ramas de nuestra ciencia están vitalmente conectadas...La conexión entre ellas no es superficial, sino profunda, intrínseca y causal...". Su teoría de la recapitulación plantea que los estadios juveniles de las especies descendientes constituyen una repetición rápida y condensada de las formas adultas de las especies ancestrales (2). En consecuencia, para los evolucionistas contemporáneos al embriólogo alemán, las semejanzas en las etapas embrionarias de diferentes especies, eran consideradas como evidencias de ancestralidad común. No es casual que Haeckel, haya sido quien diseminara las ideas evolucionistas de Darwin en

Alemania y uno de sus más fervientes defensores. La recapitulación planteada por Haeckel, y otros autores alemanes de la época, sustentaba la unión entre la ontogenia y la filogenia de una manera causal y unidireccional: la filogenia era considerada el motor de la ontogenia, dejando a esta última en un *status* causalmente dependiente de la primera. De todas formas, no era desconocido para el embriólogo alemán que, en varios casos, había excepciones a la teoría recapitulacionista ocasionadas por alteraciones en la secuencia temporal de aparición de las diferentes características anatómicas durante la ontogenia. En este sentido, Haeckel acuñó el término *heterocronía* como un tipo de excepción *no* recapitulacionista a la relación entre la ontogenia y la filogenia. De esta manera en su primera concepción el término *heterocronía* representó la contracara del concepto de recapitulación. Si bien éste constituyó su primer significado, no sería el último.

Tras años de buena reputación, la teoría de la recapitulación se enfrentó a duras críticas provenientes de estudios que demostraban numerosas adaptaciones propias de los estadios juveniles que no resultaban ser un reflejo de los estadios adultos ancestrales (2). En otras palabras, el cuestionamiento apuntaba al planteo de Haeckel de que la ontogenia estaba subordinada a la filogenia. Más allá de las críticas, uno de los mayores logros que actualmente reconocemos del planteo recapitulacionista es que por primera vez se relacionaron dos niveles diferentes del tiempo biológico: el ontogenético y el evolutivo.

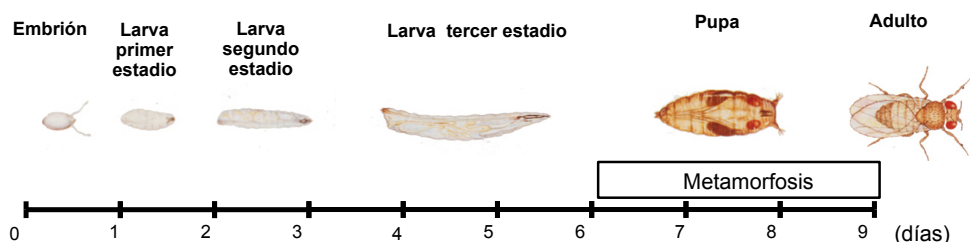
**1.2. de Beer: genes de desarrollo y heterocronía.** Ya en la primera mitad del siglo XX, en su serie de libros *Embriones y ancestros*, Gavin de Beer intenta desvincular el concepto de heterocronía de la idea de la recapitulación y demostrar cómo diferentes cambios en el tiempo de desarrollo podían generar cambios a nivel evolutivo (3). de Beer profundiza la idea de que las innovaciones evolutivas pueden ocurrir en cualquier etapa del desarrollo y de esta manera define a la heterocronía como el desplazamiento temporal de un determinado carácter en relación con el tiempo en que ese mismo carácter surge durante el desarrollo en la forma ancestral. En su intento de acercar la embriología comparada a la *síntesis evolutiva*, de Beer rechaza la relación causal entre la filogenia y la ontogenia, otorgándole un *status* independiente a esta última y destacando su importancia en la evolución de los organismos. Gargstang, contemporáneo de de Beer, sostuvo: “la ontogenia no recapitula la filogenia, la crea” (4). Bajo esta perspectiva, la filogenia dejó de considerarse como el motor de la ontogenia. de Beer fue el primero que postuló que los cambios en los genes que controlan la tasa de desarrollo de un individuo conducen a heterocronías y consecuentemente, a cambios morfológicos (5). Indudablemente, esta visión prioriza a la ontogenia como el factor responsable de las diferencias fenotípicas entre las especies, a través de la acción de los genes que gobiernan el desarrollo. Nuevos enfoques y metodologías surgirán a partir de esta redefinición de la heterocronía donde, por lo que entendemos, la transmutación del concepto ganó su significado moderno.

**1.3. Gould: el resurgimiento de la heterocronía.** Hoy, a más de treinta años de su publicación, podemos decir que el libro *Ontogenia y Filogenia* (2) de Stephen Jay Gould es un clásico de la literatura en temas de evolución y

desarrollo. Esta obra marcó un hito en la historia de la disciplina por varios motivos: 1) es una extensa y exquisita revisión de los estudios que unieron a la ontogenia y a la filogenia desde la época de Haeckel, 2) detalla la odisea (propias palabras de Gould) del concepto de heterocronía, 3) realiza una valiosa propuesta en relación a la integración de los caracteres de tamaño y forma de los organismos con el tiempo que les lleva en alcanzar el estadio adulto y 4) unifica los marcos conceptuales de la genética, la embriología, la fisiología y la paleontología.

Stephen Jay Gould y Pere Alberch centraron sus estudios en las heterocronías de crecimiento, y de esta manera restringieron el análisis al tamaño y la forma de la estructura estudiada, hecho que, desde entonces, asoció de manera directa a la heterocronía con la alometría. Sin embargo, existen modelos donde la medición directa del tiempo de desarrollo posibilita el estudio de las heterocronías sin la necesidad de cuantificar estimadores indirectos. En este sentido, en la siguiente sección mostraremos de qué manera el tiempo de desarrollo relativamente corto que presenta un organismo como *Drosophila melanogaster*, así como también la posibilidad de manipulaciones genéticas, permiten identificar y estudiar las bases genéticas de las heterocronías.

**1.4. Mutantes y genes heterocrónicos en *Drosophila melanogaster*.** El tiempo que le lleva a un organismo completar su desarrollo ontogenético y alcanzar la edad reproductiva es un carácter de gran importancia adaptativa, conocido como tiempo de desarrollo. Recordemos que la heterocronía según de Beer, resulta del desplazamiento temporal de un carácter en relación al momento del desarrollo en que ese mismo carácter surge en el linaje ancestral. Esta relación ancestro-descendiente, originalmente acuñada para establecer vínculos entre especies ancestrales y derivadas, la reinterpretaremos en términos genéticos. Según Moss (2007), los mutantes heterocrónicos pueden acelerar o retardar el desarrollo respecto del genotipo ancestral. En sentido amplio, consideramos que un mutante heterocrónico es aquel genotipo que cambia la duración del desarrollo ontogenético necesario para llegar a la edad reproductiva en relación al genotipo salvaje, en este caso genealógicamente ancestral.



**Figura 1.** Estadios del ciclo de vida de *Drosophila melanogaster* y duración de los mismos a 25°C.

El ciclo de vida de los insectos holometábolos (con metamorfosis completa), como *Drosophila*, comprende: una etapa embrionaria, una serie

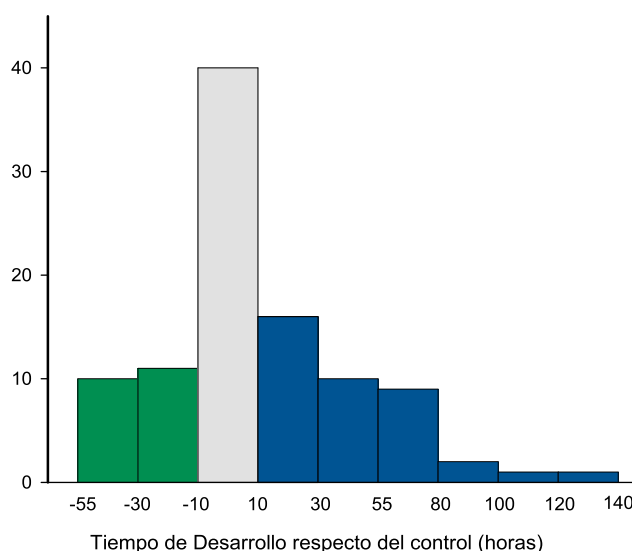
secuencial de estadios larvales, cuyo número es característico de cada especie, una etapa pupal y finalmente el estadio adulto (Figura 1). Aprovecharemos los discretos estadios del ciclo de vida de *Drosophila* así como también las facilidades en cuanto a manipulación genética que ofrece esta especie para estudiar la heterocronía a nivel genético y celular.

## 2. OBJETIVOS

Identificar y caracterizar mutantes y genes heterocrónicos utilizando líneas artificiales generadas por inserciones de elementos móviles en genotipos de *Drosophila melanogaster*. Investigar los procesos biológicos sobre los que intervienen los genes heterocrónicos durante la ontogenia.

## 3. RESULTADOS

Analizamos el tiempo de desarrollo de 179 líneas mutantes artificiales generadas por inserciones de elementos móviles en el genoma de *Drosophila melanogaster*, así como también el de una línea control, libre de inserciones. Todas las líneas estudiadas tienen el mismo fondo genético el cual es homocigótico para todos los genes. El estudio mostró que existe una gran variabilidad fenotípica para el tiempo de desarrollo entre las 179 líneas analizadas. Como se puede apreciar en la Figura 2, el tiempo de desarrollo no se diferenció del control en 72 (40%) del total de líneas analizadas (columna gris), mientras que en un número similar de líneas el tiempo de desarrollo se incrementó significativamente respecto del control (columnas azules).



**Figura 2.** Distribución del tiempo de desarrollo de líneas mutagenizadas respecto del control (sin mutación).



El restante 20% de las líneas mostraron una aceleración del tiempo de desarrollo respecto del control (columnas verdes). Al igual que en lo observado en experimentos de selección artificial donde la magnitud de la respuesta a la selección es menor en regímenes destinados a acelerar el desarrollo, encontramos el doble de mutantes que prolongaron el tiempo de desarrollo en relación al número de mutantes que lo aceleraron. Esta mayor proporción de líneas que aumentan el tiempo de desarrollo no es un patrón inesperado, ya que es razonable suponer que si una mutación tiene efecto sobre un carácter fenotípico relacionado con el *fitness* afecte al mismo mayoritariamente de manera perjudicial. Recordemos que, en este caso, se trata de mutaciones artificiales que no pasaron por el filtro de la selección natural. Si además, tenemos en cuenta que en insectos existe una relación inversa entre el tiempo de desarrollo y el *fitness* (6), no resulta llamativo que la mayoría de esta clase de mutaciones pérdida de función provoque una prolongación del carácter.

El número de líneas y consecuentemente de genes analizados representa una fracción reducida de los *loci* que forman parte de la totalidad del genoma de *D. melanogaster*. Sin embargo, al comparar el perfil funcional de los genes que formaron parte de la muestra analizada con la del genoma completo en base a los términos asociados de *gene-ontology* (GO), pudimos comprobar que los genes estudiados son una muestra representativa del genoma tanto a nivel de los diversos procesos biológicos donde intervienen, como en las numerosas vías de señalización de las que forman parte. Este resultado sugiere que la fracción del genoma evaluado en nuestro estudio es una muestra aleatoria de los procesos biológicos que realizan el conjunto de genes de *Drosophila*. Con relación a los genes heterocrónicos se determinó que los mismos tienen un perfil funcional similar al de la totalidad de la muestra analizada, y cumplen una amplia gama de funciones biológicas de acuerdo a su asociación con términos de GO (Tabla 1).

Procesos Biológicos	% de genes
Procesos metabólicos celulares	58
Desarrollo orgánico multicelular	40
Desarrollo de estructuras anatómicas	34
Regulación de procesos biológicos	32
Procesos de desarrollo celular	32
Comunicación celular	29
Reproducción sexual	18
Comportamiento	10
Respuesta al <i>stress</i>	10
Proliferación celular	10
Adhesión celular	10
Ciclo celular	8

**Tabla 1.** Frecuencia de los procesos biológicos relacionados a los genes heterocrónicos en base a su asociación con términos de gene-ontology (GO).

Entre las principales, el 58% de los genes heterocrónicos cumplen funciones relacionadas con procesos metabólicos celulares y el 40% están implicados en la ontogenia del organismo. No encontramos diferencias significativas entre los grupos de genes que aceleraron el tiempo de desarrollo respecto de los que lo retrasaron en cuanto a su asociación con términos de GO, lo que sugiere que las vías ontogenéticas responsables de ambos fenotipos heterocrónicos serían similares.

Las líneas en las cuales la inserción del elemento móvil interrumpió la secuencia nucleotídica de los genes *Merlin* y *Karl* mostraron los fenotipos más extremos del estudio, exhibiendo una reducción y un aumento de 2 y 4 días en relación al control, respectivamente. El gen *Merlin* (*Mer*), es un regulador negativo de la proliferación celular de los discos imaginales. Los discos imaginales constituyen tejidos indiferenciados en las etapas tempranas del desarrollo, los cuales durante la metamorfosis reemplazan a viejos tejidos específicos de la larva remodelando los órganos existentes y generando otros *de novo*, como las alas y los ojos. En este contexto *Mer* es específicamente un componente de la vía de señalización *Hippo*, la cual juega un rol fundamental en la regulación del tamaño de los órganos en crecimiento durante el desarrollo (7). Diversas evidencias experimentales sugieren que *Mer* controla el crecimiento tisular regulando la endocitosis de receptores de membrana celular en el epitelio de los discos imaginales. La inserción del elemento móvil en la línea estudiada, interrumpió la secuencia del exón 1 de *Merlin* generando una disminución en los niveles de ARN mensajero de ese gen en el estadio embrionario, en la larva de tercer estadio y en el adulto, no así en la pupa cuando se la comparó con el control (8). Estos antecedentes sugieren que el fenotipo heterocrónico de *Mer* se origina por disfunciones previas a la metamorfosis. Partiendo de esta hipótesis, para caracterizar en profundidad a este mutante de interés, medimos la duración de los estadios larvales y el pupal en *Merlin* y la línea control. En congruencia con los resultados de expresión, observamos que *Merlin* acelera significativamente el tiempo de desarrollo en la etapa larval ( $p < 0,0001$ ), estadio donde los niveles de ARN mensajero del mutante fueron inferiores respecto del control, mientras que no presenta diferencias en la duración de la pupa ( $p > 0,05$ ) momento del desarrollo donde los niveles de expresión no se diferencian de los del control. De esta manera, la regulación negativa que *Mer* ejerce sobre la proliferación celular en los discos imaginales previa a la metamorfosis, parece ser un mecanismo consistente con el menor tiempo de desarrollo que mostró el mutante. En cuanto a *Karl*, el mutante con mayor tiempo de desarrollo del estudio, el análisis de su secuencia nucleotídica sugiere que se trata de una proteína con unión a retinol, sin embargo no se conoce asociación clara con algún proceso biológico.

#### 4. CONCLUSIONES y PERSPECTIVAS

La cantidad de genes implicados en la expresión fenotípica de un carácter es uno de los determinantes de sus propiedades de variación, es decir, su potencial evolutivo (o *evolubility*). Nuestro estudio permitió identificar 107 mutantes heterocrónicos, en otras palabras, gran cantidad de genes potencialmente involucrados en la expresión fenotípica del tiempo de desarrollo,

hecho que destaca la amplia gama de potenciales cambios a través de procesos heterocrónicos en *Drosophila*. Los genes identificados están involucrados en vías directamente relacionadas con mecanismos de control temporal del desarrollo, como por ejemplo la vía de la ecdisona y la de la insulina (9) y componentes de vías no relacionadas al mismo. Una característica común a la mayoría de los genes heterocrónicos es su intervención en procesos del metabolismo celular. Si bien la tasa metabólica es un carácter de suma importancia para el desarrollo de un individuo, no forma parte de los caracteres generalmente estudiados en genética cuantitativa de *Drosophila* (como puede ser el mismo tiempo de desarrollo, el tamaño corporal del adulto o la viabilidad), posiblemente por su complejidad experimental. De acuerdo al perfil funcional de los genes de tiempo de desarrollo, nuestros resultados sugieren una asociación entre los procesos metabólicos, tanto a nivel celular como orgánico, y la duración del desarrollo. Es decir que los genes implicados en el metabolismo tendrían efectos pleiotrópicos sobre la duración del desarrollo. De estos resultados y de la gran variación genética observada, evaluamos que cambios en el metabolismo pueden tener importantes efectos en la modificación de la duración de un determinado proceso ontogenético en diferentes especies, convirtiéndose en un importante agente de cambio evolutivo. También, desde una perspectiva funcional y más aplicada, entendemos que una intervención en el metabolismo tendrá, seguramente, importante influencia sobre el tiempo de desarrollo. El patrón general observado podría ser sencillamente explicado si como consecuencia de una determinada mutación se observa una reducción de la tasa metabólica del organismo en desarrollo y como consecuencia de ello se produce un retraso en la duración del mismo. Sin embargo, nuestro estudio permitió identificar, también, mutantes heterocrónicos que aceleraron el desarrollo. La línea más rápida corresponde al mutante del gen *Merlin*, que es un regulador negativo de la proliferación celular en los discos imaginales de *Drosophila*. Es muy interesante notar que el ortólogo de *Mer* en humanos es un gen supresor de tumores conocido como *Neurofibromatosis Type 2 (NF2)* el cual está involucrado en la desregulación de la proliferación celular en patologías tumorales del sistema nervioso central (10). De esta forma, estos resultados invitan a profundizar el conocimiento de esta clase de mutantes, estableciéndose de esta manera el primer paso en la generación de modelos de estudio con perspectivas aplicadas.

La gran variación genética reportada en el presente estudio producto de mutaciones artificiales con efectos mayores sobre el tiempo de desarrollo nos permitieron conocer componentes de diferentes vías de señalización involucradas en la expresión fenotípica del carácter, aunque son poco informativas en relación al nivel de polimorfismo que tienen estos genes en la naturaleza, es decir su variación natural. ¿Los cambios naturales en el tiempo de desarrollo se dan mediante algunos de los mecanismos identificados? En otras palabras, ¿Las diferencias en el tiempo de desarrollo entre especies y/o individuos sometidos a diferentes condiciones ambientales son consecuencia de cambios en alguno de los genes identificados? Como primer paso tendiente a aclarar estas preguntas, actualmente nuestros esfuerzos están puestos en evaluar la existencia de variación genética natural de varios genes individualizados en el presente estudio, con el objetivo de analizar a través de

su patrón de variación la huella de la selección natural. La odisea de la heterocronía continúa.

**5. AGRADECIMIENTOS** Queremos expresar nuestro agradecimiento al revisor quien colaboró de manera significativa con la versión final del presente artículo. Asimismo, a todos los colegas del Laboratorio de Evolución de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires. Financiación: Universidad de Buenos Aires, CONICET y ANPCyT.

## 6. REFERENCIAS

1. Haeckel E. 1879. The evolution of man: a popular exposition of the principal points of human ontogeny and phylogeny. Appleton and Company.
2. Gould SJ. 1977. Ontogeny and phylogeny. Harvard University Press.
3. Smith KK. 2001. Heterochrony revisited: the evolution of developmental sequences. *Biol J Lin Soc.* 73: 169-186.
4. Garstang W. 1922. The theory of recapitulation: a critical re-statement of the biogenetic law. *J Lin Soc Lond Zool* 35: 81-101.
5. Brigandt I. 2006. Homology and Heterochrony: the evolutionary embryologist Gavin Rylands de Beer (1899-1972). *J Exp Zool. Part B: Mol Dev Evol.* 306B: 317-328.
6. Doynon J, Boivin G. 2005. The effect of developmental time on the fitness of female *Trichogramma evanescens*. *J Insect Science.* 5:4.
7. Hamaratoglu F, Willecke M, Kango-Singh M, Nolo R, Hyun E, Tao C, Jafar-Nejad H, Halder G. 2006. The tumour-suppressor genes *NF2/Merlin* and *Expanded* act through Hippo signalling to regulate cell proliferation and apoptosis. *Nat Cell Biol.* 8: 27-36.
8. Sambandan D, Yamamoto A, Fanara JJ, Mackay TF, Anholt R. 2006. Dynamic genetic interactions determine odor-guided behavior in *Drosophila melanogaster*. *Genetics.* 174: 1349-1363.
9. Shingleton AW, Das J, Vinicius L, Stern DL. 2005. The temporal requirements for insulin signaling during development in *Drosophila*. *Plos Biol.* 3: e 289.
10. Hariharan IK, Bilder D. 2006. Regulation of imaginal disc growth by tumor-suppressor genes in *Drosophila*. *Annu Rev Genet.* 40: 335-361.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Mensch J, Lavagnino N, Carreira V, Massaldi A, Hasson E, Fanara JJ. 2008. Identifying candidate genes affecting developmental time in *Drosophila melanogaster*: pervasive pleiotropy and gen-by-environment interaction. *BMC Dev Biol.* 8:78.
- Carreira V, Mensch J, Fanara JJ. 2009. Body size in *Drosophila*: genetic architecture, allometries and sexual dimorphism. *Heredity* 102: 246-256.
- Moss EG. 2007. Heterochronic genes and the nature of developmental time. *Curr Biol.* 17: 425-434.

---

## 4.3

### **Evolución de la Genitalia en *Drosophila***

**Ignacio M. Soto y Esteban Hasson**

*Departamento de Ecología Genética y Evolución. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.  
Universidad de Buenos Aires. Ciudad Universitaria - Pabellón 2. C1428 EHA Buenos Aires.  
Argentina*

#### **RESUMEN**

La genitalia masculina de los animales con fecundación interna es uno de los caracteres morfológicos con más altas tasas de evolución. Si bien es un fenómeno que ha suscitado mucho interés aún no están determinados todos los aspectos y procesos involucrados. En este trabajo revisamos y sintetizamos las últimas investigaciones en un grupo de moscas cactófilas neotropicales del género *Drosophila* como modelo de diversificación morfológica. Repasamos la importancia relativa de factores genéticos y ecológicos en la divergencia entre las especies y la variación dentro de cada especie en la morfología de la genitalia. La variación en la morfología genital del grupo responde tanto a factores ecológicos, como el cactus que sirve de sustrato de cría, como a factores genéticos tanto para el tamaño como la forma. Incluso, los patrones de variación específicos difieren entre especies muy emparentadas lo que indica una alta versatilidad y potencial evolutivo para la acción de procesos de selección directa como la sexual o a través de efectos indirectos por la evolución de otros caracteres relacionados.

#### **1. INTRODUCCIÓN**

Las diferencias entre especies e incluso entre individuos dentro de especies han llamado la atención de los naturalistas desde tiempos anteriores a Darwin. Aún las especies crípticas, que son indistinguibles en cuanto a su morfología general, pueden diferenciarse por sutiles diferencias, por ejemplo, a nivel de la morfología genital de los machos, que en la mayoría de los grupos animales es un carácter muy específico de cada especie.

La genitalia parece haber evolucionado a tasas más elevadas que la morfología general en muchos grupos animales, proveyendo una explicación para su especie-especificidad y, por lo tanto, de su uso como carácter diagnóstico que permite diferenciar especies. Sin embargo, a pesar de lo generalizado del fenómeno, los mecanismos evolutivos que gobiernan la divergencia genital permanecen entre los temas más intrigantes del laberinto que es el estudio del origen de nuevas especies o especiación (2, 4).

Se han propuesto tres grupos de hipótesis para explicar la evolución de la genitalia del macho, las cuales difieren en las fuerzas que gobernarían la evolución genital así como en la identificación del blanco de su acción: la hipótesis "llave y cerradura", la hipótesis de la pleiotropía y la de evolución por selección sexual (2).

La hipótesis “llave y cerradura” afirma que la genitalia masculina (llave) evoluciona por la presión de encajar correctamente en la genitalia de la hembra (cerradura). Como cualquier desvío morfológico repercute negativamente en la capacidad reproductiva del macho, los caracteres genitales se encontrarían sujetos a fuertes presiones que favorecen una forma o “promedio” en detrimento de fenotipos más extremos (selección normalizadora) y así maximizar el número de cópulas exitosas. Una predicción de este modelo es un desarrollo canalizado<sup>1</sup> del órgano y niveles de variabilidad fenotípica y genética muy limitados (2).

La hipótesis de la pleiotropía<sup>2</sup> presupone que la variación a nivel de la morfología genital es principalmente neutra (no afecta el éxito reproductivo de los portadores de variantes morfológicas de manera diferencial). Sin embargo, como la variación genital está genéticamente correlacionada con la morfología general del organismo y, dado que ésta está correlacionada con el éxito reproductivo (algunas variantes confieren mayor aptitud biológica), los cambios en los genes que la afectan la morfología general, también afectarán la evolución de la genitalia.

Bajo la hipótesis de la selección sexual, la variación en la morfología de la genitalia está relacionada de manera directa con el éxito en la fertilización. En otras palabras, los individuos portadores de ciertas variantes morfológicas serán capaces de fertilizar más hembras que los portadores de otras variantes. Así, la divergencia morfológica será una consecuencia de la presión de la selección sexual, por ejemplo por la mayor aptitud de algunos machos para conseguir parejas o porque las hembras eligen más frecuentemente un tipo de macho (4). Hoy por hoy, la selección sexual es la hipótesis más aceptada en términos generales dado que los modelos clásicos incluyen la coevolución entre caracteres masculinos y las preferencias sexuales de las hembras cuya retroalimentación positiva podría explicar las altas tasas de evolución (4).

No obstante, hay algunas cuestiones pendientes respecto al estudio de la evolución genital que impiden un examen crítico de las hipótesis propuestas. En primer lugar, son escasas las investigaciones que abordan el estudio de la variación intra-específica, lo cual entorpece la posibilidad de evaluar la predicción de la hipótesis “llave-cerradura” acerca del grado de variación fenotípica y genotípica. En segundo lugar, estudios recientes sugieren que, además de la influencia de la selección natural y la selección sexual, la morfología genital podría estar influenciada por factores ambientales. En otras palabras, un mismo genotipo podría producir diferentes fenotipos morfológicos cuando, por ejemplo, ha crecido en diferentes habitats, algo que se conoce como respuesta plástica (10 y referencias allí). Por este motivo, el estudio

---

<sup>1</sup> Canalización es la capacidad de un genotipo de producir el mismo fenotipo a pesar de la variación de su entorno

<sup>2</sup>Pleiotropía (del griego pleio, "muchos", y tropo, "cambios") es el fenómeno por el cual un gen o un conjunto de genes afectan el fenotipo a nivel de dos o más caracteres distintos no relacionados. Si la selección natural selecciona un rasgo controlado por un gen (o genes) con efectos pleiotrópicos, los otros rasgos parecerán también afectados por la selección.

conjunto de la variación intraespecífica y la divergencia interespecífica es el enfoque más apropiado para comprender cuál es la estructura genética subyacente a los caracteres genitales y cuáles son los procesos involucrados en su evolución (2).

**1.1. La genitalia en *Drosophila*.** La morfología genital de los machos en el género *Drosophila* provee un carácter clave para la identificación de las especies (9), aún en los casos de especies que han divergido recientemente y que son indistinguibles por su aspecto general (8). Lo poco que se conocía acerca de las bases genéticas de la divergencia genital se sustentaba en el estudio de una estructura denominada lóbulo posterior en el par de especies de reciente divergencia *D. simulans*-*D. mauritiana*. En este caso, las diferencias interespecíficas se deben a variantes alélicas alternativas, a nivel de muchos genes (poligenes), cuyos efectos fenotípicos son pequeños y aditivos. En términos técnicos se dice que la base genética de las diferencias morfológicas es poligénica y que los genes afectan de manera lineal y aditiva al fenotipo. Lamentablemente, estos resultados se han extrapolado a otras especies de reciente divergencia sin un cuerpo de evidencia robusto (Coyne & Orr 2004).

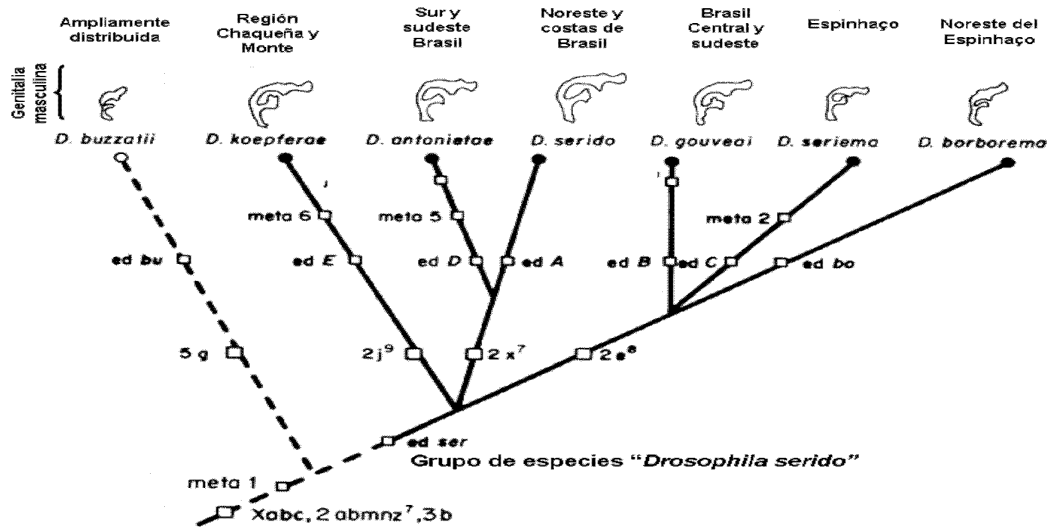
Sin embargo, nuevos estudios apuntan a un tipo de arquitectura genética más compleja de las diferencias en la morfología genital entre pares de especies cercanamente emparentadas. En efecto, estudios recientes en el par de especies Neotropicales, *D. koepferae* y *D. buzzatii* sugieren la participación de factores genéticos que tienen efectos grandes sobre la morfología genital que explican una importante porción de las diferencias interespecíficas (10 y referencias). Estos resultados ponen de manifiesto la necesidad de estudios adicionales para confirmar la generalidad de estas observaciones y establecer si diferencias genéticas simples son suficientes o si, por el contrario, la divergencia de una estructura compleja como la genitalia de los insectos implica cambios a nivel de genes con efectos mayores y no aditivos (Coyne y Orr 2004).

En este mismo sentido, un estudio realizado en las especies del linaje oriental del grupo *D. melanogaster* mostró: a) una rápida divergencia de caracteres entre especies cercanas, b) que estructuras similares se han originado de manera independiente en diferentes especies (evolución convergente) y c) pérdidas secundarias de caracteres sexuales (7). Estos autores resaltan la necesidad de determinar tanto si los paralelismos observados (origen de las mismas estructuras de manera independiente en diferentes especies) involucran bases moleculares y genéticas similares y/o si las observaciones podrían ser una indicación de factores que limitan, de alguna manera, los márgenes de variación del programa de desarrollo de los organismos.

Dado que el grado de divergencia entre dos linajes es función del tiempo transcurrido desde que han compartido el último ancestro común, el estudio de pares de especies de reciente divergencia permite acercarnos a conocer las bases genéticas de los cambios morfo-fisiológicos que acompañaron su origen. Esto es así porque en especies de reciente divergencia es muy probable que algunas de las diferencias que pueden observarse entre las especies hayan estado relacionadas causalmente con la especiación y porque el tiempo transcurrido desde que han compartido un ancestro común no ha sido suficiente

como para que se haya acumulado un elevado número de mutaciones que entorpezcan los estudios.

En el grupo *repleta* de *Drosophila*, el aspecto del órgano intromitente de la genitalia masculina (edeago; lat. *aedeagus*) es un carácter diagnóstico que, junto con un tipo particular de reordenamientos cromosómicos (inversiones del orden de los genes en los cromosomas), constituyen una guía para la identificación de especies (8). En este grupo *repleta* se encuentra un conjunto de siete especies originarias de las zonas áridas de América del Sur, que se alimentan y crían en tejidos necróticos de diferentes especies de cactáceas, que se denomina “cluster” (enjambre) *D. buzzatii* (8). Las relaciones evolutivas entre las especies del enjambre pueden inferirse a partir de la comparación del aspecto de la morfología genital de los machos. En este caso el enjambre puede dividirse en dos grupos principales: uno integrado únicamente por *D. buzzatii* que muestra marcadas diferencias cuali y cuantitativas respecto del resto de las especies (8, Figura 1). El segundo grupo, denominado serie de especies hermanas *D. serido*, incluye al resto de las especies, entre las cuales las diferencias genitales son, básicamente, cuantitativas. De hecho, cinco de ellas (*D. serido*, *D. koepferae*, *D. seriema*, *D. antonietae* y *D. gouveai*) eran consideradas, hasta hace poco tiempo, variaciones regionales de la misma especie: *D. serido* (8).



**Figura 1.** Árbol filogenético del cluster *buzzatii* basado en inversiones cromosómicas. **ed A–E:** morfotipos de aedeagos. **bu:** *D. buzzatii*; **bo:** *D. borborema*; **meta:** tipos de cromosomas metafísicos. Sobre los nombres de las especies se ilustran los contornos de los edeagos y se indica la distribución geográfica en Sudamérica. Figura modificada de Manfrin & Sene (2006)

En cambio, si las relaciones evolutivas se infieren en base a comparaciones de secuencias de ADN, *D. buzzatii* aparece como la especie hermana de *D. koepferae* y ambas separadas de las otras cinco (8). Esta



incongruencia tiene al menos dos explicaciones posibles, una de ellas es que la evolución de la genitalia se habría acelerado en la rama del árbol que conduce a *D. buzzatii*. La otra es que el parecido molecular entre *D. buzzatii* y *D. koepferae* podría ser consecuencia de eventos de hibridación (reproducción entre individuos de especies diferentes), actuales o históricos. Incidentalmente, el hecho que estas especies coexistan en gran parte de su área de distribución, abre la posibilidad de eventos de hibridación que habrían conducido al intercambio de material genético (flujo génico) entre ellas. Recientes estudios de variación molecular a nivel de genes nucleares muestran evidencias compatibles con la hipótesis del flujo génico entre especies (3), sin embargo, por el momento, no podemos dilucidar (ante la falta de datos de genomas completos) si la huella del flujo génico está restringida, únicamente, a los genes estudiados o si se extiende al resto del genoma.

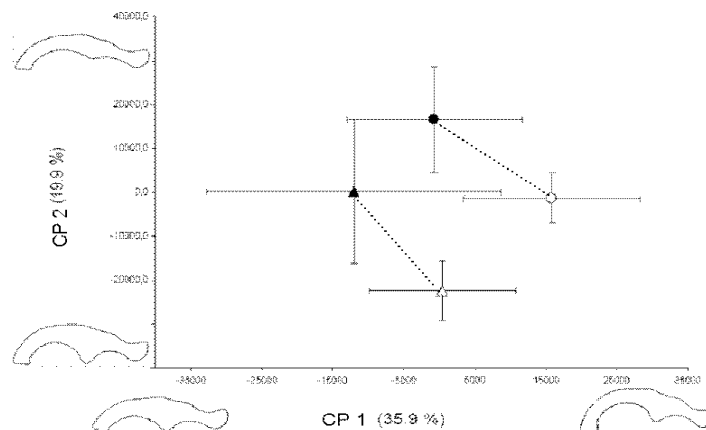
## 2. RESULTADOS

Con el objeto de establecer las bases genéticas de la variación en la morfología de la genitalia y los mecanismos que han gobernado su evolución investigamos la importancia relativa de factores genéticos y ecológicos sobre la divergencia interespecífica y la variación intraespecífica en la morfología de la genitalia en dos pares de especies: *D. koepferae/D. buzzatii* y *D. antonietae/D. gouveai*. Las primeras han divergido hace aproximadamente 4 millones de años (4 Ma), en tanto que el tiempo de divergencia entre los miembros del segundo par es menor a 2 Ma (Hasson *et al.* 2009).

Nuestro diseño experimental consistió en la cría de moscas de varias familias derivadas de hembras fecundadas colectadas en el campo (isolíneas) de las 4 especies, desde el primer estadio larval hasta la emergencia de las pupas de las moscas adultas, en medios preparados con tejidos fermentados de cactáceas que, típicamente, cada uno de los dos pares de especies utilizan en sus ambientes naturales como sustratos de cría y alimentación. En el caso de *D. buzzatii/D. koepferae* los medios se prepararon con la tuna *Opuntia sulphurea* (el hospedador preferido por la primera) y el cardón *Trichocereus terscheckii* (hospedador preferido de la segunda). En el caso del par *D. antonietae/D. gouveai* los medios se prepararon con tejidos de *Cereus hildmaniannus* y *Pilosocereus machrisii* hospedador de la primera y la segunda, respectivamente (ver Hasson *et al.* 2009 para más detalles). En este contexto, las diferencias entre familias dentro de cada especie permiten estimar los efectos de factores genéticos involucrados en la determinación del carácter, dado que los individuos de la misma familia se parecen más entre sí (debido a tienen un mayor parecido genético) que con respecto a individuos que pertenecen a otras familias. A su vez, las comparaciones entre individuos de una misma especie criados en medios preparados con hospedadores distintos nos permiten conocer la magnitud de los efectos del ambiente de cría sobre la variación fenotípica del carácter bajo estudio.

Nuestros resultados mostraron que tanto el tamaño como la forma del edeago varían dentro de las 4 especies y que una importante fracción de esta variación se debe a las diferencias entre las familias (genotipos) dentro de cada especie. Esto último, bajo nuestro diseño experimental, indica que en las cuatro

especies, si bien los patrones generales fueron especie-específicos y con algunas diferencias contrastantes, la variación intraespecífica en la morfología de la genitalia tiene un importante componente genético (10 y referencias). Asimismo, observamos que el medio de cría tiene importantes efectos sobre la morfología genital. Este fenómeno que implica la expresión de diferentes fenotipos por parte de un mismo genotipo en respuesta a la cría en ambientes diferentes se conoce como plasticidad fenotípica. En nuestro caso tres de las cuatro especies estudiadas mostraron un comportamiento plástico de la genitalia en respuesta a los cactus hospedadores, es decir que moscas de una misma especie criadas en distintos tipos de cactus exhibieron diferencias detectables en la morfología genital. Además, verificamos que las diferencias en la morfología genital entre genotipos no eran independientes del sustrato de cría. En otras palabras, los portadores de diferentes genotipos no responden de la misma manera a la exposición a hospedadores alternativos, indicando no solo variación en la magnitud y dirección de la respuesta plástica sino también que dicha variación tienen un componente genético, un fenómeno que se conoce como interacción genotipo ambiente (Conner & Hartl 2004).



**Figura 2. Plasticidad fenotípica de la morfología genital.** Conformación media e intervalos de confianza de dos variables morfológicas (componentes principales, CP) de los edeagos de *D. antonietae* (triángulos) y *D. gouveai* (círculos) en ambos hospedadores (símbolos llenos para *Cereus* y vacíos para *Pilosocereus*). La línea punteada representa la norma de reacción. Entre paréntesis se indica la proporción de varianza explicada. En cada eje se representa el cambio acaecido a lo largo del componente graficándose las formas correspondientes a los valores extremos del eje morfológico (Modificado de 10).

La única especie que no exhibió una respuesta plástica en la morfología genital fue *D. koepferae*. Esto sugiere que el desarrollo genital está más canalizado en esta especie, respecto, no solamente de su especie hermana, sino también del otro par especies analizadas. En cambio, las otras especies

mostraron un comportamiento plástico ya que el aspecto de la genitalia masculina varió entre moscas criadas en diferentes cactus hospedadores. Curiosamente *D. gouveai* y *D. antonietae* aportan interesantes perspectivas dado que poseen una morfología genital similar a la de *D. koepferae* (del “tipo” *D. serido* en el sentido que proponen 8) y, sin embargo, a diferencia de ésta, exhibieron plasticidad fenotípica (Fig 2) sugiriendo que el grado de canalización del desarrollo no es un atributo del “tipo” de edeago, sino una característica especie-específica. Si bien el tamaño y el aspecto genital fueron similares en *D. gouveai* y *D. antonietae*, estas difirieron en patrones de respuesta plástica. En términos generales, los machos de ambas especies presentaron edeagos de tamaño mayor cuando se desarrollaron en el hospedador *P. machrisii* respecto a los criados en *C. hildmaniannus*, aunque este incremento no fue de igual magnitud en ambas especies.

### 3. CONCLUSIONES

Hasta el presente hemos caracterizado los patrones de variación de la morfología (tamaño y forma) de la genitalia (órgano intromitente o edeago) en 4 especies del cluster *D. buzzatii*. Esta información permite, en principio, evaluar críticamente la plausibilidad de las hipótesis propuestas para explicar la evolución genital en nuestro modelo.

Si bien el modelo “llave-cerradura” es un concepto prácticamente superado, la idea de un fenotipo genital “fijo” para una especie, tal como postula dicho modelo, constituye una figura preconceptual fuerte. Nuestros resultados son contrarios a las predicciones en todas las especies estudiadas. La extendida variación tanto fenotípica como genética detectada para el tamaño y la forma genital, son suficiente evidencia para rechazar la hipótesis de “llave-cerradura”. A su vez, la correlación positiva que hemos observado entre el tamaño genital y el tamaño general del cuerpo en *D. buzzatii* (10) es compatible con la hipótesis de la pleiotropía que implícitamente supone, como dijimos previamente, que la variación genital sería básicamente neutra y estaría correlacionada con el tamaño corporal. Así la evolución genital en dicha especie podría ser una consecuencia indirecta de la evolución del tamaño general del cuerpo. En este sentido, el argumento se podría extender a *D. gouveai* y *D. antonietae*. Sin embargo, el desconocimiento de la relación entre el tamaño genital y el corporal impide avanzar más en esta generalización.

En relación a la hipótesis de selección sexual, nuestros resultados no nos permiten expedirnos, ya que debemos esperar los resultados de experimentos que nos permitan poner a prueba la hipótesis de la correlación entre la variación genital y el éxito reproductivo.

Uno de los aspectos más relevantes y sorprendentes, dada la expectativa de una fuerte canalización en el desarrollo de la genitalia y la distante relación (si existiera alguna) de la morfología genital con el aprovechamiento de los recursos, es la observación del efecto del ambiente de cría sobre los patrones de variación genital. Estos resultados se suman a observaciones en otros insectos como los mosquitos *Procladius choreus* y *Anopheles albimanus* en los que la morfología genital cambia de manera correlacionada con la estacionalidad (6) y con la temperatura a la cual se

desarrollan las larvas (5), respectivamente. En la chinche acuática *Gerris incognitus* se observó que ciertos caracteres morfológicos de la genitalia son plásticos y que uno de los factores que más afecta la morfología genital es el stress alimenticio (2). Esta y otras observaciones, llevaron a los autores a rechazar la hipótesis de “llave-cerradura”. Más específicamente, en *D. mediopunctata* se ha informado una respuesta plástica de la morfología del aedeago en respuesta a variaciones de la temperatura durante el desarrollo (1).

En los estudios reseñados en este trabajo, el efecto del ambiente se investigó a través del sustrato de cría (las plantas hospedadoras) que son el factor ambiental que, con certeza, más afecta los primeros estadios del ciclo de vida de las moscas. En este contexto, la morfología genital se suma a una extensa lista de caracteres (morfológicos y de historia de vida) que se sabe son afectados por la cría en distintos cactus hospedadores como la morfología alar, la viabilidad, el tiempo de desarrollo y la estabilidad del desarrollo (revisado en Hasson *et al* 2009). Finalmente, un tema a reflexionar es si nuestras observaciones en el cluster *D. buzzatii* pueden extenderse a otros grupos de especies cactófilas del grupo *D. repleta*. Por lo pronto, los estudios realizados en un enjambre de especies norteamericano denominado cluster *D. mojavensis* también apuntan a un papel crucial de los cambios de planta hospedadora en su divergencia y evolución (revisado en 9).

Finalmente, queremos destacar dos aspectos de la variación de la genitalia que ilustran, al mismo tiempo, constancia y versatilidad evolutiva. *D. koepferae*, *D. gouveai* y *D. antonietae* se incluyen en el “serido sibling set” debido a que comparten un mismo morfotipo genital. Una explicación plausible para esta constancia evolutiva podría deberse a lo que se denomina inercia filogenética<sup>3</sup>. En cambio, las tres especies muestran patrones contrastantes en términos de plasticidad fenotípica. Por un lado, *D. koepferae* se mostró como una especie no plástica, en tanto que las otras dos mostraron plasticidad fenotípica asociada al uso de recursos diferentes. Esto último parece reflejar versatilidad en el programa de desarrollo y apunta a distintos grados de canalización que habrían surgido con posterioridad a la divergencia de estas especies que forman parte de un grupo en activa especiogénesis.

**4. AGRADECIMIENTOS** Agradecemos la colaboración de M Manfrin, FF Franco, A Colleto, E Soto, V Carreira y JJ Fanara. Este trabajo fue financiado por la Universidad de Buenos Aires, CONICET, ANPCyT y CAPES/SECyT. Se agradecen las sugerencias de un revisor anónimo.

## 5. REFERENCIAS

1. Andrade CAC, Hatadania LM & LB Klaczko. 2005. Phenotypic plasticity of the aedeagus of *Drosophila mediopunctata*: Effect of the temperature. *J. Thermal Biol.* 30: 518–523

---

<sup>3</sup>Inercia filogenética: las características fenotípicas compartidas entre especies emparentadas son consecuencia de su ancestralidad común y no adaptaciones convergentes por estilos de vida similares.

2. Arnqvist G. 1997. The evolution of animal genitalia: distinguishing between hypotheses by single species studies. *Biol. J. Linn. Soc.* 60: 365-379.
3. Gómez G & E Hasson. 2003. Transespecific polymorphisms in the inversion linked Est-A locus in *Drosophila buzzatii*. *Mol. Biol. & Evol.* 20:410-423
4. Hosken DJ & P Stockley. 2004. Sexual selection and genital evolution. *Trends in Ecol & Evol* 19: 87–93.
5. Hribar LJ. 1996. Larval rearing temperature affects morphology of *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae) male genitalia. *J. Amer. Mosquito Control Assoc.* 12: 295–297.
6. Kobayashi T. 1998. Seasonal changes in body size and male genital structures of *Procladius choreus* (Diptera: Chironomidae: Tanyptodinae). *Aquatic Insects* 20: 165–172.
7. Kopp A & JR True 2002. Evolution of male sexual characters in the Oriental *Drosophila melanogaster* species group. *Evolution & Development* 4 278-291.
8. Manfrin MH & FM Sene. 2006. Cactophilic *Drosophila* in South America: A Model for Evolutionary Studies. *Genetica* 126: 57 – 75
9. Markow, T, & PM O'Grady 2006. *Drosophila: A Guide to Species Identification and Use*. Academic Press, London.
10. Soto IM, MH Manfrin and E Hasson 2008. Host-dependent phenotypic plasticity of male genital morphology in cactophilic *Drosophila*. *J. of Zool. Syst & Evol. Res.* 46: 368-373.

## 6. LECTURAS RECOMENDADAS

- Coyne J.A., Orr H.A. 2004. *Speciation*. Sinauer Associates. Sunderland, U.S.A.
- Conner, & D Hartl. 2004 *Ecological Genetics*. Sinauer Associates, Sunderland, MA, USA.
- Hasson E., I.M Soto, V. Carreira, C. Corio, E. Soto & M. Betti. 2009 Host plants, fitness and developmental instability in a guild of cactophilic species of the genus *Drosophila*. En "Ecotoxicology Research Developments". Nova Science Publishers

# 4.4

## Morfología Teórica y Evolución Morfológica

Miquel De Renzi

*Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva. Universitat de València. Apartado 22085. 46071 València.*

### RESUMEN

La morfología teórica tiene que ver con la posibilidad de reducir, con mínima pérdida de información, la complejidad de las formas de las estructuras orgánicas a un pequeño número de reglas geométricas simples, que constituyen la base para construir modelos de simulación. Aunque el término es antiguo (con precedentes durante el siglo XIX), en su sentido moderno se inicia con los estudios de David Raup sobre las conchas enrolladas isométricas. Por lo general, intenta simular la morfogénesis mediante tales modelos y definir morfoespacios teóricos basados en los parámetros de los mismos, lo cual permite explorar las reglas que rigen la forma de las estructuras y sus posibilidades evolutivas, así como las restricciones (*constraints*) de todo tipo que las afectan. Los modelos pueden ser cualitativos o cuantitativos. Este trabajo mostrará una visión general del tema y se centrará en el estudio de las conchas espirales alométricas.

### 1. INTRODUCCIÓN

Las actitudes hacia la forma orgánica han ido del puro adaptacionismo (todo se explica por adaptación y función) hasta el preguntarse por los mecanismos que las generan antes de cumplir sus funciones: no únicamente genes sino, y sobre todo, mecanismos epigenéticos. Estos últimos resultan de las propiedades físicas y químicas de los materiales empleados y de sus interacciones, por las cuales surgen fuerzas que dan forma a las estructuras orgánicas. Aristóteles (1), considerado como el primer biólogo, nos da su idea de causa y su metáfora de la escultura: la estatua es tallada mediante la fuerza que ejerce el escultor (causa *eficiente*) sobre el mármol o el barro (causa *material*), según un modelo (causa *formal*), y su *función* es el adorno de un edificio (causa *final*).

El adaptacionismo (causas finales) está en el inicio de la biología moderna con Georges Cuvier, pero su oponente, Étienne Geoffroy Saint-Hilaire, se decantó hacia las causas formales (“las formas orgánicas” había que verlas “como figuras geométricas”, resultantes del impulso de los elementos orgánicos a asociarse por “necesidades de posición”, el modelo y, por tanto, la causa formal).

La filosofía de Geoffroy influyó en el Darwin del *Origin*: en la unidad del plan de Geoffroy vio, en última instancia, una limitación (*constraint*) a la funcionalidad de las estructuras. El neodarwinismo prosiguió, no obstante, por

la vía adaptacionista, sin concebir posibles limitaciones. El paleontólogo alemán Adolph Seilacher (2), sin embargo, contempla el peso de la *historia filogenética*, que impone un modelo (causa formal), basado en la estabilidad (3) del desarrollo embrionario, y de lo que denomina *fabricación*: los materiales empleados (causa material) y morfogénesis en general; es decir, expresión génica y mecanismos epigenéticos (causa eficiente). Ambas limitan los aspectos funcionales y su optimización.

La ciencia de la forma, y más en paleobiología, exige modelos de simulación, que pueden ser físicos y simbólicos, sobre todo en lo referente a fabricación. En este último terreno tenemos toda una gama de modelos simbólicos que tratan con la geometría de la morfogénesis, el aspecto formal, cuyo germen se podría rastrear en Goethe y Geoffroy Saint-Hilaire. La geometría orgánica es, además, la traducción de las leyes de la física y de la química (piénsese en el *On growth and form*, de D'Arcy W. Thompson); se puede expresar cualitativamente (topología), o bien cuantitativamente (geometría analítica o diferencial). Estos aspectos geométricos están en la base de la morfología teórica.

## 2. OBJETIVOS

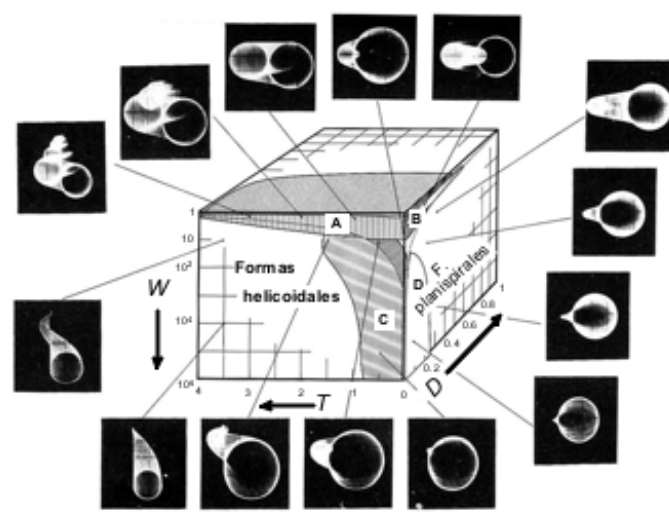
El paleontólogo David Raup habló por vez primera, en 1965, de morfología teórica en sentido moderno (4), con el objeto de comprender las conchas enrolladas isométricas, asimilables a un cono enrollado. Isometría significa que cualquier parte de la concha, mediante un aumento o disminución de escala, puede ser superpuesta con cualquier otra ( semejanza interna). Conchas como la de la actual *Turritella comunis* (gasterópodo), o las del *Nautilus* o muchos de los extintos ammonites (cefalópodos), son casi isométricas.

D'Arcy Thompson, en *On Growth and Form*, dio la idea: una superficie enrollada (concha) surge del giro, dilatación y desplazamiento de una curva generatriz alrededor de un eje de enrollamiento, lo cual se combina con la espiral equiangular o logarítmica, estudiada por el canónigo Moseley en el s. XIX. Éste la observó sobre planos perpendiculares al eje de enrollamiento (proyección de una vista de la concha o una sección de la misma). Posee semejanza interna, aunque no basta para el crecimiento isométrico.

El modelo de Raup (4; ver capítulo IV) muestra los propósitos de la moderna morfología teórica: la simulación simbólica de la morfogénesis y la generación de un *morfoespacio* definido por los parámetros implicados, que permite explorar las vías posibles e imposibles de la evolución morfológica. Las ecuaciones de Raup se dan en un sistema de coordenadas cilíndricas; los sucesivos incrementos del ángulo de giro simulan el proceso de crecimiento por acreción (añadir material en continuidad con el ya formado). Las ecuaciones describen cómo cada punto de la curva generatriz (c. g.) va girando alrededor del eje de enrollamiento y cómo la c. g. se distancia del mismo (en las conchas umbilicadas), o no; la trayectoria de cada punto es tal que, al proyectarla sobre un plano perpendicular a dicho eje, da una espiral equiangular. La c. g. se dilata isométricamente; es decir, no cambia de forma, la cual está definida por el parámetro fijo  $S$ . La tasa de expansión de la vuelta  $W$  (el cociente entre dos diámetros de dos posiciones consecutivas de la c. g. al girar una circunferencia

completa) es constante. Lo mismo ocurre con la distancia relativa  $D$  al eje de enrollamiento (el cociente entre las distancias mínima y máxima de la c. g. al mismo) y con la tasa de traslación  $T$  a lo largo de dicho eje; ésta es el cociente entre la longitud del desplazamiento del centro de la c. g. en el sentido del eje y la longitud de su desplazamiento perpendicular al mismo en un giro cualquiera. La constancia de estos cuatro parámetros asegura la isometría. Cuando  $D=0$  se obtienen los correlatos de las conchas no umbilicadas (la c. g. es continuamente tangente al eje); las conchas umbilicadas poseen  $D>0$ . Conchas como las de los *Nautilus* o los ammonites se denominan planiespirales. Se caracterizan por poseer  $T=0$ . Todas las demás ( $T>0$ ), son las conchas conispirales propias de los gasterópodos; v. g. *Turritella comunis*. Hasta aquí, la simulación geométrica de la morfogénesis.

El segundo aspecto a que se ha aludido es el de la generación y exploración de un morfoespacio o espacio de las formas posibles. El morfoespacio, en este caso, tiene cuatro dimensiones, definidas por los cuatro parámetros explícitos o implícitos en las ecuaciones:  $S$ ,  $W$ ,  $D$  y  $T$ . Fijada la forma de la curva generatriz; v. g. como circunferencia, se nos reduce a un espacio tridimensional en forma de bloque, en el cual se pueden representar todas las superficies helicoidales resultantes de combinar libremente todos los valores posibles de  $W$ ,  $D$  y  $T$  (Figura 1). Sin embargo, los correlatos reales sólo ocupan una pequeña porción de ese espacio. Se puede decir que las conchas univalvas (gasterópodos, ammonites; zonas **A** y **B** del bloque en Figura 1) se sitúan en la región de valores  $1 < W < 10$ , mientras que las conchas bivalvas (bivalvos, braquiópodos; zonas **C** y **D** del bloque) apenas solapan con las univalvas y sus valores caen en el intervalo  $10 < W < 10^6$ . Luego, no existe una distribución estocástica de posibles formas en una región más o menos estrecha, sino que univalvos y bivalvos se segregan.



**Figura 1. El modelo de Raup.** Los parámetros  $S$ ,  $W$ ,  $D$  y  $T$  son constantes. El parámetro  $S$  supone la forma de la c.g. circular. Modificado de Raup y Stanley (1971), *Principles of Paleontology*, W.H. Freeman and Company, San Francisco.



Raup halló para esto dos tipos de explicación. Las conchas univalvas tienen función protectora ( $W$  pequeña); los valores altos de  $W$  (alcanzar una gran abertura en un giro menor de  $360^\circ$ ), al contrario, restan eficacia, ya que el animal queda desprotegido en un espacio demasiado abierto. Las conchas bivalvas también son protectoras; para ello, su cierre ha de ser perfecto; además, se han de poder articular por un borde que quede libre (charnela). La articulación exige que las vueltas no se solapen. Geométricamente, esto se consigue a través de valores de  $W$  superiores a 10. Los valores altos de  $W$  se deben a la necesidad de una musculatura capaz de ejercer fuerza suficiente para accionar ambas valvas (cierre en los moluscos bivalvos; cierre y apertura en los braquiópodos), lo cual requiere músculos cuya sección aumente rápidamente al crecer.

Esto ejemplifica, pues, los objetivos de la morfología teórica moderna. Otra cosa es el tipo de modelo empleado. En este caso, se trata de un modelo cuantitativo, en tanto que hace uso de ecuaciones en coordenadas cilíndricas que permiten simular las superficies helicoidales mediante ordenador. El sistema de referencia es fijo (existe un eje de enrollamiento que lo determina); existen otros modelos con sistema de referencia móvil (4), que se basan en la geometría diferencial. Otros modelos cuantitativos simulan la traducción geométrica de presupuestos mecánicos y químicos en general. Este segundo nivel de modelos implica directamente limitaciones morfogénicas debidas a imposibilidades físicas y/o químicas. Un ejemplo es el de los modelos basados de reacción-difusión que darían razón, entre otros, de los patrones de coloración de pelaje en los mamíferos (5). Los modelos usan las ecuaciones diferenciales de difusión, que Turing ya concibió en 1952 (*The chemical basis of morphogenesis*), y concluyen cómo una cola, v. g. de guepardo, por su geometría, impide la formación de manchas en su extremo; en éste, sólo pueden formarse rayas, lo cual muestra las restricciones impuestas por el proceso.

Sin embargo, la morfología teórica no sólo hace uso de modelos cuantitativos. También maneja modelos cualitativos; es decir, basados en instrucciones del tipo “si se supera una distancia crítica, añadir un elemento” o en aspectos topológicos. En este terreno, podemos mencionar la ya clásica modelización de la filotaxis por Hofmeister, con sus reglas, o los modelos topológicos sobre la pelvis de los arcosaurios (6) basados en la teoría de grafos.

Ahora bien, el modelo de Raup se refiere al enrollamiento isométrico cuando, realmente, la alometría es lo más frecuente. Nos centraremos en la alometría de ammonoideos (7) y macroforaminíferos -protistas (8, 9)-, en un sistema de referencia fijo en coordenadas cilíndricas.

### 3. RESULTADOS

Ante todo, se va a introducir qué son las coordenadas cilíndricas (ver Figura 2A). Estas consisten en un sistema de referencia en el espacio tridimensional, que consta de una recta OR, a la cual se le traza por O una perpendicular, OY, que hace de origen de ángulos y está contenida en un plano que es perpendicular a OR. En la figura, este plano es perpendicular al del papel. El

punto O de intersección de ambas rectas constituye el origen. De esta manera, a un punto P le corresponderán las coordenadas cilíndricas  $(\theta, r, y)$ ; con  $\theta$ , el ángulo con respecto al origen de ángulos;  $r$ , la distancia a la recta OR;  $y$ , la distancia al plano perpendicular. Los puntos sobre dicho plano tienen  $y = 0$ . El plano con el origen y la recta OY constituye un sistema de coordenadas polares. A la proyección del punto  $(\theta, r, y)$  sobre dicho plano le corresponderán las coordenadas polares  $(\theta, r)$ . Para nuestros efectos, la recta OR coincidirá con el eje de enrollamiento.

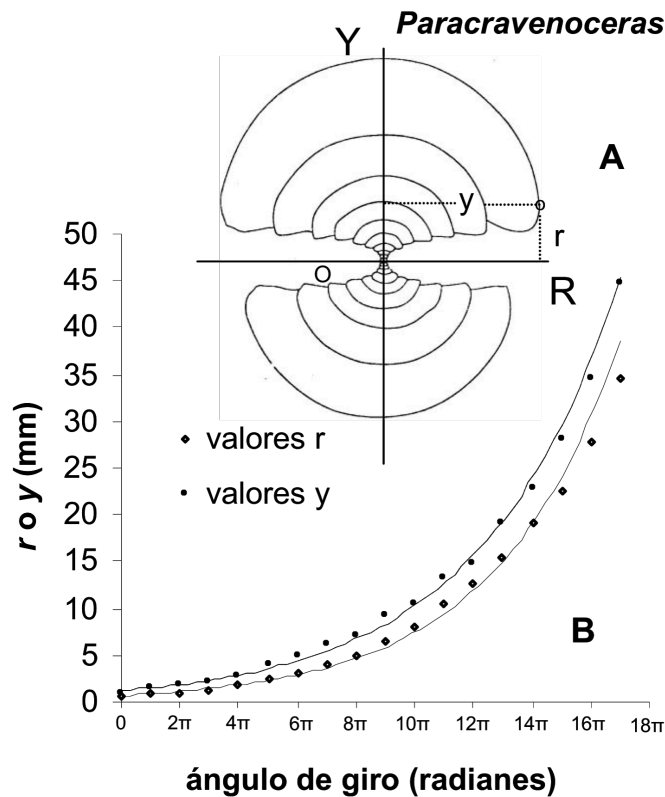
**3.1. Alometría en ammonoideos.** Vamos a desarrollar el modelo de Raup para conchas planiespirales ( $T=0$ ) isométricas, propias de una mayoría de ammonites, que será nuestro punto de partida. Partimos de una curva generatriz inicial plana; cualquier punto de la misma es tomado con  $\theta=0$ ; sus otras dos coordenadas son  $r_0, y_0$ . En un giro  $\theta$ , la curva se dilatará sin cambiar de forma ni desplazarse a lo largo del eje de enrollamiento, del cual sólo se alejará si se trata de una concha umbilicada. Las coordenadas de cualquiera de sus puntos sufrirán una transformación  $(0, r_0, y_0) \rightarrow (\theta, r, y)$ , que vamos a determinar. Para mantener la forma inicial; v. g. circunferencia, en cualquier giro, basta multiplicar por un mismo factor las coordenadas iniciales  $r_0$  e  $y_0$ . A dicho factor vamos a imponerle que sea una función creciente (a causa de la dilatación que experimenta la c. g.) de  $\theta$ . Además, vamos a especificar que sea de carácter exponencial  $e^{k\theta}$ . Por tanto, los puntos generarán una superficie helicoidal regida por las ecuaciones  $r = r_0 e^{k\theta}$  e  $y = y_0 e^{k\theta}$ . El motivo de la elección del factor exponencial es el siguiente: cualquiera de esos puntos va a describir una línea alabeada helicoidal que, al proyectarse sobre el plano que contiene el origen de ángulos, se ha de convertir, tal como se vio anteriormente, en una espiral equiangular, cuya expresión en el sistema de coordenadas polares  $(\theta, r)$  sobre dicho plano es justamente  $r = r_0 e^{k\theta}$ . Se puede demostrar que entre  $k$  y el parámetro  $W$  existe la relación  $W = e^{2k\pi}$  y, de acuerdo con esto, las ecuaciones se transforman en:

$$r = r_0 W^{\theta/2\pi} \quad (I)$$

$$y = y_0 W^{\theta/2\pi} \quad (II)$$

El carácter planiespiral de las superficies se consigue siempre y cuando exista por lo menos un punto de la c. g. con  $y_0 = 0$ , ya que de acuerdo con (II), la trayectoria de dicho punto siempre se mantendrá sobre el plano que contiene el origen de ángulos (los puntos de dicho plano cumplen  $y = 0$ ), lo cual da la superficie planiespiral. Se demuestra que ambas ecuaciones aseguran la constancia del parámetro  $D$ . Si las dividimos miembro a miembro, nos quedará la expresión explícita de la isometría:  $r/y = r_0/y_0$ .

Sin embargo, esta uniformidad de la dilatación no se mantiene biológicamente por simples razones mecánicas: el manto del molusco, responsable de la secreción de la concha, es una estructura hinchada por presión que se dilata progresivamente (10) y basta que no tenga un espesor uniforme para que se dilate más en unas direcciones que en otras y, en consecuencia, que la curva generatriz cambie de forma. La uniformidad, cuando se presenta, es tan sólo una aproximación más o menos ajustada.



**Figura 2. Alometría en *Paracravenoceras*.** **A.** Medidas tomadas en una sección axial (7); se efectúa en puntos homólogos de cada vuelta (punto marcado). Cada una de las vueltas representa un giro de  $\pi$  radianes alrededor de OR. **B.** Ajuste exponencial de  $r$  e  $y$ , que permite obtener  $W_r$  y  $W_y$ .

Estos problemas fueron tratados por Raup en varios trabajos iniciales. Él los resolvía mediante la conversión del parámetro  $W$  en una nueva variable, que cambiaba continuamente durante el crecimiento de la concha. Sin embargo, esto desvirtúa un tanto la noción de morfoespacio, basada precisamente en valores constantes de los parámetros, y no en que estos se conviertan en variables del crecimiento.

Una solución más realista (7,8) consiste en lo siguiente: introducir dos parámetros de expansión correspondientes a las direcciones OR y OY, a saber:  $W_r$  y  $W_y$ . De este modo, las ecuaciones (I) y (II) se convierten en:

$$r = r_o W_r^{\theta/2\pi} \quad \text{(III)}$$

$$y = y_o W_y^{\theta/2\pi} \quad \text{(IV)}$$

Si ahora eliminamos el ángulo de giro  $\theta$  entre (III) y (IV), se obtienen relaciones del tipo  $y=ar^b$ , que suelen ser frecuentes en los ammonites. El valor de las constantes viene determinado por:  $b=\ln W_y/\ln W_r$  y  $a=y_o/r_o^b$ . Además, la espiral logarítmica sigue apareciendo como proyección en planos perpendiculares al eje de enrollamiento, una cosa frecuente, que aquí se deriva

de la ecuación (III), equivalente a la (I). Dicha espiral, pues, no es condición suficiente de isometría, como ya se dijo antes.

Estos criterios han sido aplicados a *Paracravenoceras*, tal como lo figuró Raup en 1967 y tratado en (7). Para ello, se ha tomado la sección axial de la concha en el sistema descrito antes (Figura 2A). Esta sección muestra cortes de las curvas generatrices que se suceden cada 180°; es decir, cada  $\pi$  radianes. Las medidas  $r$  e  $y$  se toman para una sucesión de puntos homólogos (transformados del mismo punto inicial); la Figura 2A muestra un ejemplo: el punto más alejado de OY. Ambas medidas han de crecer exponencialmente con el ángulo, de acuerdo con (III) y (IV). Para el caso que nos ocupa (ver Figura 2B), los valores para  $W_r$  y  $W_y$  son, respectivamente, 1,53 ( $R^2 = 0,994$ ) y 1,6 ( $R^2 = 0,995$ ); en realidad, son proporcionales a dichos valores, pero no conocemos su valor real ya que Raup no dio la escala del dibujo de la sección que reproducimos. La relación alométrica es muy ajustada, con  $b = 1,11$  y  $a = 0,57$  (sólo  $a$  depende de la escala). Es decir,  $y$  crece con alometría positiva con respecto a  $r$ .

**3.2. Alometría en macroforaminíferos.** Los macroforaminíferos aquí estudiados presentan, cuando los vemos en su sección ecuatorial, una espiral cuyo paso de espira aumenta progresivamente con el ángulo de giro hasta que éste alcanza un valor determinado, a partir del cual dicho paso de espira comienza a decrecer progresivamente. Si medimos distancias al eje de enrollamiento y ángulos a partir del origen de ángulos, observaremos cualitativamente un aumento exponencial del radio vector con el ángulo que, a partir de un valor dado, comienza a amortiguarse para ir tendiendo asintóticamente a un límite (ver 9). Esto es característico de una curva logística y el ajuste a la misma lo confirma. Si en un caparazón del género *Alveolina* (Figuras 4.1 a 4.5) usamos una sección axial (del tipo de la que utilizábamos con *Paracravenoceras*), veremos que también la medida de  $y$  aumenta logísticamente con el ángulo, con muy buen ajuste (8, 9).

El modelo se expresa mediante dos ecuaciones logísticas. A fin de simplificar, las variables ( $r$ ,  $y$ ) las denominaremos indistintamente  $x$ , con lo cual una sola ecuación dará razón del comportamiento de ambas, ya que bastará con sustituir  $x$  por  $r$  o por  $y$  para obtener las dos ecuaciones. De esta manera se tendrá la ecuación logística:

$$x = x_m / [1 + v_{ox} \exp(-k_x \theta)] \quad (V)$$

con  $x_m$ , el valor asintótico de  $r_m$  o  $y_m$ ;  $k_x$  equivaldrá, según el caso, a  $k_r$  o  $k_y$ . Finalmente,  $v_{ox}$  es una condición inicial del tipo  $v_{ox} = (x_m - x_o)/x_o$ . De esta manera, hay cambio de forma, pero más complejo. Ahora el modelo está regido por estos seis parámetros; los parámetros de Raup pasan a ser variables y no se utilizan.

Estas ecuaciones dan buena cuenta de todas las morfologías posibles del enrollamiento de los caparazones de *Alveolina* (8). En este último trabajo, se estudia cinco morfotipos extremos (Figura 4): *Alveolina piper* **Hottinger** (forma esférica), *A. ellipsoidalis* **Schwager**, *A. corbarica* **Hottinger** (formas fusiformes), *A. moussoulensis* **Hottinger** y *A. oblonga* **D'Orbigny** (formas de

polos truncados). Se prescinde de una discusión de su valor taxonómico; únicamente interesa la generación geométrica de su enrollamiento. La Figura 3 muestra el buen ajuste de los valores  $(r, y)$  a sendas curvas logísticas para *A. piper Hottinger* ( $R^2$  vale, respectivamente, 0,993 y 0,99). Los parámetros de las dos ecuaciones son, respectivamente,  $r_m = 1,41$ ;  $y_m = 1,38$  (ambas en mm);  $v_{or} = 15,44$  y  $v_{oy} = 19,79$  (ambas adimensionales), y finalmente  $k_r = 0,075$  y  $k_y = 0,085$ , cuyas dimensiones se dan en radián<sup>-1</sup> (aquí se conoce el factor de escala).

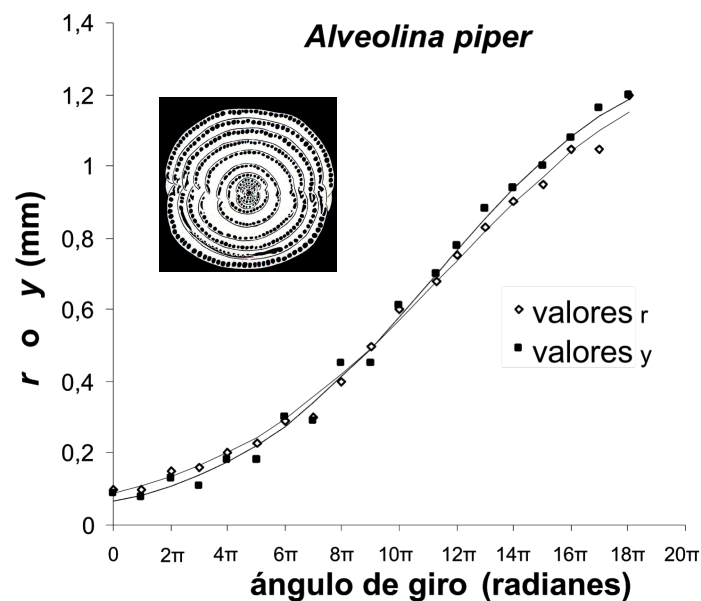
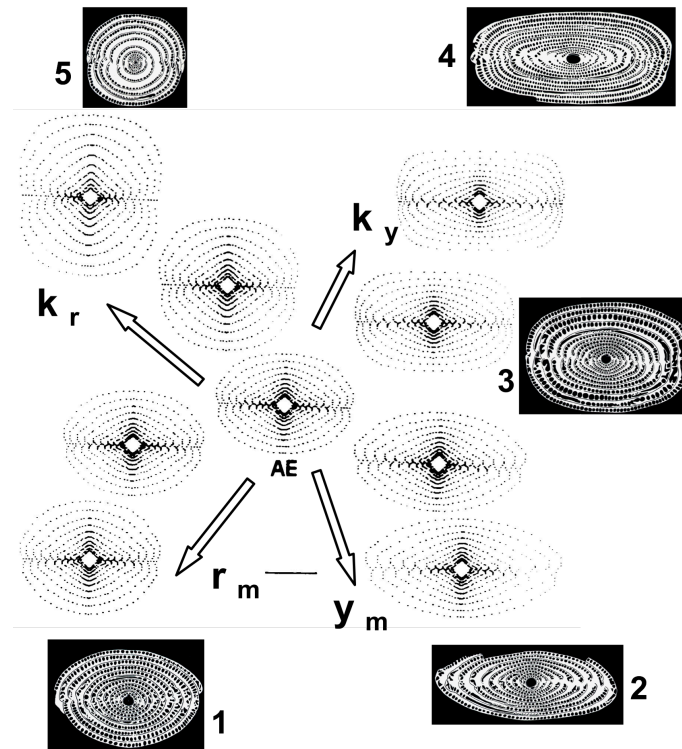


Figura 3. Coordenadas  $(r, y)$  en función del ángulo  $\theta$ , que obedecen a la ecuación logística (ver texto).

Sin embargo, el mayor interés del modelo es que podemos simular los morfotipos. Con este fin, se partió de una sección real de *A. ellipsoidalis* (ver Figura 4.1), cuyos parámetros básicos eran  $r_m = 2,24$ ;  $y_m = 1,69$ ;  $k_r = 0,039$  y  $k_y = 0,059$  (unidades como en el caso anterior). Con estos valores (y los correspondientes  $v_{or}$  y  $v_{oy}$ ) se puede simular el caparazón completo a partir de los puntos empíricos de la generatriz inicial, tal como muestra la forma AE, en el centro de la Figura 4. La misma figura nos muestra que al modificar los parámetros del modelo se obtienen los otros cuatro morfotipos, en principio tan diferentes. La aplicación se efectúa sobre los mismos puntos empíricos de la curva generatriz inicial de *A. ellipsoidalis*. Cada vía marcada por una flecha representa la modificación de uno de los parámetros, mientras que los demás permanecen con los mismos valores. Esto representaría una parte del morfoespacio de *Alveolina*.

Ahora bien, esto no tiene ningún significado filogenético. Sólo nos muestra la robustez del modelo para dar razón de la disparidad de enrollamientos en estos foraminíferos con sólo ligeros cambios de un parámetro (un pequeño incremento cada vez) dejando fijos los otros. Inversamente,

conocida la filogenia, se puede averiguar qué parámetros se han modificado. La forma de la curva generatriz inicial, aunque no se considera, influirá, a su vez, en el resultado final, por lo cual constituye un séptimo parámetro a tener en cuenta.



**Figura 4. Generación de un morfoespacio mediante modificación sistemática de parámetros.** Transformación del morfotipo simulado de *Alveolina ellipsoidalis* (AE, en el centro) en los otros cuatro morfotipos mediante incrementos sucesivos de  $k_r$ ,  $k_y$ ,  $r_m$  e  $y_m$ . Las secciones reales son 1. *A. ellipsoidalis*; 2. *A. corbarica*; 3. *A. moussoulensis*; 4. *A. oblonga*, y 5. *A. piper*. (según 8, modificado). La barra representa 1 mm y las simulaciones se han ajustado a los tamaños reales.

#### 4. CONCLUSIONES

La forma puede ser investigada en términos de las reglas geométricas que la rigen. Una vez establecidas, se puede obtener toda la gama de tipos morfológicos mediante cambios sistemáticos en los parámetros del modelo, que darán una secuencia de transformaciones: los tipos realizados por la evolución (como en el caso de las *Alveolina*) junto con los posibles pero no producidos a causa de limitaciones de todo tipo (el modelo de Raup). Los modelos de la física de la morfogénesis que impliquen como consecuencia dichas morfologías serán mucho más potentes, puesto que ciertas geometrías no podrán derivarse de los mismos, lo cual reflejará las verdaderas limitaciones morfogenéticas. Finalmente, de las realizables biológicamente, únicamente aquellas que sean aptas para sus funciones aparecerán en el morfoespacio correspondiente,

como ocurría con el modelo de Raup. Por todo lo dicho, se concluye que la morfología teórica es un instrumento relevante en el estudio de los mecanismos de la evolución morfológica, en tanto que esta última está sujeta a limitaciones tanto internas como selectivas. Esta ha sido, inicialmente, una aportación de la paleontología a la comprensión de la forma y su evolución.

**5. AGRADECIMIENTOS** Agradezco al Dr. Hernán Dopazo su amable invitación a participar en este libro. Este trabajo se ha podido realizar gracias al proyecto CGL2006-13808-C02-02.

## 6. REFERENCIAS

1. Nuño de la Rosa, L. **2005**. *Historia filosófica de la idea de forma orgánica. Del hilemorfismo aristotélico a la anatomía microscópica*. <http://www.gonzalezrecio.com/bionomos/index.html>.
2. Seilacher, A. **1991**. Self-organizing mechanisms in morphogenesis and evolution. En: *Constructional morphology and evolution*. Springer-Verlag, Berlin.
3. Alberch, P. **1980**. Ontogenesis and morphological diversification. **AMERICAN ZOOLOGIST**, 20. Pp: 653-667.
4. McGhee, G.R., Jr. **1998**. *Theoretical morphology: The concept and application*. Columbia University Press, New York.
5. Murray, J.D. **1981**. On pattern formation mechanisms for lepidopteran wing patterns and mammalian coat markings. **PHILOSOPHICAL TRANSACTIONS OF THE ROYAL SOCIETY OF LONDON**, B295. Pp: 473-496.
6. Rasskin-Gutman, D. and Buscalioni, A.D. **2001**. Theoretical Morphology of the Archosaur (Reptilia: Diapsida) pelvic girdle. **PALEOBIOLOGY**, 27(1). Pp: 59-78.
7. De Renzi, M. **1990**. La concha de los moluscos y su relación con el animal y con el medio. **IBERUS**, 9(1-2). Pp: 35-62.
8. De Renzi, M. **1995**. Theoretical morphology of logistic coiling exemplified by tests of genus *Alveolina* (larger foraminifera). **NEUES JAHRBUCH FÜR GEOLOGIE UND PALÄONTOLOGIE. ABHANDLUNGEN**, 195 (1-3). Pp: 241-251.
9. De Renzi, M. **1988**. Shell coiling in some larger foraminifera: general comments and problems. **PALEOBIOLOGY**, 14(4). Pp: 387-400.
10. Savazzi, E. **1995**. Theoretical shell morphology as a tool in constructional morphology. **NEUES JAHRBUCH FÜR GEOLOGIE UND PALÄONTOLOGIE. ABHANDLUNGEN**, 195 (1-3). Pp: 229-240.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Barabé, D. and Jean, R.V. **1996**. The constraints of global form on phyllotactic organization: the case of *Symplocarpus*. **JOURNAL OF THEORETICAL BIOLOGY**, 178. Pp: 393-397.
- Meinhardt, H. et al. **1998**. Models of pattern formation applied to plant development. En: *Symmetry in Plants*. World Scientific Publishing, Singapore.
- Müller, G.B. and Newman, S.A. (ed.) **2003**. *Origination of organismal form: beyond the gene in developmental and evolutionary biology*. The MIT Press, Cambridge, Massachusetts.

# 4.5

## Tamaño y Complejidad: Generalizaciones Evolutivas del Cambio Morfológico

Borja Esteve Altava y Diego Rasskin Gutman

*Grupo de Biología Teórica. Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva. Universidad de Valencia. Parc Científic Universitat de Valencia 46980. Paterna. Valencia. España.*

### RESUMEN

El concepto de cambio morfológico direccional jugó un papel clave en los orígenes de la teoría evolutiva. Su vigencia hoy en día se ha visto menoscabada por el neutralismo y el equilibrio puntuado, dos teorías procedentes de campos tan distantes como la genética de poblaciones y la paleontología. Sin embargo, el estudio del cambio direccional sigue contribuyendo de manera importante a la teoría evolutiva en su conjunto. La descripción y formalización de tendencias y patrones morfológicos direccionales a lo largo del proceso evolutivo ha estado tradicionalmente ligada al enunciado de leyes empíricas. Ejemplos de ello son la Ley de Cope de incremento de tamaño, la ley de Dollo de irreversibilidad, el establecimiento de las reglas de proporción alométrica, las reglas ecomorfológicas relativas al tamaño y a la superficie del cuerpo y las reglas de simetría o de repetición de segmentos corporales en la arquitectura animal. Las tendencias pueden generarse como resultado de la acción concertada de diversos procesos internos y externos. Entre los primeros destacan las consecuencias de las restricciones impuestas por el programa de desarrollo y el cambio en las tasas de desarrollo. Una hipótesis reciente identifica a la tendencia al aumento del tamaño corporal en algún momento de la historia evolutiva de un linaje como nexo de unión entre las distintas escalas de organización biológica. Según dicha hipótesis, las tendencias evolutivas se suceden dentro de un ciclo causal que liga la complejidad genómica y morfológica, el tamaño corporal y el tamaño poblacional. La acción concertada de estos tres factores integra a los procesos externos (procedentes del ambiente) e internos (como parte de la dinámica del desarrollo) como motores del cambio evolutivo.

### 1. INTRODUCCIÓN

**1.1. EL CONCEPTO DE DIRECCIONALIDAD DENTRO DE LA TEORÍA EVOLUTIVA.** La direccionalidad en el cambio evolutivo es un concepto que ha sido analizado tanto en el ámbito del cambio morfológico como del cambio molecular. Mientras que en el caso de la morfología las tendencias se han analizado empíricamente con anterioridad a la teoría evolutiva por selección natural de Darwin, el caso de la direccionalidad en el cambio molecular tendría que esperar hasta después de la teoría sintética, en la segunda mitad del siglo XX, una vez afianzadas las técnicas de biología molecular. En efecto, el concepto de direccionalidad ha estado relacionado con las ideas evolutivas desde el siglo XVIII, siendo este el eje principal de la teoría de Lamarck, quien



postuló la existencia de una tendencia progresiva directa en la producción de formas vivas cada vez más complejas, en lo que se conocía, desde Aristóteles, como la gran “cadena del ser”. En la teoría de Darwin, los cambios graduales y uniformes generan tendencias progresivas hacia un incremento de la adaptabilidad a lo largo de los linajes. Darwin recoge así tanto la idea de direccionalidad como la de progreso evolutivo, dotándolas de un mecanismo, la selección natural, que promueve una adaptación al medio cada vez más eficaz.

La existencia de un progresivo incremento de complejidad fue utilizada también por los defensores de la ortogénesis, hoy en día devaluada, que veían en el registro fósil una clara dirección en la evolución. Tanto en el lamarckismo como en la ortogénesis, las intuiciones acerca de la direccionalidad evolutiva aparecen por la fuerte unión entre herencia y crecimiento (desarrollo en términos actuales) que presentan ambas posturas. Esta visión de la herencia y el desarrollo como un todo en evolución permitía relacionar la dirección evolutiva y la herencia de caracteres adquiridos. No sería hasta principios del siglo XX cuando esta relación se disociaría, con la llegada de la teoría sintética de la evolución, mediante el establecimiento de los mecanismos genéticos de la herencia en el contexto evolutivo. Como consecuencia, el crecimiento y desarrollo de los organismos quedó relegado a una caja negra entre el genotipo responsable de la herencia y el fenotipo sujeto a selección natural, mientras que tanto el desarrollo embrionario como la direccionalidad dejaron de interesar a las teorías evolutivas entonces vigentes.

En este contexto, la visión gradual y uniforme de la dinámica evolutiva darwinista fue adoptada por la teoría sintética, dotándola de un mecanismo basado en el cambio de las frecuencias génicas dentro de una población. La noción de progreso fue substituida por la mejor o peor adaptación a un paisaje adaptativo siempre cambiante. Así, bajo el marco teórico de la teoría sintética, las tendencias macroevolutivas se entienden como una extrapolación directa de los procesos microevolutivos, es decir, los cambios que ocurren a nivel poblacional. Por ejemplo, la sucesión gradual de especies en un linaje (anagénesis) generaría una tendencia evolutiva siempre y cuando la presión de selección permaneciera constante en el tiempo.

Ya en el ámbito estrictamente molecular, a partir del desarrollo de la teoría neutralista de la evolución de Kimura, el fundamento molecular del cambio evolutivo direccional tuvo que ser revisado bajo un nuevo paradigma. Al introducirse el concepto de deriva génica como uno de los principales mecanismos evolutivos, la dinámica constante y aleatoria a nivel de los genomas, consistente en la acumulación de mutaciones neutras, pasó a ser el causante principal del cambio evolutivo. Una visión incompatible con el concepto tradicional de selección y evolución direccional. Desaparece aquí cualquier mecanismo activo para la generación de tendencias moleculares, quedando estas como anécdotas estadísticas improbables, lo que constituiría, por extrapolación, un desafío al concepto de direccionalidad evolutiva en general.

El segundo desafío al concepto de direccionalidad, también en la década de los años setenta del siglo pasado, provino del campo de la paleontología, cuyos datos se ajustan mucho mejor a un modelo saltacionista o puntuacionista. En este modelo de cambio evolutivo las especies muestran largos períodos de estasis morfológica seguidos de pulsos rápidos y cortos de

cambio, coincidiendo con los eventos de especiación. Según la hipótesis del Equilibrio Puntuado (1), los linajes no cambian sustancialmente durante su vida, permaneciendo en estasis o equilibrio morfológico, hasta que acontece un evento de especiación, especialmente en poblaciones periféricas (especiación peripátrida). Así pues, bajo este paradigma no pueden tener lugar tendencias anagenéticas en los linajes, y la inevitable direccionalidad gradual desaparece del escenario evolutivo. En cambio, aparece un nuevo sentido para las tendencias macroevolutivas. Las tendencias pasan a entenderse dentro de los procesos que dan origen a los grupos superiores (cladogénesis) durante sucesivos eventos de especiación.

Actualmente, los trabajos paleontológicos más recientes han puesto de manifiesto que las tendencias evolutivas, pese a ser poco frecuentes (entorno a un 5% del cambio evolutivo) están dispersas ampliamente en la historia evolutiva de muchos tipos de organismos. Además, el registro fósil presenta, por igual, tanto evidencia de evolución gradual como saltacional, con lo que las tendencias evolutivas aparecen tanto de un modo anagenético como cladogenético. Cabe destacar la mayor frecuencia de tendencias evolutivas relativas a cambios de tamaño, respecto a tendencias de cambio de forma (revisado en (2)). Así pues, si bien la importancia relativa en cuanto a la frecuencia del cambio direccional ha sido acotada por los estudios del registro fósil, la importancia evolutiva de las tendencias en caracteres clave, como pueda ser el tamaño corporal, sigue pendiente de análisis.

No obstante, las tendencias evolutivas han sido tradicionalmente relegadas de los estudios neodarwinistas, que enfatizaban la importancia de la velocidad del cambio evolutivo frente a su dirección. De un tiempo a esta parte, el interés por la direccionalidad del cambio evolutivo se ha reavivado, incrementándose la reflexión e investigación al respecto. Aún con el énfasis de la investigación empírica centrada en el estudio de los mecanismos genético-poblacionales, el efecto de los procesos internos del desarrollo sobre la evolución toma mayor fuerza como proceso causal de direccionalidad evolutiva (dando cabida, por ejemplo, a versiones modernas del lamarckismo basadas en mecanismos epigenéticos que actúan sobre el genoma). Una comprensión más precisa del cambio morfológico direccional requiere una reconciliación entre los mecanismos externos, basados en cambios del paisaje adaptativo y selección natural, y los mecanismos internos de cambio genómico y del desarrollo.

**1.2. TENDENCIAS EVOLUTIVAS Y LAS LEYES EMPÍRICAS DE LA EVOLUCIÓN.** Las tendencias evolutivas se caracterizan por una secuencia reconocible de eventos que cambian en una dirección dada, es decir, se trata de patrones direccionales. Podemos encontrar tendencias evolutivas a lo largo de todas las escalas de organización biológica, desde la escala molecular hasta la ecológica, pasando por la morfológica. Con todo, el nivel morfológico es especialmente importante en el análisis de las tendencias evolutivas, gracias a las posibilidades que ofrecen el estudio comparado del registro fósil así como la anatomía comparada de los grupos actuales. El estudio de estos patrones ha dado lugar al establecimiento de distintas leyes empíricas para explicar el cambio morfológico durante la dinámica evolutiva de un linaje; entre estas leyes destacan las reglas exponenciales de crecimiento, encapsuladas en las relaciones de alometría, las reglas ecomorfológicas del tamaño corporal, como

la regla de Bergman, o las reglas de simetría y repetición serial de los animales bilaterios.

Las tendencias alométricas son sin duda de gran importancia en la teoría evolutiva moderna, una pieza fundamental para los modelos cuantitativos en morfología. Propuestas por Snell en el siglo XIX y formalizadas por Huxley (3), la alometría relaciona cambios de proporción entre una característica fenotípica y una medida estándar como tamaño o masa corporal (cuando se estudia una serie ontogenética, la alometría muestra la relación entre crecimiento y cambio de forma diferencial). Estas tendencias dan lugar a leyes de escala (“*power laws*”) en donde una ecuación exponencial ajusta los datos empíricos. El valor del exponente es característico para cada tendencia (algunos son muy conocidos, como  $2/3$  para la superficie corporal y  $3/4$  para la tasa metabólica en mamíferos). Un modelo fractal que da cuenta de las relaciones alométricas en relación a los requerimientos energéticos fue propuesto por West y colaboradores (4) y supone uno de los modelos evolutivos más elegantes de la biología teórica.

Existen también generalizaciones evolutivas donde la complejidad, bien sea de las estructuras genómicas, celulares o morfológicas, juega un papel evolutivo importante. Con todo, las leyes empíricas más conocidas están establecidas a partir de generalizaciones evolutivas del cambio morfológico (figura 1).

**1.2.1. Origen interno de las tendencias evolutivas.** Entre las diversas clasificaciones que puede hacerse acerca de las causas del cambio evolutivo, la más inmediata es la que separa los procesos externos (procedentes del ambiente) de los procesos internos (presentes en los propios organismos). En organismos pluricelulares, los agentes internos proceden de la dinámica de desarrollo embrionario. Estos cambios de los procesos de desarrollo son una fuente de variación sobre la que posteriormente actúa la selección natural, a modo de filtro, conservando las combinaciones más aptas (5). Las restricciones del desarrollo pueden generar un cambio morfológico direccional ya que cualquier nuevo evento tiende a integrarse en el proceso de desarrollo y resulta difícil de eliminar con posterioridad. Esta dinámica de restricciones genera lo que ha sido denominado como afianzamiento del desarrollo (“*developmental entrenchment*” según Wimsatt (6)), lo cual sesga el camino a tomar por los linajes y, consecuentemente, la posibilidad de generar tendencias evolutivas. La estabilidad del desarrollo impone una pseudo regla de Dollo que reduce las probabilidades del cambio en contra de dicha dirección en el futuro, encauzando un cambio evolutivo direccional (una expresión de la teoría de canalización de Waddington).

Además de su papel canalizador, el desarrollo de los organismos es un proceso causal interno que da cuenta de innovaciones y tendencias evolutivas, mediante su reprogramación. Dos mecanismos juegan un papel fundamental en esta reconfiguración: la heterocronía y la heterotopía. Ambos están relacionados con el cambio temporal y espacial de los eventos embrionarios, aunque no es extraño que se den al mismo tiempo. El registro fósil nos muestra con frecuencia cómo estos cambios del desarrollo pueden dar lugar a tendencias evolutivas (7). La heterocronía es uno de los procesos internos que puede dar cuenta de muchas tendencias evolutivas, entre ellas el aumento de

Nombre	Tipo	Relación Empírica
Correlación y Subordinación de partes (Cuvier)	3	Posición de partes
Leyes de Alometría	3	Ratios de crecimiento entre partes
Leyes Biogénicas	1, 3	Filotipos y Filogenia
Leyes de Covariación de Buckman	2	Ornamentación y enrollamiento de las conchas y la presión
Ley de Kleiber	3	Ratio metabólico y tamaño
Ley de Williston	1	Número de homologías seriales
Principio de Conectividad (Geoffroy St. Hilaire)	3	Posición de partes
Regla de Allen	2	Superficie y latitud
Regla de Bergman	2	Relación entre la latitud y el tamaño corporal
Regla de Cope	1	Incremento del tamaño
Regla de Dollo	1, 3	Irreversibilidad de sucesos
Regla de Jordan	2	Relación entre temperatura y caracteres merísticos
Regla de Rensch	3	Tamaño y dimorfismo sexual
Regla de Simetría	3	Simetría de las partes
Regla de Tagmosis	3	Segmentos homólogos

**Figura 1. Generalizaciones Evolutivas del Cambio Morfológico.** Distintas tendencias evolutivas han sido recogidas como leyes empíricas de cambio morfológico en un sentido 1) evolutivo, cuando estas respondían a observaciones macroevolutivas entre taxones, 2) biogeográfico, cuando los patrones de forma o tamaño se correlacionan con tendencias ambientales según la distribución geográfica de los organismos, o 3) morfogenético, cuando las relaciones derivan de los procesos del desarrollo de los organismos.

tamaño corporal (también llamado hiper morfosis). Se define como un cambio en la velocidad o el momento en el que suceden los eventos del desarrollo, respecto al ancestro, lo cual resulta en paralelismos entre las trayectorias ontogenéticas y las filogenéticas. Esto sucede porque el ancestro y el descendiente comparten un patrón de cambio morfológico. Se trata de una causa potencial para el cambio evolutivo (recuérdese las relaciones alométricas), incluso cuando el orden relativo de los distintos eventos permanece inalterado. La heterotopía es un cambio evolutivo en el patrón espacial de los elementos del desarrollo sin que se vea afectado el número de elementos, en una especie de reconfiguración del orden de los elementos

embrionarios. Esta alteración en el posicionamiento de eventos puede tener un gran impacto evolutivo.

La relación entre la diversidad interna (medida como el número de tipos celulares distintos) y el tamaño corporal fue puesta de manifiesto por Bonner (8). Dicha relación puede asimismo generar tendencias evolutivas debido a que los organismos tienden a acumular variación de forma espontánea conforme evolucionan, y sus elementos internos se diferencian y tornan más complejos. Como veremos en el siguiente punto, un proceso análogo ocurre durante la evolución de los genomas que han aumentando su complejidad a medida que los individuos aumentaban su tamaño y reducían su población a lo largo de su evolución (2). En ambos casos existiría una relación entre fenómenos que generan direccionalidad evolutiva, cuyo actor principal es el aumento de tamaño corporal.

Por otra parte, las restricciones estadísticas han sido propuestas como un proceso causal para algunas tendencias evolutivas, como el incremento del tamaño en la famosa Ley de Cope. Dichas restricciones ocurren cuando un carácter dentro de un grupo se origina con valores cercanos al límite mínimo de su variabilidad dentro de un taxón, haciendo que dicho carácter tienda a aumentar simplemente por azar durante su evolución (9). Las restricciones estadísticas pueden ser mejor entendidas usando la metáfora de un proceso de difusión dentro del espacio que comprende a todas las formas posibles, también llamado morfoespacio teórico.

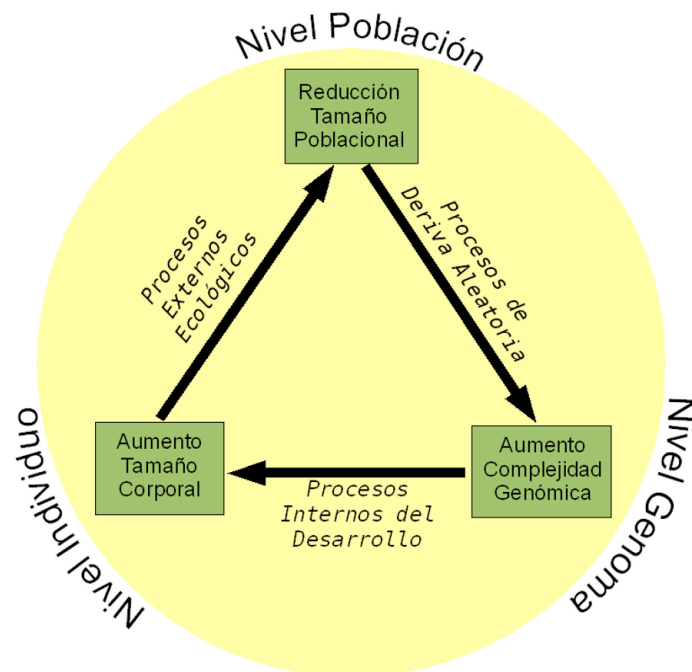
Sin embargo, las excepciones o tendencias inversas han sido también ampliamente documentadas, dando lugar a hipótesis de generación tanto por el ambiente como internamente. No debemos olvidar que incluso tendencias tan arraigadas como la Ley de Cope presentan conocidas excepciones bien caracterizadas, que han llevado a postular diferentes hipótesis sobre los patrones evolutivos direccionales en el aumento del tamaño (10).

**1.2.2. La hipótesis del tamaño como agente integrador.** El aumento del tamaño corporal es un rasgo favorecido por la selección natural bajo múltiples circunstancias ambientales, proceso que contribuye al origen del aislamiento reproductivo y a los posibles eventos de especiación. La variación del tamaño se asocia con el desarrollo de distintas variantes fenotípicas asociadas a distintas normas de reacción, pudiendo dar lugar a cambios cualitativos en la forma de los organismos. Además, el tamaño corporal se correlaciona, como hemos señalado, con el número de tipos celulares, es decir, la complejidad interna estructural de los organismos pluricelulares. Esta tendencia celular genera de forma inevitable, en términos macroevolutivos, nuevas oportunidades al desarrollo para explorar nuevas y más complejas morfologías.

La tendencia al aumento del tamaño corporal en algún momento de la historia evolutiva de un linaje puede actuar, según la hipótesis de Lynch y Conery, como nexo de unión entre las distintas escalas de organización biológica, permitiendo además, reconciliar los procesos internos y externos en la generación de las tendencias evolutivas (2).

El aumento del tamaño corporal desde la aparición de la vida multicelular se ha visto favorecido pasivamente, como hemos señalado, por procesos puramente estadísticos. Además, la selección natural favorece activamente el aumento del tamaño debido a sus múltiples ventajas ecológicas, como la

defensa frente a la depredación. Al mismo tiempo, un incremento del tamaño corporal se correlaciona con la reducción de los tamaños poblacionales, un proceso que resulta clave para entender la generación de genomas complejos por reordenaciones del genoma y duplicación de secuencias, debido al mayor impacto de los eventos estocásticos en poblaciones reducidas. Estos cambios genómicos abren nuevas vías de organización estructural y regulación espacial y temporal de los genomas durante el desarrollo, incidiendo en la evolución de los organismos complejos. La reducción de los tamaños poblacionales, como consecuencia del aumento del tamaño corporal, permite operar a los mecanismos de deriva génica acumulando gradualmente cambios genómicos sin función. Con el tiempo, alguno de estos elementos puede resultar funcionalmente beneficiosos y empezar a ser objeto de la selección natural (2).



**Figura 2. Esquema conceptual de la generación de tendencias evolutivas en el tamaño y la complejidad.** Los distintos niveles de organización biológica, genómico, individual y poblacional, forman un ciclo causal que permite a una tendencia evolutiva en el aumento de tamaño (generada por selección natural, simple restricción estadística o cambios en el desarrollo) dirigir una tendencia en el aumento de la complejidad del genoma. El afianzamiento de dicha complejidad genómica, en lo que atañe a los genes del desarrollo, refuerza a su vez el mantenimiento de la direccionalidad en el aumento de tamaño mediante restricciones del desarrollo. Se establece así un ciclo causal por el cual se relacionan, y se refuerzan, tanto procesos internos como externos. (Modificado a partir de Lynch y Conery, ver (2)).

La figura 2 muestra el esquema conceptual de la relación entre tamaño corporal, poblacional y complejidad genómica, según la hipótesis de Lynch y Conery.

### 3. CONCLUSIONES

La búsqueda de leyes de cambio morfológico ha llevado al establecimiento de generalizaciones evolutivas a partir de patrones direccionales observados empíricamente tanto en organismos extintos como actuales. El ejemplo paradigmático es el de la Ley de Cope, una generalización efectuada inicialmente a partir de datos de équidos cenozoicos que propone que los linajes, en general, tienden a aumentar su tamaño durante la evolución. En la actualidad, esta generalización morfológica ha sido contrastada con resultados tanto positivos como negativos, según el linaje específico en el que ha sido estudiada. Al enmarcar el análisis de las tendencias evolutivas en un contexto global de niveles múltiples de organización, es posible una nueva aproximación al problema de la evolución morfológica y la complejidad sin la pretensión de que dichas tendencias deban aparecer como necesariamente universales. En este sentido, la propia denominación de estas tendencias como “leyes” o “principios” resulta engañosa. Los fenómenos generalizables presentes en la naturaleza no son sino una manifestación de mecanismos que aparecen una y otra vez de manera recurrente en la historia evolutiva y cuya generalidad se apoya en las propiedades intrínsecas de la materia orgánica. Estas propiedades genéricas de las moléculas orgánicas, de las células y de los tejidos permiten la aparición de procesos que, a lo largo del tiempo, generan patrones morfológicos que pueden ser captados mediante el análisis comparado. Es quizás la ubiquidad de estas convergencias el rasgo más universal y característico del fenómeno evolutivo.

El tamaño corporal es un rasgo clave para entender los cambios morfológicos en la evolución de los seres vivos y su aparente aumento de complejidad a lo largo de la historia evolutiva. Los patrones direccionales de aumento de tamaño corporal se enmarcan dentro de las interacciones que se establecen entre los procesos externos, que lo favorecen a nivel poblacional a través de la selección natural, y de los procesos internos, que originan y afianzan dicho patrón a través de los mecanismos evolutivos del desarrollo. Además, esta tendencia al aumento del tamaño durante la evolución actúa como nexo de unión entre las distintas escalas de organización biológica. Por un lado, reduce el tamaño poblacional debido al rol que el tamaño corporal juega en la dinámica ecológica. Esta reducción poblacional da lugar a un mayor efecto de los procesos de deriva génica sobre el genoma, permitiendo aumentar su complejidad mediante distintos procesos de acumulación de cambios por reordenación o duplicación. A su vez, este aumento en la complejidad del genoma es aprovechado por los sistemas de desarrollo para la generación de nuevas morfologías. Así pues, vemos como una tendencia evolutiva en el aumento del tamaño individual puede actuar como causa de otras tendencias en distintos niveles de organización, como el aumento de complejidad genómica y, al mismo tiempo, facilitar la aparición de posibles innovaciones morfológicas.

El estudio de las tendencias evolutivas no debe circunscribirse únicamente a la descripción de patrones de biodiversidad, sino que debe convertirse en una herramienta para establecer las relaciones causales entre mecanismos evolutivos a distintos niveles. En este contexto, las tendencias evolutivas proporcionan un interesante punto de partida para el futuro

reconocimiento de tendencias macroevolutivas del cambio morfológico y su relación con los elementos que establecen la organización y la complejidad de la materia orgánica. La sola acción de la presión de selección no basta para justificar la aparición de convergencias morfológicas en linajes evolutivamente separados. La multiplicidad causal de la generación de estas tendencias hay que buscarla dentro y fuera del organismo, haciendo necesario apelar también a la acción de los procesos de desarrollo que mediatizan y sesgan las posibilidades de cambio a lo largo de la evolución.

**4. AGRADECIMIENTOS** Este trabajo se ha desarrollado en el marco del proyecto de investigación BFU2008-00643 del Ministerio de Ciencia e Innovación.

## 5. REFERENCIAS

1. Gould, S.J. and Eldredge, N. **1977**. Punctuated equilibria: the tempo and mode of evolution reconsidered. *Paleobiology* 3:115–151.
2. Rasskin-Gutman, D. and Esteve-Altava, B. **2008**. The multiple directions of evolutionary change. *BioEssays* 30(6):521–525.
3. Huxley, J.S. **1932**. Problems of relative growth. Methuen and Co. London.
4. West, G.B., Brown J.H., Enquist, B.J. **1999**. The Fourth Dimension of Life: Fractal Geometry and Allometric Scalling of Organisms. *Science* 284 (5420):1677–1679.
5. Maynard Smith, J., Burian, R., Kauffman, S., Alberch, P., Campbell, J., Goodwin, B., Lande, R., Raup, D. & Wolpert, L. **1985**. Developmental Constraints and Evolution. *Quarterly Review of Biology* 60, 265–287.
6. Wimsatt, W.C. **1977**. Von Baer's law of development, generative entrenchment, and scientific change. Paper presented at the Annual Meeting of the Western Division of the American Philosophical Association, April, Chicago.
7. McNamara, K.J. **2002**. Changing times, changing places: heterochrony and heterotopy. *Paleobiology* 28:551–558.
8. Bonner, J.T. **1988**. The evolution of Complexity by Means of Natural Selection. University Press. Princeton.
9. Stanley, S.M. **1973**. An explanation for Cope's rule. *Evolution* 27:1–26.
10. Jablonski, D. **1997**. "Body-size evolution in Cretaceous molluscs and the status of Cope's rule". *Nature* 385: 250.

## 6. LECTURAS RECOMENDADAS

- Gould, S.J. **1977**. Ontogeny and Phylogeny. Harvard University Press. Cambridge.
- McNamara, K.J. **1990**. Evolutionary Trends. University of Arizona Press. Tucson.





# Tema 5

---

## Ecología Evolutiva y Comportamiento



---

# 5.1

## Comunicación Animal: Un Enfoque Evolutivo

Enrique Font y Pau Carazo

*Unidad de Etología, Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva, Apdo. 22085, C.P. 46071, Universidad de Valencia, Valencia, España*

### RESUMEN

La mayor parte de las interacciones entre animales implican algún tipo de comunicación. Los resultados obtenidos durante las últimas décadas han dado lugar a importantes avances en nuestra comprensión de la comunicación animal. Las nociones simplistas y en parte inadecuadas de la etología clásica han dado paso a discusiones acerca de la posibilidad de que los animales practiquen la manipulación, la persuasión o el engaño. Los argumentos verbales de los primeros etólogos han sido sustituidos por sofisticados modelos matemáticos, muchos de ellos basados en la teoría de juegos. En este capítulo hacemos un recorrido histórico en el que repasamos, empezando con las contribuciones pioneras de Darwin, los distintos paradigmas que han guiado el estudio de la comunicación animal.

### 1. INTRODUCCION

El estudio de la comunicación animal ha sido tradicionalmente uno de los temas favoritos de los etólogos. Ello se debe a que algunos de los comportamientos más llamativos que exhiben los animales aparentemente funcionan como señales comunicativas. El canto de las aves, los sonidos que producen muchos insectos, la brillante coloración de las mariposas y de los peces tropicales, o las expresiones faciales de los primates son ejemplos fascinantes de comunicación animal que exigen una explicación. En un mundo en el que parece que lo mejor sería pasar desapercibido, muchos animales invierten considerable tiempo y energía en darse a conocer a los demás. ¿Por qué? ¿Qué ventajas tan importantes obtienen los animales de la comunicación que les empujan a abandonar, aunque sólo sea temporalmente, la cripsis y el camuflaje?

A pesar del interés que ha despertado y de los esfuerzos que varias generaciones de etólogos han dedicado a su estudio, la comunicación animal sigue encerrando un gran número de misterios sin resolver. De hecho, ninguna de las hipótesis de que disponemos actualmente es capaz de explicar la tremenda diversidad de colores, sonidos, olores, posturas y movimientos que distintas especies animales utilizan como señales en la comunicación (Figura 1). No obstante, en las últimas décadas se han producido importantes avances teóricos y el estudio de la comunicación ha madurado considerablemente desde el punto de vista conceptual, especialmente en relación a la evolución y las



**Figura 1. Movimientos de cabeceo en el lagarto *Liolaemus lemniscatus*.** Algunos lagartos se comunican mediante movimientos estereotipados de la cabeza o de la parte anterior del cuerpo.

funciones de las señales comunicativas. La tecnología disponible hoy en día nos permite especificar las características físicas y químicas de las señales y su relación con los sistemas sensoriales de los receptores de dichas señales con mucha mayor precisión de la que fueron capaces nuestros predecesores. Por otro lado, la aplicación de ideas procedentes de la teoría de la evolución ha permitido resolver viejos problemas a la vez que ha servido para identificar otros nuevos, contribuyendo a hacer de la teoría actual de la comunicación animal una teoría con tantos matices y sutilezas como las propias señales cuya existencia intenta explicar.

## 2. LA CONTRIBUCIÓN DE DARWIN

El punto de partida, como tantas otras veces en biología, lo encontramos en la obra de Charles Darwin. Darwin reconoció la importancia decisiva que tenía para el éxito de su teoría de la evolución conseguir demostrar que el fascinante y complejo comportamiento de los animales es, como los caracteres morfológicos, el resultado de la selección natural y no de la acción divina. Por ello dedicó un capítulo entero de *El Origen de las Especies* (1) al comportamiento animal, abordando temas como la existencia de castas estériles en los insectos o el fenómeno de las hormigas esclavistas con argumentos sorprendentemente modernos. Darwin demostró que el comportamiento es variable, adaptativo y heredable, y sugirió que para su estudio es necesario utilizar una metodología basada en la observación, la experimentación y el método comparativo. Además, puso de manifiesto las semejanzas entre el comportamiento animal y humano, abriendo la caja de

Pandora del debate 'instinto vs. inteligencia' y levantando vientos que aún siguen soplando con fuerza.

El interés de Darwin por la comunicación quedó reflejado en muchas de sus publicaciones. En *El Origen del Hombre* (2), por ejemplo, se ocupó de las señales que intercambian machos y hembras en el transcurso del cortejo. No obstante, la obra que para muchos marca el inicio del estudio moderno de la comunicación es *La Expresión de las Emociones en el Hombre y en los Animales* (3). El libro era en parte una respuesta al trabajo del fisiólogo escocés Charles Bell, que defendía que los músculos que empleamos en nuestras expresiones faciales son '*obras de un creador divino, destinadas a expresar los exquisitos sentimientos del hombre*'. Darwin describió las expresiones faciales que corresponden a distintos estados emocionales e hizo notar su semejanza con los comportamientos expresivos de los primates no humanos y de otros animales. Para Darwin, determinados gestos, posturas, y las vocalizaciones que a menudo los acompañan son la manifestación visible (externa) de estados internos como la rabia, el dolor, el miedo, o la alegría. Paradójicamente, Darwin consideró que aunque permiten identificar el estado emocional del animal que los exhibe, los comportamientos expresivos no son adaptaciones con una función definida, sino meros subproductos no adaptativos ('vestigios o accidentes') de la excitación que acompaña a las emociones.

Uno de los temas centrales de *La Expresión* era la idea de que las expresiones faciales que acompañan a las emociones 'básicas' son las mismas en todos los seres humanos, independientemente de su raza o cultura. Esta idea era muy importante para Darwin porque apoyaba sus argumentos sobre el origen común de las razas humanas y la continuidad evolutiva entre el hombre y otros animales. Durante más de un siglo después de *La Expresión* la cuestión de la universalidad de la expresión emocional humana fue objeto de un encendido debate que finalmente se resolvió a favor de las tesis de Darwin.

### 3. LA COMUNICACIÓN EN LA ETOLOGÍA CLÁSICA

Los primeros etólogos adoptaron con pocas modificaciones las ideas de Darwin acerca de la relación entre los comportamientos expresivos y el estado afectivo del emisor. Según la concepción etológica clásica las señales comunicativas están diseñadas para transmitir de forma eficaz información acerca del estado emocional o motivacional del animal que las emite (i.e. el emisor). Así, las señales harían pública información esencialmente privada, permitiendo a los receptores conocer la motivación y, por tanto, las intenciones del emisor. Un animal que emite una señal de amenaza, por ejemplo, estaría indicando a su adversario la probabilidad de un ataque inminente (4).

Una de las contribuciones más importantes de etólogos como Konrad Lorenz y Niko Tinbergen, galardonados con el premio Nobel en 1973 por su decisiva contribución al establecimiento de la etología como disciplina científica, consistió en señalar que los comportamientos que los animales utilizan en la comunicación han evolucionado a partir de otros comportamientos que originalmente no tenían una función comunicativa (el principio de las actividades derivadas). Muchas de las señales que utilizan las aves en el cortejo, por ejemplo, han evolucionado a partir de movimientos de

acicalamiento, alimentación, locomoción, termorregulación, etc. Entre los comportamientos que habrían servido como 'materia prima' para la evolución de las señales, se incluyen los movimientos de intención, actividades controladas por el sistema nervioso autónomo, y varios tipos de comportamientos que aparecen en situaciones de conflicto motivacional, es decir, en situaciones en las que el animal se encuentra motivado a realizar actividades incompatibles (la hipótesis del conflicto).

En el transcurso de la evolución la selección natural modifica estos comportamientos que inicialmente no tenían valor comunicativo para adaptarlos a su nueva función. Los primeros etólogos denominaron a este proceso ritualización. Durante dicho proceso los movimientos se hacen estereotipados, repetitivos y exagerados, y a menudo van también acompañados de cambios morfológicos que hacen que la señal sea todavía más llamativa. Según la interpretación tradicional, durante el proceso de ritualización las señales adquieren precisamente aquellas características que maximizan la transferencia de información entre emisor y receptor. La estereotipia, por ejemplo, reduce la variabilidad de las señales disminuyendo la probabilidad de que el receptor pueda confundir señales con significados distintos.

#### **4. COMUNICACIÓN AFECTIVA Y COMUNICACIÓN REFERENCIAL**

Las ideas de Darwin y de los primeros etólogos acerca de la expresión emocional sirvieron para establecer una dicotomía entre la comunicación semántica, considerada exclusiva del lenguaje humano, y la comunicación emocional de los animales. Para Niko Tinbergen las exhibiciones de los animales son '*debidas a respuestas relativamente rígidas e inmediatas a estímulos internos y externos... el lenguaje de los animales se encuentra al nivel de nuestro 'lenguaje emocional'*' (5). Sin embargo, las señales que utilizan los animales en la comunicación no transmiten únicamente información acerca de la motivación o de otras características del emisor. Las denominadas señales referenciales proporcionan al receptor información sobre objetos o sucesos externos. Uno de los casos más conocidos es el denominado lenguaje de las abejas, una extraña danza en la que intervienen movimientos, olores, sonidos y vibraciones transmitidas por el sustrato que utilizan las abejas para comunicar a otras la posición de una fuente de alimento abundante. El lenguaje de las abejas fue descifrado por Karl von Frisch, que compartió el premio Nobel en 1973 con Lorenz y Tinbergen, y durante muchos años fue el único ejemplo conocido de comunicación referencial en animales no humanos. En la actualidad, sin embargo, disponemos de numerosos ejemplos de animales que se comunican utilizando señales referenciales.

#### **5. EL ATAQUE DE LOS GENES EGOISTAS**

Las limitaciones de la concepción etológica clásica quedaron patentes con la irrupción de la sociobiología y de la ecología del comportamiento a mediados de la década de 1970, y especialmente a partir del reconocimiento del conflicto evolutivo de intereses que subyace a la mayoría de las interacciones entre

emisor y receptor. Dos herramientas conceptuales adquirieron especial importancia para el estudio de la comunicación a partir de la revolución sociobiológica: la idea de que el gen es la unidad de selección (y por tanto, el rechazo a la selección de grupo), y la teoría de juegos aplicada al análisis de estrategias evolutivamente estables.

En 1978 Richard Dawkins y John Krebs publicaron un trabajo que contribuyó decisivamente al establecimiento de un nuevo paradigma en el estudio de la comunicación animal (6). Hasta ese momento, muchos etólogos pensaban que la comunicación consiste en un intercambio de información honesta y veraz entre emisor y receptor del que ambos salen beneficiados (4). Esta concepción llevaba implícita la idea de que las relaciones entre los individuos de una misma especie son fundamentalmente cooperativas y armoniosas. Incluso en contextos claramente competitivos, como cuando dos machos pelean entre sí, los contendientes se beneficiarían de emplear señales que revelasen de forma fiable las cualidades de ambos. Así, el menos competente de los dos abandonaría generosamente el combate, dejando el recurso en manos del más apto. Las señales evitaban derramamientos innecesarios de sangre y despilfarros de tiempo y energía, contribuyendo a la perpetuación y mejora de la especie.

El problema con esta línea de razonamiento es obvio para cualquiera que esté familiarizado con 'el punto de vista del gen' que popularizó Richard Dawkins en *El Gen Egoísta* (7). La selección natural no produce adaptaciones que beneficien al grupo o a la especie, sino a los genes que se transmiten de generación en generación. Dado que poseen genes distintos, los intereses (genéticos) de los individuos que participan en una interacción rara vez coinciden plenamente. Los miembros de una manada de lobos colaboran para capturar presas de gran tamaño que un lobo solitario sería incapaz de derribar. Pero una vez que han sometido a la presa, los miembros de la manada se convierten en rivales que compiten entre sí por los bocados más tiernos. Incluso entre una madre y su hijo puede surgir un conflicto en torno a la cantidad de leche que debe recibir el hijo. La existencia de estos conflictos evolutivos de intereses inmediatamente suscita una serie de preguntas en relación a la información que supuestamente transmiten las señales comunicativas: ¿Por qué debería un animal informar a otro de que está a punto de atacar (o de huir) en lugar de hacerlo sin más y beneficiarse de las ventajas que otorga un ataque por sorpresa? ¿Qué ventaja tiene 'mostrar tus cartas' ante un adversario con el que compites por un recurso limitado?

Dawkins y Krebs propusieron que, en contra de lo que sugería la concepción etológica clásica, el concepto clave para entender la comunicación animal no es la información, sino la manipulación. Un animal que emite una señal no lo hace buscando el beneficio mutuo de emisor y receptor, sino para persuadir al receptor de que se comporte del modo que más le beneficie a él (al emisor). Un macho se beneficiará si consigue persuadir a una hembra de su especie de que se aparee con él. El macho podría intentar que la hembra se aparease con él empleando la fuerza, pero una señal le permite conseguir el mismo fin de forma mucho más eficaz. Por tanto, las señales son el medio que utiliza un animal (el emisor) para manipular el comportamiento de otro animal (el receptor).

Pero los receptores no son víctimas indefensas de los poderes de persuasión de los emisores. Los receptores, como aclararon Dawkins y Krebs en un trabajo posterior (8), pueden responder evolutivamente a la manipulación de los emisores intentando adivinar sus intenciones. Por razones obvias, un perro que va a morder primero retira los belfos, con lo que deja los dientes al descubierto. En otras palabras, el perro enseña los dientes. Aunque inicialmente este comportamiento pudiera ser muy rápido y casi imperceptible, otro perro podría utilizarlo para predecir el comportamiento de un rival que está a punto de morder. Pero el hecho de que enseñar los dientes tenga un efecto predecible sobre un rival proporciona a la víctima cuyo comportamiento está siendo adivinado la oportunidad de manipular a su vez el comportamiento del adivino. Así, la víctima puede empezar a enseñar los dientes, no como preludio a un ataque inminente, sino como un medio para conseguir que sus rivales se retiren. La comunicación se convierte por tanto en el resultado de una carrera de armamentos evolutiva entre los intereses egoístas de emisores y de receptores, entre 'manipuladores' y 'adivinos'.

Para la concepción etológica clásica, la coevolución entre emisores y receptores era un proceso en el que las señales eran seleccionadas por su eficacia en la transferencia de información y en el que los órganos sensoriales de los receptores eran seleccionados por su eficacia en la recepción de las señales para beneficio mutuo de emisores y receptores. En retrospectiva, parece que algunos aspectos del diseño de las señales animales deberían de haber alertado a los etólogos de que había algo fundamentalmente erróneo en esta línea de razonamiento. Si se incrementa la sensibilidad del receptor por las señales, lo lógico sería pensar que las señales disminuyesen en intensidad, no que aumentasen. Y sin embargo, muchas señales son exageradas y muy llamativas. La concepción manipulativa de la comunicación, sin embargo, sugiere que cuando la comunicación sólo aporta beneficios al emisor, tanto éste como el receptor iniciarán un proceso desenfrenado en el que conforme los receptores afinen sus poderes de adivinación, respondiendo a aspectos cada vez más sutiles del comportamiento de los emisores, éstos evolucionarán señales cada vez más persuasivas. La manipulación y la adivinación coevolucionan, y las señales que observamos son el resultado de esa coevolución. Esta visión del proceso comunicativo permite además predecir muchas de las modificaciones que tienen lugar en el proceso de ritualización. La estereotipia de muchas señales, por ejemplo, podría no ser un mecanismo para reducir la ambigüedad de las señales, sino una mera maniobra de contraespionaje destinada a evitar que los receptores adivinen las verdaderas intenciones del emisor.

## **6. MENTIRAS, MENTIRAS, MENTIRAS**

En la concepción manipulativa de la comunicación propuesta por Dawkins y Krebs el concepto de información pierde relevancia a la hora de entender el diseño de las señales: *'si se comparte alguna información probablemente sea información falsa, pero quizás sea mejor abandonar completamente el concepto de información'* (6). Actualmente, sin embargo, la mayoría de los etólogos consideran que la comunicación animal implica un intercambio de información

entre emisor y receptor. Además, pensamos que muchas señales transmiten, por término medio, información esencialmente honesta y veraz (9). Superficialmente, este nuevo punto de vista parece una reedición de la visión etológica tradicional. Sin embargo, las diferencias existen y, aunque sutiles, son importantes.

Aunque a menudo tienden a confundirse, la manipulación y la persuasión tienen poco que ver con el engaño. Los anuncios publicitarios, al menos en aquellos países que tienen una legislación al respecto, no dicen mentiras, sencillamente persuaden. No obstante, el engaño y la mentira son estrategias bastante comunes en la comunicación entre miembros de nuestra propia especie. Una ventaja de trabajar con humanos es que al menos uno puede interrogarles para intentar averiguar si están mintiendo. Pero, ¿qué ocurre con otras especies?, ¿mienten los animales?

En la comunicación animal, el engaño consiste en ocultar información o proporcionar información cuantitativa o cualitativamente falsa acerca del emisor, lo cual beneficia a éste en perjuicio del receptor. Imaginemos, por ejemplo, a una hembra que tiene que elegir entre varios posibles pretendientes. La hembra se beneficiará si elige al pretendiente de mayor calidad. Cada uno de los machos, por su parte, se beneficiará si emite una señal que indique a la hembra que él es realmente el mejor padre para sus hijos. Todos los machos, por tanto, acabarán emitiendo la misma señal, que automáticamente perderá valor como indicador fiable de la calidad individual de cada macho. En realidad, todas aquellas situaciones en las que existe un conflicto de intereses entre emisor y receptor son, en principio, terreno abonado para la evolución de señales engañosas. Por tanto, las condiciones que favorecen la aparición de señales engañosas son las mismas que favorecen la manipulación.

Las señales que transmiten información falsa o engañosa crean una presión de selección que eventualmente lleva a los receptores a ignorar señales a las que les resulta perjudicial responder. A medida que una señal engañosa vaya siendo más frecuente en la población, los receptores irán respondiendo cada vez menos a ella, es decir que la señal se irá 'devaluando' al tiempo que el beneficio que obtienen los emisores mentirosos por emitirla será cada vez menor. En último término, los receptores dejarán de responder a la señal engañosa y el sistema de comunicación se colapsará. Para que una señal persista en una población debe ser beneficiosa, en promedio, tanto para el emisor de dicha señal como para el receptor. Cuando decimos que una señal es honesta no queremos decir que sea siempre honesta, sino que el receptor generalmente obtiene un mayor beneficio si responde a ella que si no lo hace. Esto puede suceder aún cuando la señal sea engañosa la mayor parte de las veces. En este sentido (no en el sentido al que aludía la visión etológica tradicional), es decir, en un sentido estadístico, podemos decir que las señales son honestas.

El paradigma actual asume que el diseño de las señales es fruto, al menos en parte, de una dinámica coevolutiva entre los intereses egoístas (coincidan o no) de emisores y receptores. El desafío para el estudio moderno de la comunicación consiste en intentar descifrar los mecanismos evolutivos que consiguen estabilizar dicha dinámica evolutiva, especialmente en aquellos casos en los que no coinciden los intereses de emisor y receptor. El criterio de 'no invasibilidad', derivado de la teoría de juegos, se ha convertido en una



pregunta estándar a la hora de valorar la estabilidad de un sistema de comunicación: ¿Qué mecanismos impiden que los mentirosos invadan los sistemas de comunicación, haciendo que los receptores dejen de responder a las señales y, en última instancia, que éstas desaparezcan?

Los estudios de teoría de juegos han identificado tres tipos de señales que difieren en el tipo de mecanismos que garantizan la estabilidad de los sistemas de comunicación en que intervienen: índices, hándicaps y señales convencionales (10). Los índices (*performance signals*) son señales que están íntimamente ligadas a la posesión de determinados rasgos físicos o fisiológicos del animal sobre los que resulta difícil o imposible mentir. Los tigres siberianos delimitan sus territorios marcando los troncos de los árboles con sus garras. Obviamente, la altura a la que son capaces de arañar los troncos está estrechamente ligada al tamaño de cada individuo, convirtiendo las marcas en un índice, es decir, en una señal necesariamente honesta que transmite información fiable acerca del tamaño del emisor.

Las señales pueden también ser honestas si tienen un coste muy elevado para el emisor. Esta idea, que se conoce como el principio del hándicap, fue propuesta por Amotz Zahavi para explicar la evolución de rasgos costosos asociados con la selección sexual, como la cola del pavo real. De acuerdo con el principio del hándicap ciertas señales pueden ser honestas, no porque existan impedimentos físicos que limiten su exageración, sino porque su producción y/o mantenimiento supone un coste tan elevado que sólo los individuos de buena calidad se lo pueden permitir. La existencia de un coste elevado garantiza pues la honestidad de la señal. El principio del hándicap fue inicialmente acogido con escepticismo por los etólogos debido, fundamentalmente, a que en su formulación original el argumento era exclusivamente verbal. Más recientemente, el principio del hándicap ha recibido el apoyo de modelos matemáticos y genéticos que demuestran que las señales zahavianas pueden ser una estrategia evolutivamente estable.

En el caso de las señales convencionales la estabilidad del sistema de comunicación está garantizada por los costes socialmente impuestos que recaen sobre los potenciales mentirosos. Un ejemplo relativamente bien estudiado es el de las denominadas 'insignias de estatus' (*badges of status*), entra las que se incluye el babero negro que presentan los gorriones macho. El babero es una señal que indica la habilidad para el combate, siendo de mayor tamaño en los machos más dominantes. Dado que los costes de producción y mantenimiento de los baberos son mínimos, cabe preguntarse por qué los individuos con escasa capacidad competitiva no desarrollan baberos grandes y obtienen así los beneficios normalmente reservados a individuos de mayor estatus social. Una posibilidad es que los costes que mantienen la honestidad de esta señal sean de origen social: los individuos que mienten acerca de su estatus tienen que responder a un número mayor de desafíos por parte de otros machos de lo que corresponde a su estatus real.

## 7. CONCLUSIONES

Los primeros etólogos reconocieron que las señales comunicativas son el resultado de la coevolución entre emisores y receptores pero no consiguieron

identificar las presiones de selección responsables de dicha coevolución. Para la etología clásica las señales animales eran esencialmente honestas y su función era la transferencia de información veraz acerca del emisor o de su entorno inmediato. Sin embargo, tanto la concepción manipulativa de la comunicación como la teoría de juegos sugieren que la transferencia de información es, a lo sumo, un aspecto secundario de la comunicación animal. Hemos pasado de un mundo en el que los animales intercambiaban información para su beneficio mutuo a otro en el que los animales se aprovechan egoístamente los unos de los otros por medio de la manipulación, la adivinación y la mentira. No obstante, en los últimos años los esfuerzos de los estudiosos de la comunicación animal se han centrado en la búsqueda de mecanismos que pudieran favorecer la evolución de señales honestas.

El estudio de la comunicación constituye un auténtico microcosmos que ilustra, a escala reducida, los cambios que ha experimentado el estudio del comportamiento animal a lo largo de los últimos 200 años. Con sus constantes cambios de paradigma, el estudio de la comunicación es un fiel reflejo del vigor y del dinamismo del moderno estudio del comportamiento animal. Algunos investigadores buscan nuevas denominaciones que les permitan distanciarse de los errores del pasado. Los sociobiólogos de hace apenas unas décadas se han transformado en los ecólogos del comportamiento o psicólogos evolucionistas actuales. Pero la búsqueda de modernidad no debe hacernos perder de vista que la etología, como cualquier disciplina científica, cambia, se transforma (¿evoluciona?). La etología actual es, afortunadamente, muy distinta de la que se hacía hace 50 años. Pero cometeríamos un error si ignorásemos que existe una continuidad con el trabajo de nuestros predecesores, tal y como demuestra el estudio de la comunicación. A pesar de los cantos de sirena que intentan persuadirnos de que la etología está pasada de moda, la disciplina sigue gozando de excelente salud.

Tampoco debemos caer, especialmente en tiempos de aniversarios y celebraciones, en el culto a la personalidad. Es cierto que las contribuciones de Darwin fueron absolutamente cruciales, hasta el punto de que resulta imposible concebir la biología moderna sin su teoría de la evolución por selección natural. Pero el estudio del comportamiento animal ha progresado gracias al trabajo de varias generaciones de investigadores hasta alcanzar un grado de complejidad y sofisticación que Darwin ni siquiera imaginó. El estudio de la comunicación animal es buena prueba de ello.

## 8. REFERENCIAS

1. Darwin, C. **1859**. *On the Origin of Species by Means of Natural Selection*. J. Murray, London.
2. Darwin, C. **1871**. *The Descent of Man, and Selection in Relation to Sex*. J. Murray, London.
3. Darwin, C. **1872**. *The Expression of the Emotions in Man and Animals*. J. Murray, London.
4. Smith, W.J. **1977**. *The Behavior of Communicating: An Ethological Approach*. Harvard University Press, Cambridge.
5. Tinbergen, N. **1953**. *Social Behaviour in Animals, with Special Reference to Vertebrates*. Methuen, London.

6. Dawkins, R. & Krebs, J.R. **1978**. Animal signals: Information or manipulation? Pp. 282-309. En: *Behavioural Ecology: An Evolutionary Approach*. Blackwell, Oxford.
7. Dawkins, R. **1976**. *The Selfish Gene*. Oxford University Press, Oxford.
8. Krebs, J.R. & Dawkins, R. **1984**. Animal signals: Mind-reading and manipulation. Pp. 380-402. En: *Behavioural Ecology: An Evolutionary Approach*, 2nd ed. Blackwell, Oxford.
9. Greenfield, M.D. 2006. Honesty and deception in animal signals. Pp. 281-300. En: *Essays in Animal Behaviour: Celebrating 50 Years of Animal Behaviour*. Elsevier Academic Press, Amsterdam.
10. Hurd, P.L. & Enquist, M. 2005. A strategic taxonomy of biological communication. *Animal Behaviour*, 70, 1155-1170.

## 9. LECTURAS RECOMENDADAS

- Bradbury, J.W. & Vehrencamp, S.L. **1998**. *Principles of Animal Communication*. Sinauer, Sunderland.
- Maynard Smith, J. & Harper, D. **2003**. *Animal Signals*. Oxford University Press, Oxford.
- Searcy, W.A. & Nowicki, S. **2005**. *The Evolution of Animal Communication: Reliability and Deception in Signaling Systems*. Princeton University Press, Princeton.



---

## 5.2

### La Evolución de Señalización Honesta de Calidad por Hembras a través de sus Huevos

Juan Moreno

*Departamento de Ecología Evolutiva, Museo Nacional de Ciencias Naturales-CSIC. José Gutiérrez Abascal 2, 28006 Madrid. España.*

#### RESUMEN

En muchas especies existe señalización de calidad fenotípica por parte de las hembras hacia los machos y elección por parte de éstos en base al contenido de las señales. Las señales pueden operar antes de la elección de pareja, o después del apareamiento cuando el cuidado parental es compartido por ambos sexos. Las señales posteriores al apareamiento del contenido pueden inducir una asignación diferencial del otro sexo en cuidado parental en función de las señales. Una forma de señalar que no interfiere con las funciones parentales es mediante rasgos de los huevos que pueden ser observados por los machos y afectar a su disposición a invertir en la puesta. El color azul de los huevos de muchas aves puede ser una señal honesta de calidad de las hembras o de los huevos debido al importante carácter antioxidante del pigmento responsable, la biliverdina. En varios estudios realizados en poblaciones de una especie de aves con huevos azules, el papamoscas cerrojillo, hemos comprobado que la intensidad del color azul depende de la cantidad de pigmento difiere entre puestas en función de la condición física, respuesta inmunitaria y capacidad antioxidante de las hembras, además de indicar el contenido en inmunoglobulinas maternas de los huevos. También hemos observado que los machos responden a la intensidad de la señal invirtiendo más en los pollos resultantes, lo que conlleva una mejor condición de éstos cuando abandonan el nido. En paseriformes europeos, la variación interespecífica en color azul denota una mayor necesidad de ayuda en la crianza de la nidada por parte de las hembras. Estos resultados indican que las hembras de muchas aves, pero quizás también de otras especies con cuidado parental por parte de los machos, pueden señalar su calidad genética o la calidad de la prole mediante señales asociadas a los huevos.

#### 1. INTRODUCCIÓN

Los organismos pueden señalar su calidad fenotípica a individuos de la misma especie o de otras especies por medio de caracteres morfológicos o comportamientos para inducir respuestas de éstos en favor del individuo que emite las señales. Las respuestas se han seleccionado por que existen ventajas indudables en responder a otros organismos en función del tipo y de la intensidad de las señales sobre condición del individuo emisor. No se debe actuar de la misma manera frente a un individuo vigoroso, agresivo y en plenas facultades (elevada calidad fenotípica) que frente a uno débil o enfermo, ya se

trate de una pareja potencial, un rival del mismo grupo social o un posible depredador o parásito. Si el individuo en buena condición intenta obtener ventajas de su señalización, a aquel en peor estado solo le queda la opción de parecer mejor que lo que es (ir de "farol") o al menos mejor que individuos en todavía peor estado. La ecología del comportamiento ha descubierto durante las últimas décadas una señalización prácticamente continua entre individuos que afecta a sus patrones de apareamiento, sociabilidad y relaciones familiares, así como a sus relaciones ecológicas. Lo que se interpretaba antes como caracteres arbitrarios que indicaban como mucho la pertenencia a una especie concreta, se ha reinterpretado actualmente como una fuente de información fundamental para los organismos que explica buena parte de sus comportamientos. Ha habido dos aproximaciones a la teoría sobre evolución de señales, una basada en que la información transmitida debe ser honesta para que pueda seleccionarse la capacidad de emitir y responder a señales, y otra basada en que la selección puede primar el engaño y el "farol" en numerosas circunstancias. Ambas vertientes han obtenido demostración empírica, aunque la investigación más reciente se ha decantado por la preponderancia de la honestidad de las señales como fuente de su estabilidad evolutiva.

Aunque la señalización rige la vida social y familiar de los animales, es en relación con la selección sexual enunciada por Darwin en 1871 que se han descubierto más señales dado el aspecto crucial de la reproducción para la aptitud de los organismos. Darwin propuso que numerosos rasgos aparentemente extravagantes y costosos en términos de supervivencia de los animales y plantas con reproducción sexual promovían en realidad el éxito reproductor de los individuos portadores al ofrecer ventajas en la competencia por los apareamientos o la polinización. Mucho de lo que nos resulta atractivo en la naturaleza, y obviamente en nuestros propios congéneres, se debe a esta forma de selección natural que prima todo aquello que ofrezca ventajas no en sobrevivir en un mundo hostil sino en fecundar o ser fecundado. Los colores de los tegumentos o de las flores, los sonidos como el canto de las aves y de muchos insectos, las formas y estructuras más llamativas, las enormes diferencias en el aspecto de ambos sexos en muchos animales, son producto de este proceso fundamental que es una forma más de selección natural. Todos los organismos sexuales somos descendientes de individuos que señalaron su calidad de alguna forma para obtener el preciado éxito reproductor.

La selección sexual se basa en la escasez de recursos como toda forma de selección natural darwiniana. Si el recurso limitante es normalmente el alimento, la salud o la ausencia de depredación, en términos de reproducción sexual el recurso limitante es la abundancia de individuos de elevada calidad genética con los que mezclar los genes mediante el sexo, y en especies con cuidados de la prole la abundancia de individuos propensos a invertir en la descendencia propia (en plantas el recurso limitante son los polinizadores adecuados). No es lo mismo en términos de éxito reproductor mezclar los genes con individuos de elevada aptitud que con aquellos de pobres perspectivas. Elegir a una buena pareja sexual en términos genéticos o parentales o evitar a una mala puede ser crucial para todos, pero sobre todo para las hembras. Debido a la anisogamia o coste diferencial según sexo de los gametos (óvulos frente a espermatozoides) surgida en los inicios de la evolución de organismos pluricelulares, las hembras invierten en un menor número de gametos y tienen por tanto que optimizar más

en términos de las ventajas que confieren a sus pocas bazas reproductivas. Los machos tienen un potencial mayor, pero debido a que cada descendiente solo tiene un padre y una madre, deben competir con otros machos para ser ellos los que lleven a buen término todas sus abundantes opciones potenciales. ¿Qué rasgos deberían seleccionar las hembras en sus parejas sexuales? Se ha propuesto que deberían elegir machos en función de beneficios directos (protección frente a otros machos, no infección, ayuda en el cuidado de las crías) o beneficios indirectos (genes de aptitud frente al ambiente en general). La importancia relativa de beneficios directos e indirectos es ampliamente debatida actualmente, pero es indudable que en muchas especies los machos difícilmente pueden aportar otro beneficio a las hembras con las que se aparean fugazmente que sus buenos genes. Numerosos trabajos intentan esclarecer actualmente como los rasgos seleccionados sexualmente en muchas especies (estructuras y comportamientos llamativos, sonidos, señales químicas, etc.) son en efecto señales que expresan la aptitud general basada en propensiones genéticas.

La teoría predice que las hembras eligen y los machos compiten desarrollando ornamentos morfológicos, fisiológicos o comportamentales siempre que las hembras representen un recurso limitante para los machos. Si la razón de sexos está sesgada hacia hembras o si la fecundidad de las hembras está menos limitada de lo normal, aparecen casos de roles sexuales invertidos en que las hembras señalizan y compiten agresivamente mientras los machos eligen. Pero los machos en especies con roles sexuales normales podrían no ser totalmente aselectivos si existen factores que limitan su potencial de apareamiento. Si los machos ven reducidas sus opciones potenciales de aparearse por la estructura social o por la necesidad de compartir el cuidado de la prole, puede seleccionarse la propensión a elegir pareja en los machos. En muchas especies de animales con cuidado parental compartido entre ambos sexos en que la desaparición de un progenitor lleva normalmente al fracaso reproductor, se ha favorecido selectividad en los machos. Si la monogamia es estricta y no sólo virtual, la elección de pareja por el macho es a menudo tan selectiva como en la hembra. Pero incluso si la monogamia es más laxa y tanto machos como hembras intentan tener algún escarceo sexual fuera de la pareja, algo sorprendentemente común es muchas especies socialmente monógamas, los machos pueden obtener beneficios por seleccionar a las madres de sus descendientes. La selección sexual mutua es pues frecuente en especies con cuidados parentales y ha llevado a que en numerosas especies las hembras muestren tantos ornamentos como los machos. Darwin, sin conocer los genes, propuso que en estos casos la presencia de ornamentos en las hembras se debía a que las hijas no podían evitar heredar los caracteres de sus padres, es decir que como diríamos ahora existe una correlación genética entre sexos en la expresión de ciertos rasgos. El mismo argumento sirve para explicar por qué los machos humanos tenemos pezones. Este argumento parece una confesión de ignorancia ya que no explica el enorme dimorfismo sexual en muchos otros rasgos en las mismas especies o de los mismos rasgos en otras especies. Ello indica que las correlaciones genéticas entre sexos pueden ser fácilmente rotas por la selección sexual. La ornamentación en hembras debe haber experimentado selección favorable cuando existe, y el reto consiste en explicar las diferencias en el grado y

expresión de la ornamentación femenina. Pero además la ornamentación en hembras no hubiera debido sorprender tanto a Darwin ya que en la especie humana las hembras están indudablemente ornamentadas tanto en su morfología como en su comportamiento como corresponde a una especie con importante inversión en prole por parte de los machos.

Sin embargo, la ornamentación en hembras presenta limitaciones debidas a sus característicos roles reproductivos. En este caso fue Wallace, el codescubridor con Darwin de la selección natural, el que primero señaló algunas de estas limitaciones. Las hembras están mucho más en contacto con su prole cuando ésta es más vulnerable o incluso portan a las crías en su organismo en especies vivíparas. Cualquier ostentación de señales que perdure más allá de las etapas iniciales de cortejo y apareamiento podría poner en riesgo a la prole. Además, como han señalado recientemente algunos autores (1), la inversión en ornamentos puede entrar en conflicto con la fecundidad de las hembras. Las señales deben ser costosas para ser honestas, y el coste en las hembras puede expresarse en una menor capacidad de producir huevos (este coste sería poco importante en machos debido a la reducida inversión en espermatozoides). Si las hembras ornamentadas pueden invertir menos en huevos y crías numerosas o de buena calidad precisamente por que han invertido recursos excesivos en señalizar, los machos dejarán de preferirlas ya que son menos fecundas. Así pues, debe de haber un compromiso entre fecundidad y ornamentación en hembras, por lo que las señales en hembras serán siempre menos ostentosas que en machos, para los que el coste de señalizar en términos de fertilidad será menos importante. En definitiva, no debemos sorprendernos si las hembras también emiten señales de calidad en dirección a los machos (por supuesto que entre hembras puede haber además selección social a favor de señales de calidad, vigor o dominancia). La señalización podría referirse a beneficios directos para los machos en términos de contribución al cuidado parental por la hembra (condición física o estado de salud) o a beneficios indirectos en términos de buenas propensiones genéticas de la prole para defenderse en su ambiente.

Hasta ahora hemos tratado señalización sexual en relación con la elección de pareja. Sin embargo, se ha descubierto recientemente que las señales de los machos no solo afectan a la decisión de aparearse o emparejarse de las hembras sino también a los procesos que determinan el nivel de inversión de las hembras en la descendencia común. Las hembras se esfuerzan más por la descendencia de machos atractivos o dominantes que por la prole de machos de peor calidad. Si los recursos son limitados y hay opciones futuras de reproducirse, será favorecido reservar recursos o no sacrificar condición física en demasía para descendencia de baja calidad. Este fenómeno llamado "asignación diferencial" indica que los procesos de selección sexual continúan incluso después de la fase de cortejo o apareamiento, y que los beneficios de las señales se extienden al menos hasta el cuidado de la prole. En los casos estudiados hasta la fecha, la asignación diferencial se ha observado en hembras y se ha basado en caracteres morfológicos de los machos que no desaparecen tras el apareamiento. Podríamos esperar que existieran señales específicas de la fase post-apareamiento en machos que afectaran a la asignación diferencial. Podríamos especular con algún tipo de comportamiento emitido por los machos posteriormente al apareamiento o

emparejamiento y que no fuera posible durante el cortejo. Un ejemplo es la construcción del nido por los machos en algunas especies de aves. Nidos de construcción más elaborada o más costosos de construir inducen en algunas especies una mayor asignación diferencial por parte de la hembra en la puesta (puestas más tempranas, más huevos o huevos mayores). Es posible que se descubran más señales de calidad post-apareamiento en otros animales relacionadas con la asignación diferencial.

La siguiente pregunta es si las hembras presentan alguna forma de señalar a sus parejas más allá de la fase de cortejo o apareamiento que pueda afectar a la asignación diferencial de los machos. En 2003 propusimos que podía haber una forma por parte de las hembras de afectar a las decisiones de los machos en cuanto a su asignación diferencial en el cuidado de la prole (2). En muchas especies con cuidado paterno de las crías, los huevos son observados por los machos, y estos huevos podrían señalar alguna propiedad de las hembras relacionada con beneficios directos o indirectos para sus parejas. Basándonos en los hermosos colores azules y verdes de los huevos de muchas aves para los que no se había encontrado ninguna función convincente, propusimos que la propiedad señalizada se basaba en que el pigmento utilizado era la biliverdina cuyas propiedades antioxidantes acababan de ser descubiertas. Asignar más biliverdina a la cáscara de los huevos podía tener costes para las hembras en términos de capacidad antioxidante, por lo que la intensidad de coloración podría representar una señal honesta de dicha capacidad. Solo hembras en buen estado fisiológico para resistir el estrés oxidativo podrían pigmentar la puesta con suficiente intensidad. Los machos serían receptivos a esta señal por su carácter informativo sobre beneficios directos como la calidad de los propios huevos (mejor invertir en huevos de mejor calidad) o indirectos como los genes de sus descendientes (mejor invertir en hijos con genes de aptitud). La propuesta podría generalizarse a cualquier propiedad de los huevos que pudiera ser percibida por los machos y que señalizara algún rasgo indicativo de la calidad de la hembra en cualquier especie ovípara con cuidado paterno: se podría especular con señales no solo visuales sino también olfativas o táctiles. La ventaja indudable de señalar mediante la puesta es que estas señales no incrementan los riesgos de depredación para las hembras y que además pueden estar más directamente relacionadas con la calidad de la progenie que ornamentos empleados en el cortejo. Esta vía de señalización estaría abierta exclusivamente a las hembras en animales ovíparos y reduciría la presión selectiva a favor de desarrollar ornamentos morfológicos o de comportamiento en las propias hembras.

## 2. OBJETIVOS

En 2004 iniciamos un estudio en una población de papamoscas cerrojillo *Ficedula hypoleuca* en el Sistema Central. Esta especie, como muchas otras aves, pone huevos de color azul-verdoso. Los objetivos de nuestro estudio eran: 1) comprobar si existía variación entre puestas en la intensidad del color de la puesta; 2) comprobar si la intensidad del color estaba relacionada con alguna propiedad de las hembras que tuviera relación directa o indirecta con su capacidad antioxidante o con alguna propiedad de los propios huevos; 3)



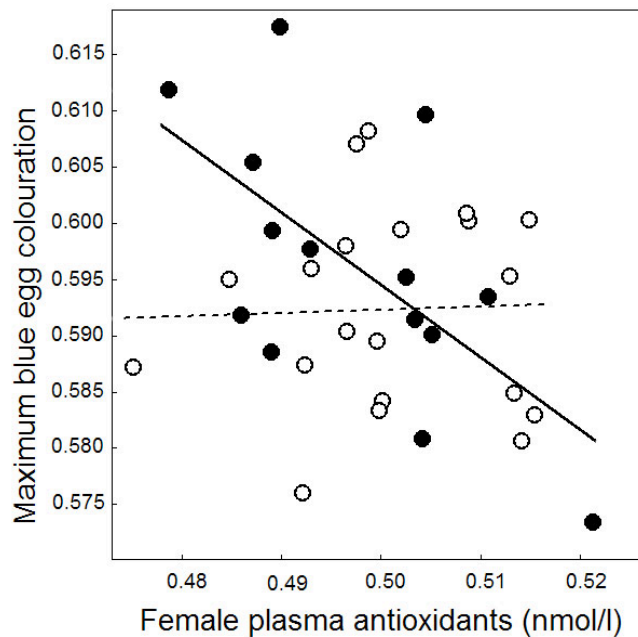
comprobar si los machos podían observar los huevos y si respondían alimentando más a los pollos o incluso a la propia hembra durante la incubación; y 4) comprobar si el color azul-verde de los huevos a nivel interespecífico se podía explicar por variables relacionadas con el valor de la señal para emisor y receptor.

### 3. RESULTADOS

**3.1. Variación entre y dentro de puestas.** Primero realizamos un estudio descriptivo en que medimos el color de todos los huevos en la población en el día de la puesta mediante un espectrofotómetro portátil en el campo (3). Comprobamos que había una gran variación entre puestas desde puestas pálidas a puestas azul intenso. La intensidad de pigmentación decrecía con el orden de puesta en cada puesta de modo que los últimos huevos eran siempre los más pálidos, lo que sugería un agotamiento en la disponibilidad del pigmento para las hembras. En otro estudio (4) comprobamos que la intensidad de azul medida con nuestro espectrofotómetro de campo se correlacionaba positivamente con el contenido de la cáscara en biliverdina, confirmando así que nuestra medida de color refleja el contenido en antioxidantes de la cáscara.

**3.2. Color de huevos y calidad materna.** En el supuesto de que el estrés oxidativo afecta especialmente a las células inmunitarias, esperábamos que hembras con mayor capacidad de resistir dicho estrés señalaran con huevos más pigmentados. Comprobamos que tanto la capacidad de respuesta a un mitógeno que provoca una inflamación local como la capacidad de producir anticuerpos frente a un antígeno nuevo, estaban positivamente asociadas con el grado de pigmentación de los huevos, lo que confirmaba que el color podía señalar algo importante en las hembras (3).

En otro estudio aumentamos la disponibilidad de alimento para ciertas hembras antes de y durante la puesta (4). Las hembras con alimento suplementario pusieron huevos más pesados y más pigmentados de azul que las hembras control. Ello indica que la pigmentación de los huevos refleja la condición nutricia de la hembra durante la puesta. La prueba más clara de que la capacidad antioxidante está relacionada con la señal fue obtenida en un experimento en que aumentamos el esfuerzo de las hembras antes de la puesta mediante la retirada de nidos una vez completados (6). Las hembras que tuvieron que construir un segundo nido antes de la puesta, y que sufrieron por tanto un aumento en su nivel de esfuerzo, mostraron una relación negativa entre capacidad antioxidante medida en plasma e intensidad de coloración azul de la puesta (Figura 1). Dicha relación no se encontró en hembras control. Ello indica que existe un compromiso entre mantener la capacidad antioxidante en los tejidos y destinar biliverdina a la pigmentación de los huevos, y que dicho compromiso aparece cuando las hembras realizan un mayor esfuerzo físico antes de la puesta.



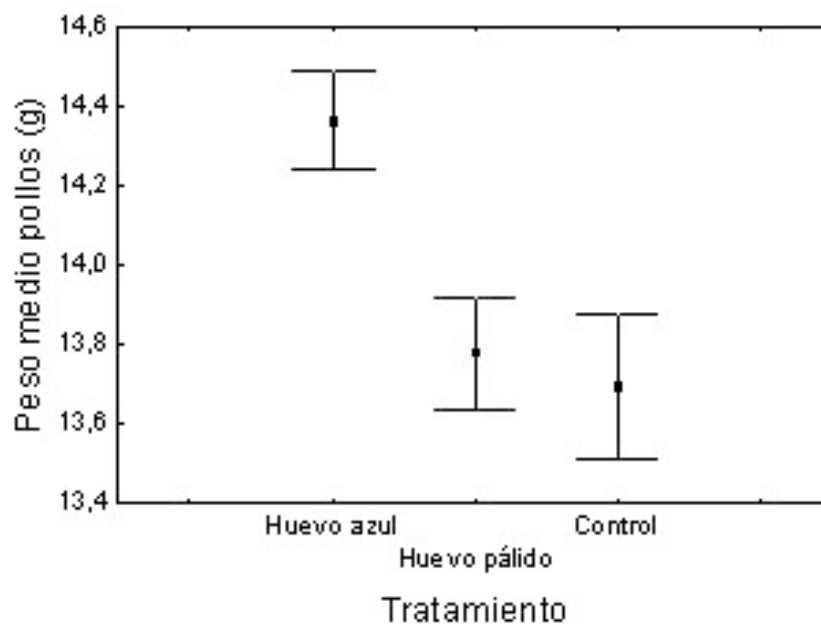
**Figura 1.** Máximo de intensidad de color azul de la puesta proporción de reflectancia en la parte azul-verde del espectro en relación a cantidad de antioxidantes en plasma sanguíneo (nmol/l) para hembras de esfuerzo aumentado (símbolos negros y línea continua) y hembras control (símbolos blancos y línea discontinua) (de Ref. 6).

**3.3. Respuesta del macho.** En un experimento intercambiamos puestas entre nidos de la misma fecha de puesta y medimos su coloración (8). Si se observaba una asociación entre color de la puesta y aportes de alimento del macho, ello no podía deberse a la asociación entre color y calidad de la pareja, puesto que los machos habían observado en el nido huevos puestos por otra hembra. En el día 4 de vida de los pollos, fase en que los machos se ocupan de la mayor parte del aprovisionamiento, los pollos resultantes de puestas intercambiadas con mayores máximos de coloración recibieron más visitas con alimento por parte del macho. Este experimento confirma que los machos son estimulados diferencialmente por el color de la puesta en términos de inversión en la nidada.

Una de las críticas a la idea de que los machos invierten más o menos en la nidada en función de la señal emitida por la puesta es que no pueden comparar la puesta en su nido con otras puestas para establecer el nivel relativo de intensidad de la señal. Sin embargo, la comparación puede estar establecida de antemano en el sistema nervioso de los animales. Desde antaño se conoce el fenómeno de la superestimulación por el que p.ej. huevos o puestas más grandes de lo natural resultan más atractivos e incitan a un mayor cuidado parental que estímulos dentro del rango natural de una población. La idea de la estimulación por el colorido de la puesta solo requiere un aumento continuo en el nivel de estimulación en función de la intensidad del color azul preestablecido en el sistema nervioso. Para comprobarlo, sustituimos el tercer huevo de algunas puestas por un modelo de huevo de la misma forma y peso

con un color azul más intenso que el rango natural de la especie (9). En otros nidos se substituyó por un huevo modelo del mismo color que los huevos medios en la población (control de color), mientras en otros nidos no se substituyó ningún huevo (control puro). Controlando por el número de pollos en el nido (mayor obviamente en los nidos controles puros), los pollos en nidos con superestímulo alcanzaron un mayor peso y mejor condición física que los pollos en los otros nidos (Fig. 2). Ello indica que los machos se ven estimulados a alimentar mejor a pollos resultantes de puestas que incluyen un superestímulo de color.

**Figura 2.** Peso medio de los pollos en función del tratamiento: substituir tercer huevo por huevo artificial más azul que lo natural, huevo artificial similar a los naturales o no substituir huevo (de Ref. 9).



**3.4. Variación interespecífica.** Hemos estudiado la coloración de huevos de passeriformes europeos para comprobar dos predicciones derivadas de la hipótesis: 1) que variables relacionadas con esfuerzo parental como duración del período de dependencia en el nido deberían estar positivamente asociadas con la intensidad del color azul-verde de los huevos; 2) que la intensidad de dicha coloración debería estar positivamente relacionada con el grado de poligamia en la especie (10). Ambas predicciones se derivan de la mayor necesidad de atraer el interés de los machos cuando el esfuerzo a repartir es mayor y cuando puede haber competencia entre hembras por la ayuda de un mismo macho polígamo. Tras controlar estadísticamente por variables relevantes y parentesco filogenético, confirmamos ambas predicciones.

#### 4. CONCLUSIONES

Nuestros estudios sugieren que la coloración azul de huevos en aves es una señal de la hembra dirigida a su pareja. El contenido de la señal se refiere a la

calidad de la hembra y de los huevos, información relevante para los machos si su esfuerzo limita otras vías de obtener descendientes. El coste que hace honesta a la señal es la asignación de antioxidantes a la cáscara. Esta vía de señalización estrictamente femenina puede darse en otros animales ovíparos con cuidados parentales en que se puede producir asignación diferencial de esfuerzo de los machos en función de su percepción de la calidad de la descendencia.

**5. AGRADECIMIENTOS** Al Ministerio de Ciencia e Innovación por la financiación de mi investigación.

## 6. REFERENCIAS

1. Chenoweth, S.F. et al. **2006**. Can non-directional male mating preferences facilitate honest female ornamentation ? **Ecol. Lett.**, 9. Pp: 179-184.
2. Moreno, J. y Osorno, J.L. **2003**. Avian egg color and sexual selection: does eggshell pigmentation reflect female condition and genetic quality? **Ecol. Lett.**, 6. Pp: 803-806
3. Moreno, J. et al. **2005**. Evidence for the signaling function of egg color in the pied flycatcher *Ficedula hypoleuca*. **Behav. Ecol.**, 16. Pp: 931-937.
4. Moreno, J. et al. **2006**. Experimental evidence that egg colour indicates female condition at laying in a songbird. **Behav. Ecol.**, 17. Pp: 651-655.
5. Morales, J. et al. **2006**. Egg colour reflects the amount of yolk maternal antibodies and fledging success in a songbird. **Biol. Lett.**, 2. Pp: 334-336.
6. Morales, J. et al. **2008**. Pigment allocation to eggs decreases plasma antioxidants in a songbird. **Behav. Ecol. Sociobiol.**, 63. Pp: 227-233.
7. Moreno, J. et al. **2004**. Egg colouration and male parental effort in the Pied Flycatcher *Ficedula hypoleuca*. **J. Avian Biol.**, 35. Pp: 300-304
8. Moreno et al. **2006**. More colourful eggs induce a higher relative paternal investment in the pied flycatcher: A cross-fostering experiment. **J. Avian Biol.**, 37. Pp: 555-560.
9. Moreno, J. et al. **2008**. Blue-green eggs in pied flycatchers: an experimental demonstration that a peak stimulus elicits improved nestling growth. **Ethology**, 114. Pp: 1078-1083.
10. Soler, J.J. et al. **2005**. Blue and green egg-color intensity is associated with parental effort and mating system in passerines: support for the sexual selection hypothesis. **Evolution**, 59: 636-644

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Amundsen, T. **2000**. Why are female birds ornamented? **TREE**, 15. pp: 149-155.
- Searcy, W.A. y Nowicki, S. **2005**. The Evolution of Animal Communication. Princeton University Press.
- Sheldon, B.C. **2000**. Differential allocation: tests, mechanisms and implications. **TREE**, 15. Pp.: 397-402.

---

## 5.3

### **Evolución de Señales Químicas en los Procesos de Selección Sexual en Reptiles**

**José Martín y Pilar López**

*Departamento de Ecología Evolutiva, Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC, José Gutiérrez Abascal 2, 28006 Madrid. España.*

#### **RESUMEN**

En este trabajo revisamos el papel de la comunicación por medio de señales químicas (feromonas) en los procesos de selección sexual en los reptiles. Se resumen las conclusiones de varios estudios que han analizado la composición química y la función de las feromonas en comportamientos reproductivos, en especial en las interacciones agresivas entre machos (selección intrasexual) y en la elección de pareja por las hembras (selección intersexual). Además, se analizan los mecanismos fisiológicos que explican cómo las feromonas se han podido mantener evolutivamente como señales sexuales. Por último, se describe cómo las feromonas pueden intervenir en fenómenos de especiación.

#### **1. INTRODUCCIÓN**

Darwin publicó en 1871 las primeras ideas sobre selección sexual (1) y ya entonces se dio cuenta del importante papel de los “olores” en la evolución. Así, escribía acerca de los reptiles que:

*“Durante la época reproductora las glándulas odoríferas de serpientes y lagartos están en función activa. Como los machos de la mayor parte de los animales buscan a las hembras, estas glándulas odoríferas sirven probablemente para excitar o seducir a éstas, antes que para atraerlas hacia los machos.”*

Más adelante, Darwin se olvidaba un poco de estas sustancias odoríferas y resaltaba sobre todo el papel de la coloración en la selección sexual de las lagartijas. Pero después, aunque hablando de los mamíferos, concluía que:

*“El desarrollo de estos órganos (que producen olores) puede explicarse por la selección sexual si se admite que los machos más odoríferos son los que obtienen mejor éxito entre las hembras, y por tanto, los que alcanzan más descendientes que heredan sus olores.”*

Como otras muchas ideas de Darwin, estas reflexiones sobre la función de los “olores” fueron un poco olvidadas en la inmensa mayoría de los estudios de selección sexual posteriores. Probablemente, esto se deba al sesgo

sensorial de los investigadores humanos, los cuales, aparentemente, parece que usarían más los estímulos visuales que los olorosos (algo que los fabricantes de colonia y numerosos estudios científicos se empeñan en desmentir).

En contraste, los investigadores que estaban preocupados por las especies de insectos que son “plagas de las cosechas” se dedicaban a describir las feromonas (definidas como “*las sustancias químicas que produce un individuo y que pueden provocar cambios en la fisiología o el comportamiento de los individuos coespecíficos*”), y a usarlas como medio para atraer a las “especies plaga” hacia trampas químicas y así controlar sus efectos dañinos. Pero raramente consideraban las implicaciones evolutivas de las feromonas.

Por otro lado, en los años 70, numerosos estudios (2) resaltaban cada vez más la “asombrosa” capacidad de la mayoría de los reptiles para detectar y discriminar toda una variedad de olores de presas, depredadores y coespecíficos. Estaba claro que los reptiles debían de producir algo similar a las feromonas de los insectos, pero su papel en selección sexual era poco menos que menospreciado. Por el contrario, los colores llamativos de muchos reptiles parecía que podrían explicar por sí solos, como en las aves, muchos procesos de selección sexual. Pero, estudiando estas señales visuales se llegaba en muchos casos a decepcionantes conclusiones como que “*la elección de pareja no existe o es rara en lagartos*”. Así que parecía que sería mejor trabajar con otros grupos para entender la selección sexual.

Tímidamente, en los años 90, algunos trabajos empezaron a hablar de feromonas en reptiles y a intentar relacionar la capacidad quimiorreceptora de estos animales con sus comportamientos reproductivos (2). Pero no es hasta hace poco cuando el papel de las feromonas se está revelando como más importante de lo que parecía, y no sólo como una curiosidad de unos pocos animales, sino quizás como la base que puede explicar el uso de otros sistemas sensoriales (visuales) en selección sexual.

## 2. OBJETIVOS

Para evaluar el papel de las feromonas en los procesos de selección sexual y especiación de los reptiles, iniciamos una serie de estudios que pretendían: 1) analizar la composición química de las “secreciones olorosas” que podían funcionar como feromonas potenciales, 2) estudiar cuál es el papel de estas feromonas en los comportamientos relacionados con la reproducción, en especial en las interacciones agresivas entre machos (selección intrasexual) y en la elección de pareja por las hembras (selección intersexual), 3) desvelar los mecanismos fisiológicos que explican cómo las feromonas se han podido originar y mantener evolutivamente como señales sexuales entre coespecíficos, y, finalmente, 4) analizar cómo las feromonas pueden contribuir a explicar procesos de especiación.

En este trabajo vamos a revisar el estado actual de conocimiento sobre estos temas, comprobando la validez de la idea de Darwin de que la existencia de órganos que producen sustancias olorosas puede explicarse por la selección sexual.

### 3. RESULTADOS

**3.1. Las feromonas de los reptiles.** El avance reciente espectacular de las técnicas y los instrumentos de análisis químicos, como por ejemplo las diversas técnicas de cromatografía y de espectrometría de masas, han permitido no sólo encontrar pistas en “la escena del crimen”, sino también caracterizar la composición de las secreciones producidas por las glándulas especializadas que poseen muchos reptiles. Por ejemplo, muchos machos de lagartijas tienen varios poros femorales en la base de los muslos de las patas posteriores (Fig. 1). Estos poros secretan abundantemente durante la época reproductora, y su producción está controlada por hormonas relacionadas con la reproducción.

Aunque estos poros eran bien conocidos por los taxónomos (pues su número es una característica de muchas especies), su función era desconocida. Hoy se sabe que son una fuente importante de producción de compuestos químicos que “estimulan” las respuestas quimiosensoriales de los coespecíficos. Estos compuestos transmiten información sobre la especie, sexo, edad, tamaño, etc. que es utilizada en contextos reproductivos.

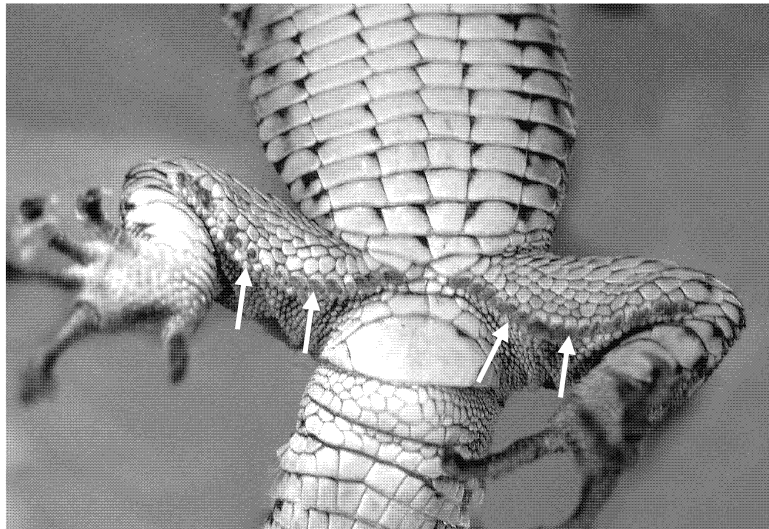
Los análisis químicos de las secreciones de las glándulas femorales de varias lagartijas han encontrado mezclas de compuestos (proteínas, ácidos grasos, esteroides, alcoholes, etc.) cuya composición es característica de cada especie. Estas diferencias permitirían en primer lugar la discriminación interespecífica (como ocurre con las feromonas de los insectos).

Pero, además, dentro de cada especie de lagartija, se ha encontrado que las variaciones inter-individuales en la abundancia de algunos compuestos en las secreciones de los machos se relacionan con las variaciones en las características morfológicas, de condición y estado de salud. Y lo que es más importante, otros individuos pueden detectar estas variaciones químicas y ajustar sus comportamientos reproductivos de forma diferencial, lo que indica que algunos compuestos químicos actúan como señales sexuales o feromonas. Además, distintos compuestos químicos se relacionan con diferentes características de un individuo, por lo que las secreciones químicas de los machos pueden llevar múltiples mensajes que estarían destinados a las hembras o a otros machos.

Las secreciones femorales se desprenden y depositan en el sustrato cuando un macho se mueve por su territorio, por lo que las marcas químicas olorosas en el suelo pueden señalar las características del macho que vive en esa área a otros individuos y permitirles tomar decisiones en base a dichas características.

**3.2. Las feromonas en los procesos de selección sexual.** Cuando se empezaron a relacionar las feromonas (caracterizadas o no) con los comportamientos de los reptiles, mediante el diseño de estudios específicos que tuvieran en cuenta el papel potencial de estas señales químicas, se encontró que los reptiles sí que pueden ser unos buenos modelos para entender la selección sexual.

Por un lado, ciertos compuestos químicos en las secreciones de los machos no sólo señalan el sexo, sino también caracteres como la edad y el tamaño, o el estatus de dominancia (3,4).



**Figura 1 Glándulas femorales de un macho de lagartija carpetana (*Iberolacerta cyreni*).** Cada glándula secreta al exterior por un poro, y varios poros se agrupan en una fila en la parte posterior y ventral de los muslos.

Las señales parecen honestas, de modo que otros machos competidores pueden usar esta información en las marcas químicas para decidir sus “comportamientos agresivos” antes de encontrarse con el macho que ha dejado su señal. De este modo los machos pueden evitar los costes excesivos de los enfrentamientos agonísticos (por ejemplo, evitando las peleas innecesarias con machos dominantes con los que las probabilidades de ganar son nulas) y las jerarquías de dominancia pueden ser estables.

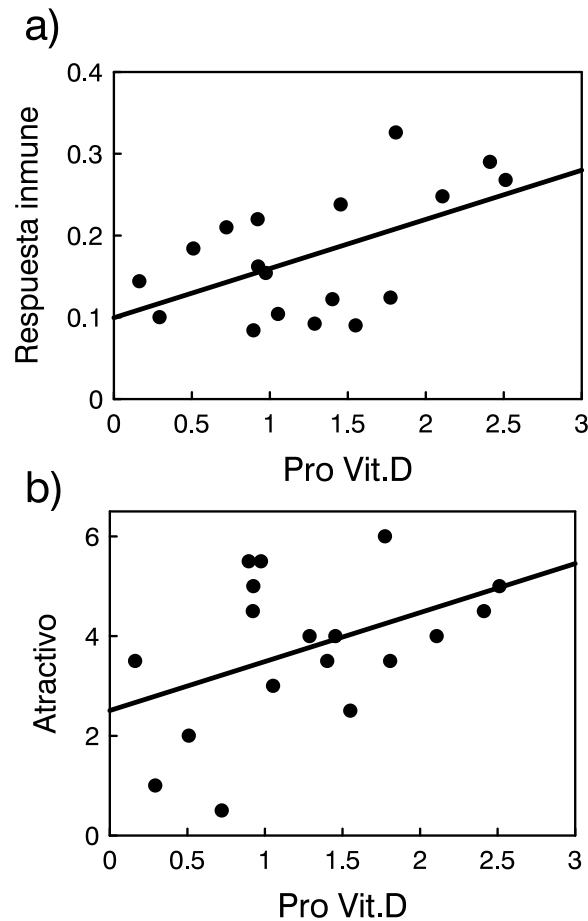
Pero la dominancia de los machos no siempre es atractiva para las hembras. Así, que, en muchos casos, los machos de lagartijas han tenido que desarrollar otras feromonas que señalen las características de los machos que interesan a las hembras. Como las lagartijas no realizan cuidados parentales, los machos casi sólo pueden aportar a las hembras buenos genes que transmitir a sus hijos. Así, que las feromonas deberían señalar la condición y el estado de salud, y/o la calidad o compatibilidad genética de un macho.

En varios estudios se han encontrado relaciones entre el estado de salud (parásitos, respuesta inmune o condición corporal) de un macho y las proporciones relativas de ciertos compuestos químicos en sus secreciones femorales (5,6) (Fig. 2a). Más aun, las hembras responden a estas variaciones y prefieren establecerse en áreas marcadas por machos de “alta calidad” (o con marcas manipuladas experimentalmente), con lo que incrementan las posibilidades de aparearse con estos machos (Fig. 2b). Así que las hembras de lagartijas si que parecen ejercer una muy estricta selección de pareja basada en feromonas.

Distintos compuestos químicos pueden estar relacionados con, y por tanto señalar, diferentes características, por lo que la elección de pareja podría tener en cuenta la conjunción de múltiples características favorables y no sólo un rasgo. Pero también es posible que si múltiples compuestos se relacionan y



señalan la misma característica, la percepción simultánea de estímulos múltiples congruentes pueda contribuir a reforzar la fiabilidad del mensaje.



**Figura 2. Elección de pareja basada en feromonas en lagartijas.** Relaciones entre las proporciones de pro-Vitamina D<sub>3</sub> en las secreciones femorales de machos de lagartija serrana (*Iberolacerta cyreni*) y a) su respuesta inmune celular, o b) su índice de atractivo (= número de hembras que eligen las feromonas de ese macho).

**3.3. Evolución y mantenimiento del sistema de señales químicas.** Las feromonas de las lagartijas permiten a los coespecíficos tomar decisiones con valor para su "eficacia biológica", como decidir si afrontar una pelea con un macho rival, o elegir pareja. Pero, ¿por qué iban las lagartijas a confiar en que la información química transmitida por otro individuo es fiable y veraz? Si, por ej., un macho de baja calidad imitara las feromonas de los machos de más calidad, podría engañar a las hembras e incrementar su éxito reproductor. Pero con el tiempo evolutivo las hembras dejarían de confiar en esta señal porque no sería un indicador fiable de calidad del macho. Por lo tanto, debe existir algún mecanismo que haga que el sistema de señales químicas se mantenga evolutivamente.

Una posibilidad es que la producción de feromonas con determinadas características (por ej., las relacionadas con la calidad de un macho) sea diferencialmente costosa para los individuos, de modo que sólo los individuos de mejor condición sean capaces de producirlas. Los análisis químicos de las feromonas han encontrado algunos compuestos secretados que tienen importantes funciones en el metabolismo general (vitaminas, ácido oleico, ácidos grasos esenciales...) y sin embargo son expulsados del organismo. Esto sugiere que las feromonas deben ser costosas de producir. Es interesante, que aquellos machos que producen secreciones con mayores cantidades de estos compuestos esenciales sean aquellos de presumible mejor calidad (por ej., con un mejor sistema inmune o con mejor condición corporal) (5,6).

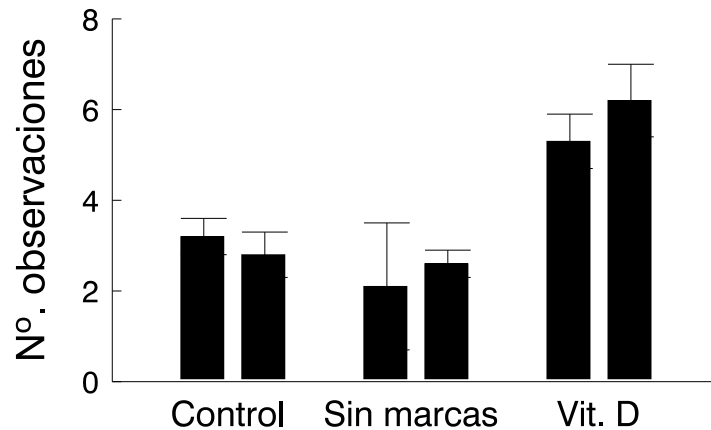
Así por ejemplo, algunos compuestos que aparecen en las secreciones son importantes en el organismo para la regulación del sistema inmune o el metabolismo del calcio (vitamina D) o como antioxidantes (vitamina E), por lo que puede existir un compromiso entre la elaboración del ornamento químico y el mantenimiento de las funciones fisiológicas. Así, se ha comprobado experimentalmente que la activación del sistema inmune mediante un antígeno sin efectos patógenos (LPS) hace que los machos de la lagartija Ibérica reduzcan la cantidad de pro-vitamina D asignada a las secreciones femorales (7). Mientras que la suplementación experimental de vitamina D en la dieta de los machos de la lagartija carpetana hace que incrementen la cantidad de este compuesto en sus secreciones, lo que les hace más atractivos para las hembras (8) (Fig. 3).

Existen más tipos de glándulas secretoras y más compuestos secretados que deben ser costosos de adquirir o secretar sin detrimento para el metabolismo, por lo que nuevos estudios y experimentos deberían revelar la existencia de más señales químicas y más compromisos fisiológicos similares que expliquen la persistencia evolutiva de las feromonas como señales sexuales honestas.

Sin embargo, también se ha sugerido que existe un sesgo sensorial por parte de las hembras hacia compuestos químicos esenciales o valiosos que están en las presas, pero también en las secreciones de los machos (9). Las hembras se verían atraídas hacia sustratos marcados químicamente por los machos, simplemente porque determinadas sustancias químicas de las feromonas les "recordarían" la presencia de alimentos valiosos, pues las mismas sustancias se encuentran en los alimentos y en las secreciones de los machos. Pero, si para los machos es diferencialmente costoso elaborar estas feromonas, entonces una señal que habría nacido como una explotación sensorial de las hembras podría luego haberse mantenido evolutivamente tras convertirse en una señal honesta (9).

Este escenario de elaboración costosa diferencial de ornamentos sexuales mediante la asignación de compuestos químicos esenciales para el metabolismo es muy similar al bien conocido caso de los ornamentos visuales de colores vistosos basados en carotenoides o pigmentos similares que se encuentra en muchos animales. Sólo los machos de mayor calidad son capaces de desviar determinados compuestos químicos valiosos del metabolismo para elaborar señales visuales o químicas. Así, que podría sugerirse que la asignación de vitaminas, carotenoides u otros nutrientes esenciales para la elaboración de ornamentos sexuales es la base común de las señales sexuales

honestas de muchos animales, y que sólo el sistema sensorial utilizado por el receptor para identificar la presencia de estos compuestos químicos en los ornamentos sexuales es lo único que realmente diferenciaría a las señales visuales de las químicas.



**Figura 3. Honestidad de las feromonas en lagartijas.** Número de observaciones ( $\bar{x} + SE$ ) en dos días diferentes de hembras de lagartija serrana (*Iberolacerta cyreni*) en áreas marcadas por machos controles, o por machos que habían recibido un suplemento alimenticio de vitamina D<sub>3</sub>, o en áreas sin marcar, ofrecidas simultáneamente.

### 3.4. Feromonas y Especiación. Darwin (1) también decía que:

*“el hecho de que algunas fuertes emanaciones olorosas de los machos sirvan para excitar a las hembras es un asunto que no podemos juzgarlo nosotros por nuestro gusto, pues es sabido que algunos animales deliran por el olor de ciertas sustancias que están muy lejos de ser de nuestro gusto”.*

Así que con esto, Darwin establecía ya claramente que las feromonas pueden llevar fácilmente a un aislamiento reproductor pre-cópula basado en las preferencias de cada especie por un olor determinado. En el caso de los reptiles, se sabe que incluso especies muy emparentadas genéticamente son capaces de reconocer y responder diferencialmente a las feromonas características de cada especie (2), lo que mantiene aisladas reproductivamente a especies emparentadas (10). Un efecto similar de aislamiento reproductivo tienen las feromonas en numerosas especies de insectos, roedores, murciélagos, anfibios, etc. que dependen de la producción y detección de feromonas, a veces similares, pero muy específicas, para poder reproducirse (10).

Pero las especies no son ni mucho menos inmutables, ni siempre han existido como tales. Así que lo más interesante es saber cómo las feromonas han podido contribuir a (o evitar) que se fuera produciendo progresivamente un aislamiento reproductivo entre poblaciones, que con el tiempo haya dado lugar a diferentes especies.

Las variaciones en las características de las feromonas que permiten el reconocimiento entre coespecíficos podrían haber tenido lugar por simple azar o

deriva genética en poblaciones aisladas geográficamente. Pero en muchos casos se ha sugerido que la selección para que las señales químicas sean más efectivas en un determinado ambiente local (por ej., para que se transmitan mejor o tengan mayor durabilidad en determinados hábitats) puede llevar a procesos de divergencia en las características de las feromonas, o en las preferencias quimiosensoriales de las hembras, que acaben produciendo un aislamiento reproductivo.

Por el contrario, puede que exista selección natural y divergencia de caracteres morfológicos entre poblaciones debido a diferencias ambientales, pero las hembras pueden seguir basando su elección de pareja en características de las feromonas que no varían entre poblaciones (por ej., aquellas que indican la calidad de un macho). Entonces, la selección sexual mediada por feromonas estaría evitando que exista aislamiento reproductivo entre esas poblaciones, aunque la selección natural esté diferenciando las mismas.

Ambas situaciones parecen darse en distintos grupos de lagartijas o “complejos de especies” cuya filogenia e historia evolutiva está lejos de ser bien comprendida. Afortunadamente para nosotros, esto es una indicación de que nos encontramos con claros procesos activos de “especiación en acción”, lo que nos permitirá estudiar como están implicadas evolutivamente las feromonas en estas especiaciones.

#### **4. CONCLUSIONES**

Tradicionalmente, las señales químicas han pasado bastante desapercibidas para los investigadores humanos (una especie con pocas capacidades quimiosensoriales), a pesar de ser conocidas, o intuitas, desde antiguo. Sin embargo, cada vez son más frecuentes los estudios y experimentos que consideran los olores como señales sexuales. Esto es en gran parte debido al desarrollo de las tecnologías necesarias para detectarlas y caracterizarlas. Estos estudios han comenzado a revelar que la comunicación mediante señales químicas (feromonas) parece constituir una base muy importante de los procesos de selección sexual de muchos reptiles (y de la mayoría de otros grupos animales).

Además, las características de los compuestos con los que se elaboran las señales químicas, y la existencia de múltiples conflictos con otras funciones fisiológicas, convierten a este tipo de ornamentos sexuales químicos en unas excelentes señales para ser usadas en selección sexual (independientemente del sistema sensorial -visual o químico- con el que son detectados los compuestos químicos que las forman).

La selección sexual basada en ornamentos químicos o feromonas favorece, o dificulta, que se produzcan procesos de especiación. Por tanto, las señales químicas pueden ayudarnos a entender cómo y por qué tiene lugar la evolución de muchos organismos.

En conclusión, Darwin no se equivocaba al pensar que las señales químicas y los órganos que las producen debían haberse originado por selección sexual.

**5. AGRADECIMIENTOS** Agradecemos a Darwin sus interesantes sugerencias sobre los olores y la selección sexual que han constituido la base de nuestra investigación, a todos nuestros compañeros que han colaborado en algún trabajo con nosotros, y a la Estación Biológica de "El Ventorrillo" (MNCN-CSIC) por permitirnos realizar allí nuestros experimentos de feromonas en reptiles. Un revisor anónimo ofreció útiles sugerencias que han mejorado el manuscrito. La investigación fue financiada por los proyectos MEC-CGL2005-00391/BOS y MCI-CGL 2008-02119/BOS.

## 6. REFERENCIAS

1. Darwin, C. **1871**. The descent of man, and selection in relation to sex. J. Murray, *Ed.* London.
2. Mason, R.T. **1992**. Reptilian pheromones In: Gans, C. y Crews, D. (eds.) *Biology of the Reptilia*, Vol. 18. University of Chicago Press, Chicago, pp 114-228.
3. Martín, J. y López, P. **2007**. Scent may signal fighting ability in male Iberian rock lizards. *Biology Letters*, 3, 125-127.
4. Martín, J., Moreira, P.L. y López, P. **2007**. Status-signalling chemical badges in male Iberian rock lizards. *Functional Ecology*, 21, 568-576.
5. López, P. y Martín, J. **2005**. Female Iberian wall lizards prefer male scents that signal a better cell-mediated immune response. *Biology Letters*, 1, 404-406.
6. Martín, J. y López, P. **2006**. Links between male quality, male chemical signals, and female mate choice in Iberian rock lizards. *Functional Ecology*, 20, 1087-1096.
7. López, P., Gabriot, M. y Martín, J. **2009**. Immune activation affects chemical sexual ornaments of male Iberian wall lizards. *Naturwissenschaften*, 96, 65-69.
8. Martín, J. y López, P. **2006**. Vitamin D supplementation increases the attractiveness of males' scent for female Iberian rock lizards. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 273, 2619-2624.
9. Martín, J. y López, P. **2008**. Female sensory bias may allow honest chemical signaling by male Iberian rock lizards. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 62, 1927-1934.
10. Smadja, C. y Butlin, R.K. **2009**. On the scent of speciation: the chemosensory system and its role in premating isolation. *Heredity*, 102, 77-97.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Martín, J. y López, P. **2010**. Pheromones and reproduction in Reptiles. En: Norris, D.O. y Lopez, K.H. (eds.) *Hormones and reproduction in Vertebrates. Reptiles*. Academic Press.
- Müller-Schwarze, D. **2006**. *Chemical ecology of Vertebrates*. Cambridge University Press.
- Wyatt, T.D. **2003**. *Pheromones and animal behaviour*. Cambridge University Press.



---

## 5.4

### Evolución de la Coloración en las Aves: Darwin Reivindicado

Alberto Velando<sup>1</sup> y Roxana Torres<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de *Ecología e Biología Animal*. *Universidad de Vigo*. 36310 Vigo, España. <sup>2</sup>*Instituto de Ecología*. *Universidad Nacional Autónoma de México*. México DF, México

#### RESUMEN

En este trabajo revisamos las hipótesis propuestas por Darwin y Wallace sobre la evolución de la coloración en las aves, un tema sobre el que ambos discreparon, tanto en público como en privado. Darwin propuso que la coloración brillante en los machos de muchas especies de aves podría ser el resultado de la elección de las hembras. En cambio, Wallace sostuvo que la coloración brillante de las aves era un carácter ancestral, que se había perdido en las hembras de muchas especies para un mayor camuflaje durante la incubación. Diversas evidencias empíricas corroboraron esta y otras propuestas de Wallace, y pronto la selección por elección de pareja propuesta por Darwin fue olvidada. Así, hasta 1991, ningún trabajo empírico había analizado la hipótesis de Darwin para la coloración de las aves. En las dos últimas décadas, sin embargo, se han realizado más de 90 estudios sobre esta idea, los cuáles corroboran que la coloración brillante en las aves influye en el éxito de apareamiento, tal y como proponía Darwin. Los estudios recientes indican que la elección de pareja es una importante fuerza selectiva que ha modificado las coloraciones de los machos. Así, por ejemplo, nuestros estudios con el piquero de patas azules revelan que las hembras de esta especie utilizan el color de las patas de los machos para evaluar su condición y modificar sus decisiones reproductivas después del apareamiento. La elección de pareja –la hipótesis de Darwin– tiene implicaciones en muchos aspectos de la biología de las especies, como la evolución del cuidado parental y las estrategias vitales, en la especiación y en otros muchos procesos que los biólogos tan sólo estamos empezando a comprender.

#### 1. INTRODUCCIÓN

La coloración de las aves ha fascinado al hombre en todas las épocas y culturas, inspirando diversas manifestaciones artísticas. Las plumas coloridas de las aves se han utilizado en rituales, vestidos y adornos. Desde hace mucho tiempo, el color del plumaje también ha llamado la atención de los naturalistas, aunque antes de Darwin era considerado como una manifestación del creador. Por ejemplo, William Kirby (1833), un reputado naturalista de aquella época, sostenía que: “*el plumaje colorido de las aves, su belleza y su complejidad, son una prueba de la existencia del creador*”. En este artículo revisamos como las investigaciones recientes han demostrado la idea de Darwin según la cual la elección femenina es una importante fuerza selectiva en la evolución de los colores brillantes de los machos en muchas especies de aves. Además, los

estudios recientes señalan que la coloración de las aves no sirve sólo para el apareamiento, ya que desempeña importantes funciones después de la formación de pareja, como revelan nuestros estudios con el piquero de patas azules (Figura 1).



**Figura 1. Pareja de piqueros de patas azules (*Sula nebouxi*) en la Isla Isabel, México.** Los machos y las hembras tienen unas patas de color azul turquesa brillante durante el cortejo que exhiben a su pareja en danzas ritualizadas.

## 2. LA CONTROVERSI A ENTRE WALLACE Y DARWIN

El 1 de julio de 1858, Charles Robert Darwin y Alfred Russel Wallace presentaron públicamente en la *Linnean Society* de Londres la teoría de la selección natural, teoría que posteriormente Darwin desarrollaría en su libro *El Origen de las Especies*, publicado el 24 de Noviembre de 1859 (1). Según esta teoría, la selección natural favorece a los caracteres heredables beneficiosos para el individuo que los porta, en términos de producir más copias en la siguiente generación, por lo que estos caracteres se expanden en la población. Antes de Darwin se creía que las adaptaciones eran fruto del diseño inteligente del creador, como William Paley defendía en su *Teología Natural* (1802). Sin embargo, la teoría de la selección natural ha conseguido explicar con éxito las adaptaciones de los animales y de las plantas, una de las mayores revoluciones científicas de nuestra era. Después de la muerte de Darwin, Wallace se convirtió en un fiero defensor de la selección natural como explicación de las adaptaciones de los organismos, lo que él mismo denominó Darwinismo (2). En vida, Darwin y Wallace se tenían un profundo respeto, pero hubo un tema sobre el que discreparon profusamente, tanto en público como en privado - muy

educadamente, por supuesto-; ambos tenían una visión contrapuesta sobre cómo evolucionó el color de las aves. A continuación resumimos sucintamente la controversia.

Para Darwin, la coloración brillante de las aves era una objeción seria para la teoría de la selección natural. Tenía que buscar una explicación convincente a su evolución, sobre todo teniendo en cuenta que se usaba como una evidencia de la creación divina. De sus observaciones durante sus viajes y del intercambio de experiencias en sus charlas con ornitólogos, comprobó que los machos de muchas especies de aves eran muy coloridos, mientras que las hembras de esas especies lucían plumajes de colores pardos y poco llamativos.. Este hecho le sugirió que el color brillante de los machos podía ser consecuencia de la preferencia de las hembras en esas especies, y en *El Origen de las Especies* plasmó esta hipótesis “...no tengo razones para dudar que las hembras de los pájaros, escogiendo durante miles de generaciones a los machos más bellos, según su tipo de belleza, pudieran producir un efecto marcado... pero no tengo espacio aquí para entrar en este asunto”. La explicación de Darwin fue un poco vaga, como él mismo reconocía, y ciertamente a Wallace no le convenció y propuso otra hipótesis, que las aves las hembras son más oscuras para camuflarse y no ser detectadas por los depredadores durante la incubación. Así, para Wallace la selección natural habría modificado a las hembras y no a los machos.

Los argumentos de Wallace no persuadieron a Darwin. Se conservan las cartas que, al menos en cuatro ocasiones, intercambiaron polemizando sobre la evolución del color en las aves. En 1871, Darwin publicó su libro *El origen del hombre y la selección en relación al sexo* (3), donde expuso más exhaustivamente sus argumentos sobre la selección sexual. En este libro dedicó cuatro capítulos a la coloración de las aves y a rebatir algunos de los argumentos de Wallace. Darwin no dudaba que el camuflaje durante la incubación pudiese ser el origen de las coloraciones crípticas de las hembras en algunas especies, pero esta idea no explicaba por qué en especies que nidifican en cavidades los machos eran brillantes y las hembras oscuras. En estos capítulos dedicados a las aves, Darwin presenta muchos ejemplos de especies en las que los machos son muy coloridos y se exhiben ante las hembras, y especies en las que estas coloraciones alcanzan su máxima expresión durante el cortejo. Así concluye que “*las evidencias actuales señalan que las aves tienen una aguda capacidad de observación y parecen tener una capacidad para apreciar la belleza en el color... los ornamentos han sido adquiridos aún a costa de aumentar el riesgo de ser detectados por aves y bestias de presa...*”

Los ejemplos expuestos por Darwin tampoco disuadieron esta vez a Wallace en su rechazo a la elección de pareja como fuerza selectiva en la evolución de la coloración del plumaje en las aves. En el libro *Naturaleza Tropical* (1878) y especialmente en *Darwinismo* (1889) (2), Wallace desarrolla de forma exhaustiva una teoría sobre cómo la selección natural ha modificado la coloración de los animales. Así, propuso que la coloración en los animales es adaptativa y su función está relacionada con: (1) la protección frente a depredadores, (2) la señalización de peligro, en aquellas especies que tienen defensas -como los animales venenosos- o aquellos que los imitan, o (3) el reconocimiento de individuos de la misma especie. Ya que la coloración



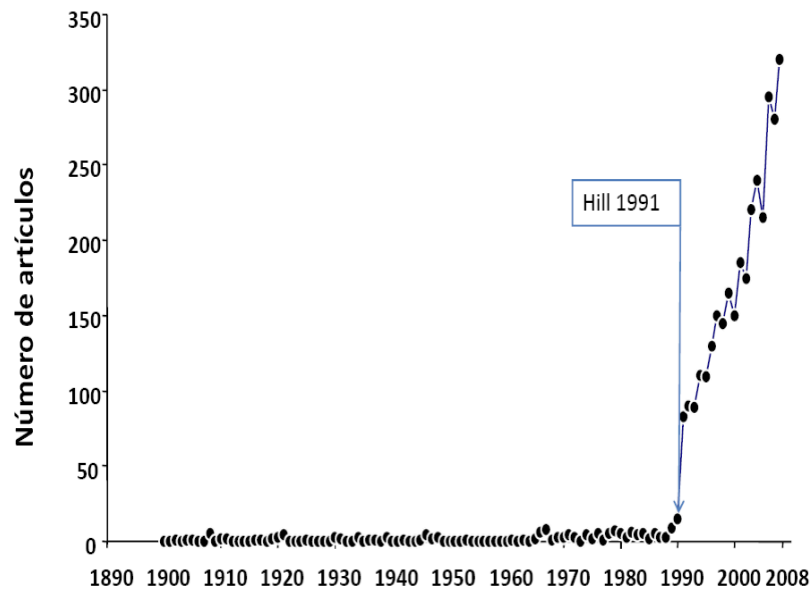
brillante de algunas aves no encajaba en las hipótesis propuestas, Wallace propuso para este caso una explicación no adaptativa: en las aves los colores brillantes serían un carácter ancestral y “*el color puede aparecer como el resultado necesario de la constitución química altamente compleja de los tejidos y fluidos animales*” (2). La selección por tanto actuaría sobre los organismos desviándolos de la coloración brillante ancestral, como la coloración pálida de las hembras de muchas especies de aves, que les protegería de los depredadores durante la incubación. Wallace sostenía que la selección natural bastaba para explicar la evolución del color de los animales: “*Incluso al rechazar la fase de la selección sexual dependiente de la elección de las hembras, recalco la gran eficacia de la selección natural. Está es la doctrina primordial Darwinista, y por lo tanto reclamo para mi libro la posición de esta en la defensa del Darwinismo puro.*” Darwin no pudo contestar a los argumentos de Wallace, murió en 1882.

### 3. EL ESTUDIO DE LA COLORACIÓN DE LAS AVES: DARWIN REIVINDICADO

Las hipótesis de Wallace sobre el camuflaje, mimetismo y la coloración aposemática (que advierte que los organismos son peligrosos o desagradables) pronto se vieron apoyadas por evidencias empíricas – no tanta suerte corrió la idea de la coloración para el reconocimiento intraespecífico. En cambio, la hipótesis de que los colores brillantes podrían haber evolucionado por elección de pareja propuesta por Darwin pronto se olvidó, incluso por los propios Darwinistas. Como ejemplo, la monografía publicada por Hugh B. Cott en 1940 sobre *La coloración adaptativa de los animales*; en la que en ninguna de sus páginas se menciona la evolución por elección de pareja. En el prólogo de este libro Julian Huxley, uno de los artífices de la síntesis evolutiva, sostenía que era “*el trabajo definitivo sobre la coloración de los animales*”.

Aunque algunas evidencias sugerían que las hembras podían elegir a los machos por sus características, los naturalistas y científicos asumieron que la coloración de las aves era un estado ancestral o el resultado de la selección natural, como proponía Wallace. Así, entre 1910 y 1991 tan solo tres trabajos teóricos –y ninguno empírico– consideraron la posibilidad de que la elección femenina pudiese favorecer la aparición de las coloraciones brillantes en los machos (Figura 2). Pero en 1991, Geoffrey E. Hill publicó un experimento en la revista *Nature* que tendría gran influencia en nuestra comprensión de la evolución del color en las aves. En el pinzón mexicano (*Carpodacus mexicanus*), Hill investigó si las hembras eligen a los machos por su coloración. En esta especie, durante el cortejo, los machos muestran una gran variación en la coloración de las plumas del pecho. Modificando el color de las plumas del pecho antes del apareamiento descubrió que las hembras preferían aparearse con los machos que tenían plumas rojo brillante. Tuvieron que pasar 132 años para que la hipótesis de Darwin fuese puesta a prueba. Después de la aparición de este estudio, los biólogos evolutivos empezaron a estudiar este fenómeno en otras especies de aves. Entre 1991 y 2008 han aparecido más de 90 estudios que señalan que la coloración brillante en las aves influye en el apareamiento (Figura 2). Hoy en día ningún investigador duda que Darwin tenía razón cuando decía que la coloración de las aves y que la belleza y colorido que muestran los

plumajes, los picos o las patas en muchas especies ha evolucionado por la elección de pareja.



**Figura 2. Artículos publicados sobre coloración en aves según el Institute for Scientific Information (ISI).** El primer artículo que estudia la hipótesis de la evolución de los colores brillantes por elección de pareja propuesta por Darwin aparece en 1991 (Hill 1991: *Nature*). Los trabajos anteriores no hacen mención a esta hipótesis excepto en dos trabajos teóricos (O'Donald 1972: *Nature*; Hamilton & Zuk 1982: *Science*)

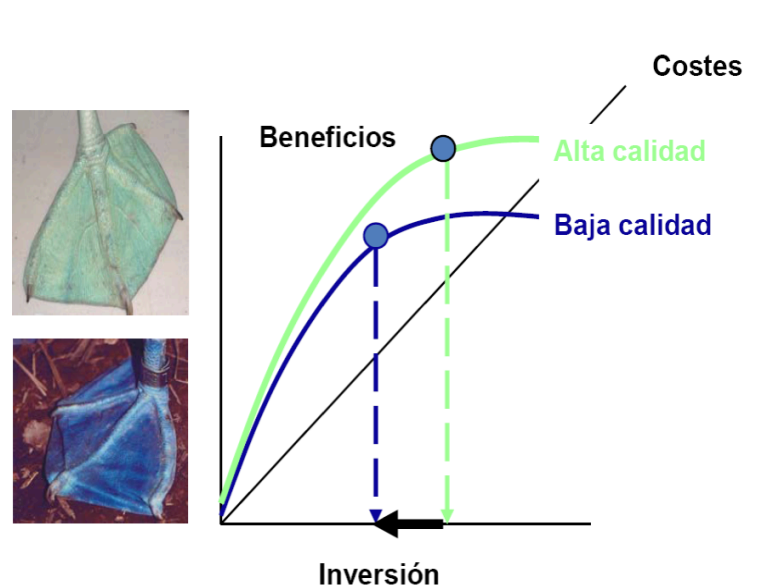
Pero la hipótesis de la elección de pareja propuesta por Darwin abre más preguntas que respuestas. Por ejemplo, si la coloración brillante beneficia a los machos, ¿por qué no todos los machos de una especie son brillantes?, ¿qué beneficios obtienen las hembras?, ¿qué implicaciones tiene? Estas preguntas han ocupado a muchos investigadores en las últimas décadas (4). Ahora sabemos que muchas de las coloraciones llamativas de los machos de las aves indican su condición. Las coloraciones producidas por los carotenoides son un buen ejemplo de ello. Los carotenoides son pigmentos liposolubles que las aves no pueden sintetizar, por lo que los obtienen de la dieta. Estos pigmentos pueden indicar la capacidad de forrajeo de los machos. Además, estos pigmentos tienen importantes funciones fisiológicas -mejoran el sistema inmune y pueden actuar como antioxidantes -aunque esta última función todavía es objeto de estudio. Sólo los individuos en buena condición podrán usar los carotenoides como pigmentos en plumas y tegumentos (4). Sin embargo quedan muchas cosas por averiguar y los mecanismos que aseguran la sinceridad de estas señales es, hoy en día, objeto de un intenso debate.

Otra importante controversia en la que se han enzarzado los biólogos evolutivos en las últimas décadas concierne a los beneficios que obtienen las hembras al emparejarse con machos coloridos. En especies en las que hay

cuidado parental, las hembras que eligen a machos coloridos pueden obtener buenos padres para sus hijos. Algunas evidencias sugieren que esta hipótesis se puede aplicar a varias especies de aves. Pero hay especies en que los machos no aportan cuidado parental y el emparejamiento de las hembras con estos machos dura tan solo unos pocos minutos, el tiempo necesario para transferir un poco de esperma. En estas especies, ¿qué beneficios obtienen las hembras al copular con machos coloridos? En el esperma, las hembras obtienen genes, lo que ha llevado a pensar que las hembras obtienen beneficios genéticos, al obtener hijos atractivos o genes de viabilidad. Estas hipótesis han fomentado un gran debate y aunque existen evidencias que las apoyan, continua siendo objeto de intensa investigación (4).

#### 4. EL COLOR EN AVES MONOGAMAS: ESTUDIOS EN AVES MARINAS

Aunque la mayoría de los trabajos sobre color en aves se han enfocado al estudio de la coloración en el plumaje, un gran número de especies despliegan colores muy brillantes en tegumentos. Por ejemplo, en el piquero de patas azules, un ave marina colonial y de larga vida, el color de las patas es de un azul turquesa muy brillante (Figura 1). El color de las patas de los machos de este piquero es muy variable durante el periodo de cortejo (Figura 3) y resulta del efecto combinado de la estructura de la membrana y la presencia de pigmentos carotenoides amarillos (6).



**Figura 3. Variación en el color de las patas del piquero de patas azules durante el cortejo.** El color refleja la condición individual y predice su calidad como padres y su calidad genética. La selección debería favorecer ajustes finos de la inversión en relación a la calidad de la pareja expresada en la coloración. Los beneficios de invertir en una estación para una hembra (en número de descendientes viables) varían según la calidad de su pareja y por tanto varía la relación óptima entre beneficios y costes (estos últimos en términos de descendientes viables en las siguientes reproducciones).

Durante el cortejo, los machos exhiben de forma exagerada su color mediante movimientos ritualizados, como si fueran parte de una danza, a menudo acompañados de vocalizaciones. Estos despliegues aumentan su frecuencia durante el periodo de cortejo, que dura varias semanas, hasta que se completa la puesta. ¿Por qué siguen exhibiendo la coloración de sus patas una vez emparejados? Nosotros pensamos que una vez que se elige una pareja, ambos miembros podrían seguir evaluando a la pareja y modificar sus decisiones reproductivas de acuerdo a la condición o a la calidad genética de su pareja. Así, por ejemplo, una vez emparejados los piqueros no son totalmente fieles a su pareja y aproximadamente la mitad de las hembras copulan en alguna ocasión con otros machos, además de su macho pareja (i.e. realizan cópulas extra pareja). Además de afectar las probabilidades de obtener una pareja y procrear con ella, la coloración podría influir en las decisiones reproductivas de la pareja tales como cuanto invierte en las crías. Nuestros estudios a lo largo de varios años han mostrado que las hembras del piquero utilizan el color de las patas de los machos para evaluar su condición y modificar sus decisiones reproductivas. Así, el color de las patas del piquero es una señal bajo selección por elección femenina (y masculina), que afecta a la reproducción.

En el piquero de patas azules las hembras prefieren a los machos con patas azul turquesa. En un experimento en el que modificamos el color de las patas de los machos de azul turquesa a azul oscuro, las hembras disminuyeron su cortejo y copularon menos (5). El color de las patas de los piqueros puede cambiar en unas cuantas horas de azul turquesa a azul oscuro si la condición nutricional del individuo se deteriora (6). Por otro lado, los carotenoides están relacionados con la respuesta inmune de los organismos, y en el piquero, el color de las patas (que depende de carotenoides) refleja su capacidad inmune (6). En un estudio en el que intercambiamos los huevos entre diferentes nidos para separar efectos ambientales y genéticos, encontramos que la condición de los pollos durante las primeras semanas de vida está relacionada con el color de las patas del padre adoptivo, y en menor medida, con el color de patas del padre genético (7). Esto indica que el color refleja el esfuerzo paterno y podría estar relacionado con la calidad genética del padre. Es decir, el color de las patas es una señal honesta de la condición y del esfuerzo paterno; además es una señal muy dinámica, por lo que puede funcionar como un indicador de la condición del individuo que se actualiza continuamente.

En el contexto de la teoría de historias de vida (o estrategias vitales), las hembras, para maximizar su éxito total a lo largo de la vida, deberían de invertir en cada evento reproductivo de acuerdo a las probabilidades de éxito de ese evento particular. Por ello, esperaríamos que las hembras apareadas con machos en buena condición o de alta calidad (e.g. un macho con color de patas azul turquesa) aumenten su inversión en la reproducción, mientras que las hembras apareadas con machos en baja condición o de baja calidad la disminuyan (Figura 3). En el piquero de patas azules las hembras ajustan su inversión en la reproducción en función del color de las patas de su pareja. Las hembras apareadas con machos a los cuales modificamos, durante la puesta, el color de sus patas a un azul oscuro -indicando un macho en baja condición- disminuyeron el volumen de la puesta (probablemente modificando la calidad de los huevos) y modificaron la concentración de algunas de las hormonas que

la madre asigna a los huevos (6,8). Estos ajustes sutiles de la inversión de la hembra en los huevos tuvieron efectos importantes en las crías. Los huevos de las hembras apareadas con machos con color de patas azul oscuro tuvieron un éxito de eclosión mas bajo, y las crías tuvieron una respuesta inmune más débil. Es decir, las hembras del piquero ajustan sus decisiones reproductivas (e.g. número de pollos o condición o fenotipo de los mismos) en función del color de las patas del padre, una señal que indica su condición y esfuerzo parental.

Pero, ¿por qué las hembras del piquero, aunque menos brillantes que los machos, también tienen las patas azul turquesa durante el cortejo? Para explicar la presencia y la evolución de colores brillantes en las hembras, y de sus ornamentos en general, Darwin propuso dos hipótesis (3). La primera hipótesis sugiere que los ornamentos en las hembras han evolucionado porque los genes que codifican los ornamentos en los machos también se transmiten a las hijas, aunque en ellas no tengan ninguna función. Es decir, según esta hipótesis los colores brillantes o cualquier otra característica exagerada en las hembras no tiene ninguna función como señal sexual y sólo ocurre debido a una correlación genética no funcional entre los sexos. La segunda hipótesis sugiere que los ornamentos en las hembras pueden haber evolucionado por selección sexual, igual que ocurre en los machos.

En el piquero, el color de las patas de las hembras parece ser una señal bajo selección sexual. Cuando modificamos el color de las patas de las hembras a un azul oscuro, las hembras recibieron menos cortejo de su pareja y fueron menos atractivas para otros machos, es decir recibieron menos cortejo extra-pareja (9). Entonces, si el color de las patas de las hembras es una señal que los machos utilizan para evaluar su calidad o condición, ¿por qué las hembras despliegan un color menos brillante que los machos? Se ha propuesto que debido a que los ornamentos son costosos, para las hembras el compromiso entre cuanto invertir en la fecundidad y cuanto en los ornamentos limita su inversión en características relacionadas al atractivo sexual. Para evaluar en el piquero si la inversión en el atractivo sexual de las hembras (i.e. su color de patas) limita su inversión en la producción de los huevos, y si este compromiso esta relacionado con la disponibilidad de carotenoides realizamos un experimento en que les suplementamos carotenoides durante el periodo de puesta (10). En el grupo control (i.e. no recibieron carotenoides) las hembras que pusieron huevos mas grandes mostraron un color de patas menos brillante, mientras que cuando recibieron carotenoides, las hembras que produjeron huevos grandes pudieron mantener un color de patas mas brillante (10). Los resultados sugieren que para las hembras hay un compromiso entre la fecundidad y el atractivo sexual y que este compromiso está relacionado con la disponibilidad de carotenoides.

#### **4. CONCLUSIONES**

A pesar de que se han hecho grandes avances en el estudio de la coloración en aves estamos apenas al inicio. Los resultados en general han apoyado la hipótesis de la elección de pareja como una de las fuerzas claves en la

evolución del color en aves y han descubierto implicaciones interesantes. Por ejemplo, se ha sugerido que debido a que la producción de señales coloridas es costosa y a menudo depende de pigmentos carotenoides, el color podría ser una señal que indique el estatus oxidativo del individuo. Aun más, la inversión en la producción de algunos ornamentos podría comprometer la inversión en mantenimiento fisiológico del organismo afectando su tasa de senescencia y también su estrategia reproductiva.

Los estudios en el piquero de patas azules indican que los procesos de elección y evaluación de la pareja en especies monógamas son más complejos y dinámicos de lo que pensábamos y que el color de sus patas juega un papel clave en varios componentes de su historia vital.

**5. AGRADECIMIENTOS** Queremos agradecer a todas aquellas personas que nos han ayudado durante estos años en el trabajo de campo en la Isla Isabel y a las organizaciones que han financiado el trabajo (UNAM, CONACYT, Ministerio de Ciencia y Tecnología) y brindado apoyo logístico (Personal del Parque Isla Isabel y Armada de México).

## 6. REFERENCIAS

1. Darwin, C. **1859**. On the origin of species by means of natural selection. J. Murray, Ed. London.
2. Wallace, A. R. **1889**. Darwinism: An Exposition of the Theory of Natural Selection, with Some of Its Applications Macmillan, London.
3. Darwin, C. **1871**. The Descent of Man, and Selection in Relation to Sex. J. Murray, Ed. London.
4. Hill, G. E. & MacGraw, K. J. (Eds) **2006** Bird Coloration Vol I & II. *Harvard University Press*, Ed. London
5. Torres, R. & Velando, A. **2003**. A dynamic trait affects continuous pair assessment in the blue-footed booby, *Sula nebouxii* **Behavioural Ecology & Sociobiology**, 55: 65-72.
6. Velando, A. et al. **2006**. Pigment-based skin colour in the blue-footed booby: an honest signal of current condition used by females to adjust reproductive investment. **Oecologia**, 149: 543-552.
7. Velando, A., et al. **2005**. Male coloration and chick condition in blue-footed booby: a cross-fostering experiment. **Behavioural Ecology & Sociobiology**, 58: 175-180.
8. Dentressangle F., et al. **2008**. Maternal investment in eggs is affected by male feet colour and breeding conditions in the blue-footed booby, *Sula nebouxii*. **Behavioural Ecology & Sociobiology**, 62: 1899-1908
9. Torres, R. & Velando, A. **2005**. Male preference for female foot colour in a seabird with a mixed mating strategy. **Animal Behaviour**, **69**: 59-65
10. Morales, J. et al. **2009**. Fecundity limits attractiveness when pigments are scarce. **Behavioral Ecology**, 20: 117-123.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Hill G. E. **1992**. A red bird in a brown bag. Oxford University Press, Oxford.
- Martín-Vivaldi, M. & Cabrero, J. **2003**. Selección Sexual. En: Evolución. La Base de la Biología. Soler, M (Ed) Proyecto Sur, Granada.

- Senar J. C. **2004**. Mucho más que plumas Museu de Ciències Naturals, *Ed.* Barcelona.



---

# 5.5

## Selección Sexual Post-Cópula y la Evolución de la Poliandria

Francisco García-González

*Centre for Evolutionary Biology. The University of Western Australia. Nedlands 6009, Perth, Australia.*

### RESUMEN

En un gran número de especies las hembras se aparean de manera poliándrica (con varios machos durante un mismo episodio reproductivo). Este comportamiento tiene consecuencias evolutivas de suma importancia, incluyendo que posibilita la continuación de la selección sexual más allá del apareamiento. Por ello, la comprensión del significado adaptativo de la poliandria ha suscitado gran interés entre los biólogos evolutivos. Aquí se exponen, a grandes rasgos, las principales hipótesis que se han sugerido para explicar el apareamiento múltiple femenino desde una perspectiva evolutiva, y se discuten brevemente algunos retos pendientes en este área. Se destaca el hecho de que existen procesos de selección sexual post-cópula que pueden jugar un papel fundamental en la adquisición de beneficios de naturaleza genética por parte de las hembras poliándricas.

### 1. LA POLIANDRIA Y SUS IMPLICACIONES EVOLUTIVAS

El desarrollo de la biología molecular ha hecho posible que los análisis de paternidad sean una herramienta común en el estudio de ecología del comportamiento y evolución. Gracias a ello y a cuidadosos estudios observacionales ahora sabemos que la poliandria está mucho más extendida en el mundo animal de lo que antes se creía. La frecuencia con la que se describe la existencia de paternidad múltiple en nuevos estudios es asombrosa. En aves, por ejemplo, un grupo que tradicionalmente se ha tomado como ejemplo representativo de los sistemas de apareamiento monógamos, al menos 7 de cada 10 especies estudiadas presentan diferentes grados de paternidad múltiple. En este dato se incluyen especies que aun siendo socialmente monógamas (es decir, en las cuales se establecen parejas de manera permanente durante el periodo reproductivo) exhiben copulas extra-pareja.

Frecuentemente, el comportamiento poliándrico da lugar a la coexistencia de gametos de diferentes machos en el tracto reproductor femenino. En estos casos la poliandria implica la continuación de la selección sexual más allá del apareamiento, por medio de la competencia espermática (competencia entre los eyaculados de varios machos por la fertilización de los óvulos de una hembra) y la elección críptica femenina (cuando algún carácter femenino influye en el resultado de la competencia espermática, es decir, en la paternidad). Estos mecanismos de selección sexual post-cópula juegan un papel decisivo en la evolución de numerosos caracteres ligados a la



reproducción. Al margen de facilitar mecanismos de selección sexual post-cópula, la poliandria puede materializar interacciones antagonistas entre los sexos si la selección ejercida por la competencia espermática favorece rasgos en los machos que incrementen su eficacia biológica a expensa de la de las hembras (conflicto sexual). De esta manera, la poliandria posibilita la coevolución sexual antagonista basada en procesos que se resuelven después del apareamiento. Resumiendo, la poliandria tiene implicaciones evolutivas de gran alcance. Sin embargo, la pregunta ¿Por qué se aparean las hembras con múltiples machos? sigue, en la mayoría de los casos, sin una respuesta clara.

## 2. EL MISTERIO DE LA POLIANDRIA

El hecho de que la poliandria esté tan extendida en el mundo animal contrasta con lo que, a priori, se podría esperar, como a continuación se detalla. En un trabajo altamente influyente para el estudio de la ecología evolutiva, Robert Trivers identificó las consecuencias que las diferencias en inversión parental entre los sexos tienen para la selección sexual (1). Los argumentos de Trivers sugieren que el límite máximo en el éxito reproductor de una hembra se establece con un número de apareamientos mucho menor que aquel necesario para que los machos alcancen el suyo. La razón de estas diferencias radica en la asimetría entre machos y hembras en cuanto a la inversión parental en la descendencia. Esta asimetría viene determinada originalmente por las diferencias en el tamaño de los gametos (anisogamia) y en el número de éstos. La anisogamia implica que desde la fusión del óvulo y el espermatozoide, la inversión parental difiere entre los sexos: las hembras contribuyen con el material genético, los nutrientes y la maquinaria para que el cigoto se desarrolle, mientras que generalmente los machos únicamente aportan material genético. Esta asimetría inicial se suele extender a etapas del desarrollo posteriores (generalmente las hembras invierten más en el cuidado parental). En resumidas cuentas, los machos producen números astronómicos de gametos y suelen invertir poco en la descendencia, por lo que, teóricamente, podrían aumentar su eficacia biológica (número de descendientes) de manera proporcional al número de apareamientos que realicen. Por el contrario, las hembras tienen un número de gametos limitado y realizan una mayor inversión en la descendencia, lo que supone que la maximización de su éxito reproductivo se podría conseguir con uno o unos pocos apareamientos.

Por si la limitación impuesta por la anisogamia y la inversión en la descendencia no fuera suficiente, el apareamiento suele conllevar unos costes, como el riesgo de depredación asociado a la búsqueda de pareja, el riesgo de adquirir enfermedades de transmisión sexual, gasto energético, etc. El dilema, entonces, está servido. Si, por norma general, con una cópula las hembras obtienen el número suficiente de espermatozoides con los que fertilizar todos sus óvulos, y si el apareamiento conlleva costes, ¿Por qué la poliandria es tan común? Se han sugerido varias respuestas a esta pregunta, que de manera general se pueden agrupar en dos tipos de explicaciones. Una explicación es de índole no adaptativa, y sugiere que, como consecuencia del conflicto sexual generado por intereses sexuales divergentes, en algunas especies los machos pueden forzar tasas de apareamiento femeninas más altas de las que serían

óptimas para las hembras. La segunda explicación, que se supone más extendida y sobre la cual nos centraremos en este capítulo, es de tipo adaptativo y sostiene que las hembras pueden obtener beneficios del apareamiento múltiple que superen los costes.

### **3. BENEFICIOS DE LA POLIANDRIA: ¿COMIDA Y TECHO, BUENOS GENES, GENES COMPATIBLES, O UN POCO DE TODO?**

Los beneficios que las hembras pueden obtener del apareamiento pueden ser bien de naturaleza material (denominados beneficios directos), o de naturaleza genética (beneficios indirectos). Los primeros son beneficios que las hembras obtienen para ellas mismas y que les permite aumentar el número o la condición física de las crías sin recurrir a ningún proceso de transmisión genética, mientras que los segundos son dividendos genéticos que las hembras obtienen para sus crías.

El beneficio directo más obvio para una hembra es asegurar la fecundación de todos sus óvulos. Este beneficio puede existir en especies en las cuales la razón entre el número de espermatozoides por inseminación y número de óvulos sea baja, o en las que presentan grados agudos de infertilidad masculina. Los problemas de infertilidad masculina en el mundo animal son más comunes que lo que se podría pensar, puesto que no sólo incluyen problemas de esterilidad sino también infertilidad temporal o permanente como resultado de fallos en la intromisión de los órganos copulatorios, fallos en la inseminación, eyaculados de baja calidad o estrategias de ahorro en la inversión en eyaculados por parte de los machos (ver, por ejemplo, (2)). Otros beneficios materiales de la poliandria incluyen el aprovisionamiento de comida por parte de los machos durante la cópula (común en algunas especies de artrópodos), el incremento de parejas que contribuyan en el cuidado parental, o la adquisición de territorios de mayor calidad.

A pesar de que este tipo de beneficios pueden ser la causa del apareamiento múltiple en algunas especies, los aportes materiales no explican el comportamiento poliándrico en un gran número de casos. Por ello, se mantiene que la poliandria puede reportar ganancias de naturaleza genética (3, 4). La existencia de este tipo de beneficios está hoy en día fuera de toda duda, como queda patente por numerosos resultados empíricos. Sin embargo, existe gran controversia entre los biólogos evolutivos en cuanto a cuáles son los procesos o mecanismos implicados en la consecución de estos beneficios.

Una de las hipótesis de mayor peso propone que las hembras se aparean con múltiples machos para obtener genes de buena calidad que confieran alta viabilidad en la descendencia. Esta explicación, conocida como de los "buenos genes" ("*good genes*"), puede incluir tanto mecanismos que tienen lugar antes del apareamiento como después de él. Por ejemplo, en cuanto al escenario pre-cópula las hembras pueden aparearse con machos adicionales si estos son considerados de mayor calidad genética de acuerdo a la expresión de determinados caracteres, lo que ha sido comprobado en numerosas especies hasta la fecha.

Otra de las hipótesis propuestas para la evolución de la poliandria se conoce como de los "hijos sexy" ("*sexy sons*"), la cual sugiere que la poliandria

se puede mantener como resultado de una asociación genética entre un carácter en los machos y la preferencia en las hembras por aparearse con machos que exhiben ese carácter. De esta manera las hembras que se aparean con machos que poseen el carácter producirán hijas que heredaran la preferencia por el carácter, e hijos que serán atractivos para hembras que posean la preferencia. Consecuentemente, la evolución de la preferencia y del carácter se refuerza mutuamente. Este tipo de coevolución, formalizado por Robert Fisher, puede aplicarse al comportamiento poliándrico si la preferencia consiste en una tendencia al apareamiento múltiple por parte de las hembras o bien en un carácter que favorezca el éxito en el apareamiento o en la fecundación por parte de determinados machos.

Las hipótesis de los buenos genes y de los hijos *sexy* se basan en la heredabilidad de calidad genética en el primer caso o del atractivo en el segundo. Dicho de otra forma, se basan en diferencias entre los machos de tipo intrínscico, las cuales son debidas a la existencia de varianza genética (5, 6). En este sentido, estas hipótesis se diferencian de otra hipótesis que ha cobrado gran fuerza recientemente y que propone que la viabilidad de la descendencia puede ser debida no a la existencia de buenos genes sino a una interacción entre los genotipos parentales. Según esta hipótesis los beneficios de la poliandria serían el resultado de la prevención de incompatibilidades genéticas. La existencia de mecanismos para evitar los apareamientos incestuosos y la consanguinidad ilustran el potencial de esta hipótesis como explicación del comportamiento poliándrico.

Por último, otro gran grupo de hipótesis propone que las hembras se pueden beneficiar del apareamiento múltiple sin recurrir a la necesidad de éstas de identificar la calidad, compatibilidad, o variabilidad genética de la pareja. Se ha propuesto que el comportamiento poliándrico puede ser adaptativo si éste resulta en un incremento de la diversidad genética de la prole. De esta manera, si las condiciones ambientales futuras cambian, se incrementan las probabilidades de que al menos parte de la descendencia sea capaz de afrontar los cambios. Esta hipótesis puede ser entendida como una “apuesta por la diversidad genética” (“*diversified bet-hedging*”) (3). También se ha propuesto que en ausencia de indicadores de calidad genética masculina o de la habilidad de las hembras para discriminarla, las hembras poliándricas podrían asegurarse que no todas sus crías sean de baja calidad genética. Esta hipótesis puede ser denominada como “apuesta por la calidad genética” o “aseguramiento de la calidad genética” (“*genetic bet-hedging*”). Sin embargo, algunos resultados teóricos señalan que la evolución de la poliandria basada en este tipo de apuestas es probable únicamente bajo situaciones muy concretas (3).

#### **4. SELECCIÓN SEXUAL POST-CÓPULA Y EL MANTENIMIENTO DEL COMPORTAMIENTO POLIÁNDRICO**

La selección sexual post-cópula puede jugar un papel crucial a la hora de explicar el significado adaptativo de la poliandria. Paradójicamente, la competencia espermática y la elección femenina post-cópula, que son procesos que ocurren como consecuencia del comportamiento poliándrico, pueden a su vez ser causa fundamental de su mantenimiento. Esto es posible si las hembras

que favorecen la inseminación múltiple obtienen beneficios genéticos como resultado de la coexistencia de gametos pertenecientes a varios machos en sus tractos reproductores. Una de las aproximaciones experimentales más informativas a este respecto consiste en la separación de los efectos producidos por el número de cópulas de los producidos por el número de parejas. Imaginemos que comparamos la viabilidad de la descendencia de dos grupos de hembras: en un grupo (grupo monógamo) cada hembra se aparea con un sólo macho un número determinado de veces, mientras que en el otro grupo (grupo poliándrico) cada hembra se aparea con un número de machos igual al número de cópulas que realizan las hembras en el primer grupo, y sólo una vez con cada macho. De este modo todas las hembras reciben el mismo número de apareamientos pero difieren en el número de parejas. Este tipo de diseño experimental permite identificar los beneficios genéticos sin la influencia de posibles beneficios materiales. Los resultados de estos experimentos llevados a cabo en varias especies (mayoritariamente insectos) han revelado que en determinados casos la poliandria aumenta la eficacia biológica femenina por medio de procesos que ocurren después de la cópula.

En el contexto de la selección sexual post-cópula, las principales hipótesis que se manejan para explicar el comportamiento poliándrico están basadas en principios similares a los descritos anteriormente. Así, tenemos la analogía post-cópula de la hipótesis de los buenos genes, denominada del “esperma bueno” (“*good sperm*”), que sostiene que las hembras poliándricas pueden obtener una mayor calidad genética para su descendencia como consecuencia de promover la competencia espermática. Esto es factible si existe una asociación de tipo genético entre el éxito masculino en la fecundación y la calidad genética de la descendencia, puesto que esta daría lugar a que los machos más exitosos en la competencia espermática (es decir, aquellos que obtienen mayor paternidad) produjeran descendencia de mayor viabilidad. Las hembras poliándricas, por lo tanto, incrementarían la probabilidad de que sus óvulos fueran fecundados por machos de alta calidad genética (siendo esta, por supuesto, heredable). Esto ocurriría incluso si las hembras no fueran capaces de discernir antes de la cópula que machos son los más competitivos; la competencia espermática en el tracto reproductor femenino se ocuparía de actuar a modo de filtro de la calidad genética de los machos. Por otra parte, también se ha propuesto la hipótesis del “esperma sexy” (“*sexy sperm*”). Bajo esta hipótesis las hembras poliándricas podrían obtener beneficios para su descendencia si el éxito masculino en la fertilización o un carácter masculino determinante de ese éxito (por ejemplo, la longitud de los espermatozoides) estuviera genéticamente correlacionado bien con un carácter femenino que sesga la paternidad, o bien con la frecuencia en el apareamiento femenina. Gracias a esta asociación genética, la evolución del carácter masculino y la preferencia femenina se reforzarían mutuamente y se extenderían rápidamente en la población ya que los hijos de las hembras poliándricas heredarían mayor aptitud para fecundar los huevos mientras que las hijas heredarían la preferencia que permite a los machos materializar su alta competitividad.

Estas dos hipótesis no han recibido la atención empírica que se merecen debido a que su contraste exige altas dosis de control experimental. No obstante, Fisher et al (7) han publicado recientemente el test más robusto hasta

la fecha de la hipótesis del “buen espermatozoide”. Estos autores estudiaron los beneficios de la poliandria en un pequeño marsupial australiano y obtuvieron una relación positiva entre la capacidad competitiva de los machos para fecundar los óvulos y la supervivencia de la descendencia.

La hipótesis de la incompatibilidad genética también tiene cabida en el terreno post-cópula, sugiriendo que las hembras poliándricas aumentan la probabilidad de que sus óvulos sean fecundados por machos genéticamente compatibles. Esto puede ocurrir por medio de interacciones entre las células sexuales debidas a incompatibilidades genéticas de los individuos parentales, lo que se ha comprobado en algunos casos. Sin embargo, en la mayoría de las especies se torna complicado diferenciar esta explicación de otras hipótesis, o diferenciarla incluso de procesos que ocurren después de la fecundación tales como la inversión diferencial por parte de las hembras en las crías (ver más abajo) (6).

Por último, las hipótesis basadas en apuestas diversificadas o minimización de riesgos (“*bet-hedging*”) también tienen cabida cuando los eyaculados de varios machos coexisten de manera espacial y temporal en el tracto reproductor femenino. La hipótesis de la apuesta de la calidad genética sugiere que las hembras que se aparean con múltiples machos reducen la probabilidad de que todos sus huevos sean fertilizados por un macho de baja calidad genética. En cuanto a la hipótesis de la apuesta de la diversidad genética basada en procesos post-cópula, ésta sugiere que las hembras poliándricas promueven la inseminación múltiple para asegurar la variabilidad genética en su descendencia. Como ocurre con sus análogos en escenarios pre-cópula, los beneficios de la poliandria a través del “*bet-hedging*” ocurrirían incluso en la ausencia de indicadores de la calidad genética de los machos (o de la de sus gametos), o en la ausencia de la habilidad femenina para discriminar estos indicadores.

## 5. ALGUNOS RETOS PENDIENTES

Los últimos años han sido testigos de un avance importante en cuanto al significado adaptativo de la poliandria. A pesar de ello, se podría decir que aun estamos en etapas tempranas en lo relativo a la comprensión de los procesos de selección sexual post-cópula, y de su importancia a la hora de determinar las tasas de apareamiento femeninas.

Antes de discutir algunos retos particulares en este terreno, merece la pena mencionar que un aspecto clave para avanzar en el estudio de la selección sexual y la evolución de la poliandria es el conocimiento de la base genética de caracteres que determinan la eficacia biológica. La existencia de diferencias intrínsecas en la habilidad de los machos de conferir viabilidad o calidad genética a sus crías se ha verificado en algunos casos. Por ejemplo, en una especie de insecto en la cual la poliandria resulta en un mayor éxito en la eclosión de los huevos, se ha mostrado con un diseño experimental de genética cuantitativa que los machos difieren en su habilidad para generar embriones viables, y que estas diferencias son heredables (5). Sin embargo, también se ha sugerido que, en general, los beneficios aportados por procesos basados en “buenos genes” reportan incrementos de eficacia biológica

moderados, que en algunos casos pueden ser insuficientes para compensar los costes directos del comportamiento poliándrico.

En relación con el punto anterior, uno de los desafíos actuales más acuciantes es la determinación de la existencia de diferencias heredables entre los machos en cuanto a su éxito competitivo en la fecundación de los óvulos. Esto es de suma importancia para discernir qué procesos post-cópula (basados en buenos genes *versus* genes compatibles) pueden ser responsables de la evolución o mantenimiento del comportamiento poliándrico (8). Un problema al que nos enfrentamos es que la determinación de la repetibilidad o heredabilidad de la capacidad de un macho de fertilizar óvulos en condiciones de competencia espermática es difícil de estimar desde el punto de vista experimental (8). Otro problema que afecta el estudio del papel de procesos post-cópula en la evolución de la poliandria es la frecuente imposibilidad de determinar el éxito en la fecundación de los machos en el momento preciso en que la fecundación ocurre (9). Primero, porque la fecundación es un proceso normalmente críptico que ocurre internamente, y segundo porque es complicado determinar la paternidad en cigotos o embriones en etapas de desarrollo tempranas. Por ello, el éxito en la fecundación se suele estimar en el momento del nacimiento o la eclosión de los huevos. Esto conlleva el peligro de que las estimaciones del éxito en la fecundación estén contaminadas en mayor o menor medida por variación en la viabilidad de la descendencia durante el periodo que va desde la fusión de los gametos al momento en el cual la paternidad es estimada (9). Todos estos obstáculos en el estudio de la selección sexual post-cópula merecen ser tenidos en cuenta, pero no son insalvables. El uso de nuevas técnicas de biología molecular y técnicas de fecundación *in vitro*, el uso de marcadores que permiten determinar paternidad antes de la eclosión o el nacimiento, y el uso de nuevos modelos en ecología del comportamiento, son sólo algunos ejemplos de vías que pueden ser útiles para seguir avanzando.

Otro problema a tener presente es el que ocurre cuando las hembras invierten de manera diferencial en los huevos o crías dependiendo de la identidad o calidad de los machos, o dependiendo de si el apareamiento es múltiple o no. Este tipo de inversión diferencial se ha observado en algunas especies animales. La inversión diferencial puede confundir seriamente las interpretaciones de beneficios de la poliandria puesto que los resultados observables de esta inversión femenina son, a menudo, indistinguibles de los resultados esperados por otros procesos.

Una cuestión prometedoras en el estudio de la poliandria es el análisis de efectos maternos o paternos ("*maternal or paternal effects*") sobre la viabilidad de la descendencia. Estos efectos son influencias ambientales en el fenotipo de la descendencia que son debidas a la expresión de genes en las madres o en los padres. Los efectos maternos están extendidos en la naturaleza (como ejemplo típico se puede pensar en la calidad y cantidad de leche materna en animales lactantes). Sin embargo, los efectos paternos han sido generalmente menospreciados en aquellos casos en los que los machos no realizan cuidado parental. A pesar de ello, recientemente se ha mostrado su existencia en una especie en la cual la contribución de los machos se limita a la transferencia del eyaculado durante el apareamiento. García-González y Simmons realizaron un estudio que permitió distinguir los efectos paternos de

efectos puramente genéticos (10). En este trabajo, llevado a cabo en un insecto, se utilizó un marcador morfológico (una mutación en el color de los ojos) para determinar la paternidad de los embriones de machos apareados en condiciones de monogamia (un macho-una hembra) y condiciones de poliandria (dos machos-una hembra). Una vez determinada la paternidad de la descendencia en estado embrionario, se observó la viabilidad de los embriones hasta el momento de la eclosión. Los resultados mostraron que cuando una misma hembra se aparea de manera múltiple con un macho de baja calidad genética y con un macho de alta calidad genética, la viabilidad de las crías generadas por el macho de baja calidad genética aumenta (en comparación con la viabilidad de las crías de este macho cuando se aparea en monogamia). Estos resultados revelan que, al menos en la especie estudiada, existen efectos paternos que determinan la viabilidad de los cigotos en condiciones de apareamiento múltiple. Los resultados sugieren que en algunas especies en las que no existe cuidado paternal, las hembras se podrían beneficiar del comportamiento poliándrico a través de efectos paternos. La existencia de estos efectos transgeneracionales y el papel que pueden jugar en la promoción del comportamiento poliándrico necesitan, sin embargo, ser examinados con mayor detalle antes de sacar conclusiones de carácter más general.

## 6. CONCLUSIONES

El comportamiento poliándrico y su prevalencia en el mundo animal son hechos intrigantes desde el punto de vista evolutivo. Aquí se han mostrado algunas de las consecuencias evolutivas de la poliandria y se han expuesto brevemente las principales hipótesis hasta ahora sugeridas para explicar su mantenimiento. Algunas de las hipótesis más robustas desde un punto de vista teórico involucran la acción de procesos de selección sexual que ocurren después de la cópula. La comprensión del significado adaptativo de la poliandria mejorará si se logra profundizar en varios aspectos relacionados con la selección sexual. Un mayor énfasis en la comprensión de procesos y mecanismos que actúan en el periodo que va desde el apareamiento a la fecundación se presenta prometedor, al igual que una mayor comprensión del papel femenino en la determinación de la paternidad de sus óvulos en condiciones de competencia espermática, y un mayor entendimiento de la arquitectura genética de caracteres que determinan el éxito en el apareamiento, el éxito en la fecundación, y la eficacia biológica en general. El estudio de las causas y consecuencias del apareamiento poliándrico representa un capítulo emocionante en el estudio de la evolución.

**7. AGRADECIMIENTOS** Las limitaciones de formato no hacen posible citar en este artículo todas las fuentes relevantes de muchas de las ideas o investigaciones que forman la base del conocimiento discutido. Se quiere agradecer desde aquí a todos los autores de estas contribuciones. Agradezco a Juan José García Adeva sus acertados comentarios y correcciones. El apoyo financiero se debe a una "Australian Research Fellowship" y un "Discovery Project" por parte del Australian Research Council.

## 8. REFERENCIAS

1. Trivers, R. L. **1972**. Parental investment and sexual selection. En: *Sexual Selection and the Descent of Man* (ed. Campbell, R.). Pp: 136-179. Heinemann. London.
2. García-González, F. **2004**. Infertile matings and sperm competition: The effect of "Nonsperm Representation" on intraspecific variation in sperm precedence patterns. **Am Nat**, 164. Pp: 457-472.
3. Yasui, Y. **1998**. The "genetic benefits" of female multiple mating reconsidered. **TREE**, 13. Pp: 246-250.
4. Jennions, M. D. & Petrie, M. **2000**. Why do females mate multiply? A review of the genetic benefits. **Biol Rev**, 75. Pp: 21-64.
5. García-González, F. & Simmons, L. W. **2005**. The evolution of polyandry: intrinsic sire effects contribute to embryo viability. **J Evol Biol**, 18. Pp: 1097-1103.
6. Neff, B. D. & Pitcher, T. E. **2005**. Genetic quality and sexual selection: an integrated framework for good genes and compatible genes. **Mol Ecol**, 14. Pp: 19-38.
7. Fisher, D. O., Double, M. C. et al. **2006**. Post-mating sexual selection increases lifetime fitness of polyandrous females in the wild. **Nature**, 444. Pp: 89-92.
8. García-González, F. **2008**. The relative nature of fertilization success: Implications for the study of post-copulatory sexual selection. **BMC Evol Biol**, 8. Pp: 140.
9. García-González, F. **2008**. Male genetic quality and the inequality between paternity success and fertilization success: Consequences for studies of sperm competition and the evolution of polyandry. **Evolution**, 62. Pp: 1653-1665.
10. García-González, F. & Simmons, L. W. **2007**. Paternal indirect genetic effects on offspring viability and the benefits of polyandry. **Curr Biol**, 17. Pp: 32-36.

## 9. LECTURAS RECOMENDADAS

- Birkhead, T.R. **2000**. *Promiscuity: An Evolutionary History of Sperm Competition and Sexual Conflict*. Faber & Faber. London.
- Jennions, M.D. & Petrie, M. **2000**. Why do females mate multiply? A review of the genetic benefits. **Biol Rev**, 75. Pp: 21-64.
- Barash, D.P. & Lipton, J.E. **2001**. *The myth of monogamy*. Henry Holt, New York.





---

## 5.6

### Darwin y las Lombrices de Tierra: Selección Sexual en Animales Hermafroditas

Jorge Domínguez y Alberto Velando

*Departamento de Ecología e Biología Animal. Universidade de Vigo. 36310 Vigo. España*

#### RESUMEN

Las interpretaciones del hermafroditismo han estado influidas por la vieja idea de que los organismos pueden ordenarse de menor a mayor en una serie teleológica en la que el hombre se sitúa en lo más alto. La consecuente noción de que el hermafroditismo es una condición primitiva todavía sigue entre nosotros. Darwin consideraba que los animales hermafroditas, aquellos con órganos masculinos y femeninos en el mismo individuo, no podían estar sometidos a la selección sexual porque la “unión de sexos” los hacía incapaces de percibir el atractivo o la rivalidad de sus parejas y además por su incapacidad para ejercer ningún tipo de elección. Esto se ha considerado así hasta hace muy poco tiempo y se ha justificado sobre la base de que las habilidades sensoriales de estos animales eran muy limitadas, fundamentalmente como consecuencia de su posición en los niveles más bajos de la escala animal. En contra de esta idea, nosotros hemos encontrado que las lombrices de tierra son capaces de detectar el grado de parentesco, la calidad y el estado de apareamiento de sus parejas. Así encontramos que las lombrices triplican el volumen de esperma donado cuando copulan con lombrices no vírgenes. Además, ese aumento en el volumen de esperma donado es mayor cuando copulan con parejas más fecundas, lo que indica que son capaces de controlar la función masculina de una forma precisa y flexible durante la cópula. También encontramos que la endogamia y la exogamia reducen la producción de huevos, lo que indica la existencia de un ajuste reproductivo de las lombrices en función de la divergencia genética de sus parejas, es decir, que la función femenina también es fenotípicamente flexible. En definitiva, podemos concluir que las lombrices de tierra son muy flexibles fenotípicamente, que la evaluación de pareja está sometida a una selección intensa en los hermafroditas y que las lombrices de tierra constituyen un excelente modelo para estudiar selección sexual en hermafroditas. Estos resultados están más en concordancia con las posteriores observaciones que Darwin hizo de las lombrices de tierra que con sus primeras conclusiones sobre los animales hermafroditas. En 1881 escribió un curioso y exitoso libro, donde entre otras cosas afirmaba que *“a pesar de estar abajo en la escala de organización, poseen algún grado de inteligencia...”*.

#### 1. INTRODUCCIÓN

En el capítulo IX de su libro *“El origen del hombre, y la selección en relación al sexo”*, Charles Darwin (1) afirmaba que la selección sexual estaba restringida a los animales superiores y apuntaba, por ejemplo, que “los Anélidos están aparentemente tan abajo en la escala natural y de organización, como para que

los individuos de cualquiera de los sexos puedan tener la posibilidad de elegir a sus parejas, o para que los individuos del mismo sexo puedan competir o rivalizar". Desde entonces y hasta hace muy poco tiempo se ha considerado que el hermafroditismo en los invertebrados era incompatible con la selección sexual, debido precisamente a esa incapacidad para la elección de pareja y/o a la ausencia de competencia directa por los apareamientos.

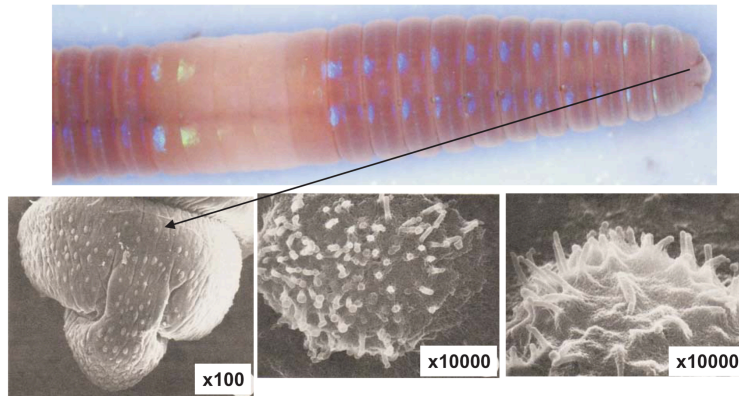
Las lombrices de tierra son anélidos oligoquetos macroscópicos que viven en el suelo. Estos invertebrados representan la mayor biomasa animal en la mayoría de ecosistemas templados terrestres, y allí donde son abundantes pueden procesar a través de sus cuerpos hasta 250 toneladas del suelo por hectárea al año. Este inmenso trabajo de trasiego influye de forma muy significativa en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, y otorga a las lombrices un papel crucial en la modificación de la estructura del suelo, en la aceleración de la descomposición de la materia orgánica y del reciclado de nutrientes, lo que tiene a su vez efectos muy importantes sobre las comunidades vegetales que viven por encima de la superficie del suelo. Se han descrito hasta la fecha más de 8.000 especies de lombrices de tierra, aunque de la gran mayoría sólo se conoce el nombre y su morfología, y se desconoce por completo su biología, sus ciclos de vida y su ecología.

Las lombrices de tierra son hermafroditas simultáneos que se reproducen repetidas veces a lo largo de su vida y cuyo crecimiento es indeterminado.

¿Por qué las lombrices de tierra son hermafroditas simultáneos?. El hermafroditismo se ve favorecido cuando el éxito reproductivo total que alcanza un hermafrodita es mayor que el de un macho o el de una hembra. Esto ocurre, por ejemplo cuando las densidades de población son bajas, y la probabilidad de encuentro entre los sexos es muy limitada. Sin embargo, la densidad de lombrices de tierra en muchos casos es muy alta, entre 100 y 500 individuos por metro cuadrado y puede alcanzar incluso los 2.000 individuos por metro cuadrado en prados templados o huertos irrigados. En estas densas poblaciones los apareamientos múltiples son muy frecuentes. Además, un detalle importante es que en estas poblaciones la densidad y la probabilidad de apareamiento son muy fluctuantes, oscilando de forma frecuente e impredecible, lo que hace que la eficacia biológica de las funciones masculina y femenina sea muy variable. En situaciones como ésta, cuando el ambiente es impredecible en escalas de tiempo más cortas que el ciclo de vida, es esperable que la plasticidad fenotípica se vea favorecida y, en este sentido, Brauer et al. (2) han señalado que esta plasticidad fenotípica podría explicar por qué el hermafroditismo se mantiene en poblaciones con densidades altas y fluctuantes.

Pero para ser fenotípicamente flexibles, las lombrices deben ser capaces de reconocer y de evaluar a sus parejas. En las últimas décadas algunos estudios sugieren esta posibilidad, y aunque no están todavía claras cuales son las señales que utilizan las lombrices de tierra en estos procesos de reconocimiento y evaluación, lo más probable es que se trate de mecanismos táctiles y químicos. Las lombrices poseen una gran cantidad de quimiorreceptores y de células sensoriales en la superficie de su cuerpo, la mayoría de ellos concentrados en los segmentos más anteriores y sobre todo en los primeros (Figura 1). Además, en varias especies de lombrices de tierra

se ha observado la existencia de una especie de cortejo precopulatorio, en el que los dos individuos de la pareja se tantean de forma continuada mediante toda una serie de toques cortos y repetidos antes de unirse para la cópula. Por otra parte, las cópulas de las lombrices de tierra son largas e implican movimientos de constricción entre los individuos de la pareja, lo que también les proporciona oportunidades claras para la evaluación de la misma.



**Figura 1. Para poder tomar decisiones, las lombrices deben ser capaces de reconocer y de evaluar a sus parejas.** Las lombrices poseen una gran cantidad de quimiorreceptores y células sensoriales en la superficie del cuerpo, la mayoría de ellos concentrados en los segmentos anteriores.

Como ocurre en muchas otras especies de animales hermafroditas, la producción de huevos en las lombrices aumenta con el tamaño del cuerpo, es decir, las lombrices más grandes son más “hembras” que las pequeñas y en este sentido pueden considerarse como más fecundas. En relación con esto y con la elección de pareja en la cópula, Michiels et al. (3) encontraron que las lombrices de la especie *Lumbricus terrestris* tenían preferencia por parejas de un tamaño mayor que el suyo. Esto parece que también ocurre en el campo, y así nosotros hemos encontrado la existencia de apareamiento concordante en relación al tamaño en una población natural de la especie de lombriz de tierra *Eisenia fetida* (4). Dado que el intercambio de esperma durante la cópula es generalmente recíproco, los individuos más pequeños pueden ser rechazados por aquellos más grandes, y esto daría lugar a estos apareamientos concordantes en función del tamaño del cuerpo. Estos patrones de apareamiento no azaroso revelan la existencia más que probable de mecanismos de selección de pareja en las lombrices de tierra.

## 2. OBJETIVOS

Con el objeto de conocer si las lombrices son “flexibles” en la toma de decisiones durante la cópula, realizamos un experimento de doble apareamiento para determinar si las lombrices rojas (*Eisenia andrei*) responden

al estado de apareamiento de sus parejas mediante el ajuste del volumen de sus eyaculados. En una situación simple como ésta (no competencia y un solo competidor) dentro del continuo posible de competencia espermática sería de esperar un incremento del volumen de eyaculado en condiciones de competencia (5).

También estudiamos si las lombrices rojas (*Eisenia andrei*) ajustan su esfuerzo reproductivo en función del grado de parentesco de sus parejas de cópula. Para ello realizamos cruces experimentales en el laboratorio en el que las lombrices se cruzaron con individuos que eran sus hermanos, con individuos que no eran hermanos y pertenecían a su misma población y con otros individuos de una población geográficamente bien separada.

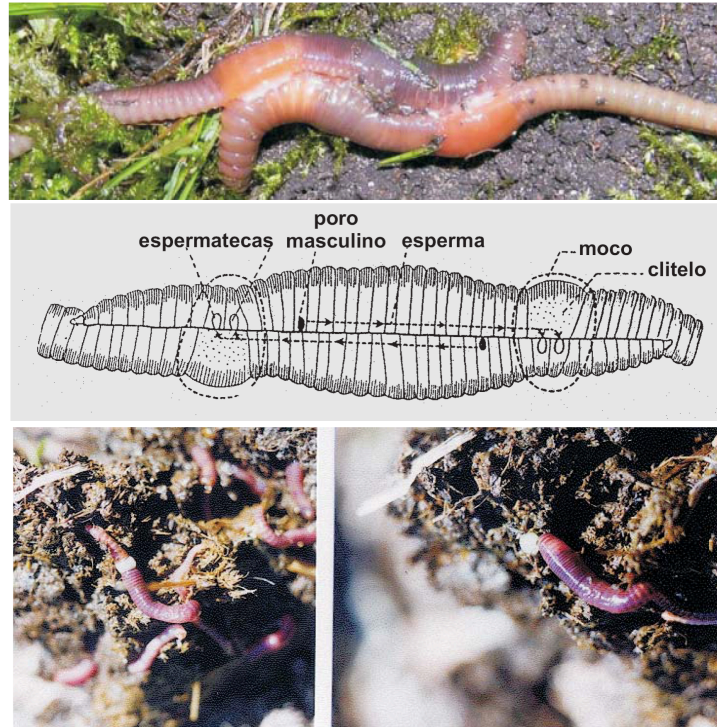
### **Materiales y métodos**

**(a) Lombrices de tierra *Eisenia andrei*** (Bouché 1972) es una especie de lombriz detritívora de origen paleártico y con una distribución cosmopolita debido a su amplia tolerancia a un rango amplio de condiciones de temperatura y humedad. Vive en densidades de población muy altas donde los apareamientos múltiples son muy frecuentes. Durante la cópula de esta especie, los dos individuos se acoplan por su cara ventral en posición inversa y el esperma se transfiere de forma simultánea y recíproca desde el poro masculino de cada uno hasta las espermatecas de su pareja, y allí queda almacenado hasta la puesta de los capullos (Figura 2). Se aislaron individualmente lombrices recién nacidas para asegurar que fueran vírgenes en los cruces experimentales. Las placas se inspeccionaron semanalmente hasta que las lombrices alcanzaron la madurez sexual, detectada por la aparición de los tubérculos pubertarios y el clitelo.

**(b) Experimento de doble apareamiento** Realizamos un experimento de doble apareamiento para manipular la historia de apareamientos de las lombrices. Una semana antes del comienzo del experimento, las lombrices se marcaron mediante un pequeño tatuaje en los segmentos posteriores del cuerpo, que permitiese reconocer a los individuos después de los cruces. Se asignaron al azar individuos maduros y vírgenes a tres grupos experimentales (primera pareja, segunda pareja y receptor focal); las lombrices tenían pesos corporales similares en los tres grupos experimentales. En primer lugar establecimos 14 parejas de lombrices vírgenes y maduras (primera pareja x receptor focal) en placas Petri. Las lombrices fueron revisadas dos veces al día hasta la aparición de espermátóforos en la pared del cuerpo, indicativos de una cópula reciente. Una vez que las parejas habían completado una cópula, se retiraba una de las lombrices (receptor focal) y se colocaba en una nueva placa petri con otra lombriz virgen y madura (segunda pareja) para un segundo apareamiento (n=14). Después de los apareamientos, las lombrices se fijaron y se conservaron en formol hasta su posterior disección.

**(c) Estimación del volumen de esperma.** Las espermatecas (dos pares) se diseccionaron bajo un estereomicroscopio y posteriormente se aplastaron hasta un espesor uniforme con la ayuda de un cubreobjetos sobre un portaobjetos

con relieve lateral. La masa de esperma se fotografió con una cámara digital y su volumen se estimó utilizando un software de análisis de imágenes. El volumen total de esperma se calculó como la suma del volumen de las cuatro espermatecas.



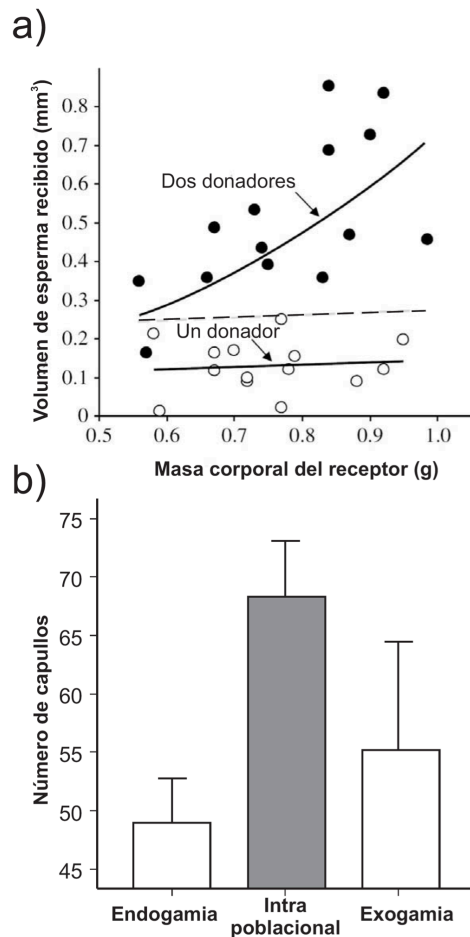
**Figura 2. La copula y puesta de capullos en las lombrices de tierra.** Durante la cópula (fotografía superior), el esperma sale por el poro masculino y se desplaza por la pared del cuerpo a través del surco espermático hasta el clitelo y pasa al interior de las espermatecas de la pareja. El esperma queda almacenado hasta el momento de la formación del capullo que contiene los óvulos, que serán fecundados a su paso por las espermatecas, como se observa en las dos fotografías inferiores

**(d) Experimento de exogamia y endogamia.** En este experimento se utilizaron cinco familias formadas, cada una de ellas, por cuatro hermanos recién nacidos de una misma pareja de lombrices rojas (*Eisenia andrei*). Los recién nacidos se criaron individualmente en placas petri hasta que alcanzaron la madurez sexual y entonces se establecieron los siguientes cruces experimentales: cruces endogámicos (hermano x hermano de una población de Vigo), cruces intrapoblacionales (individuos no hermanos de una población de Vigo) y cruces exogámicos (lombrices de una población de Vigo x lombrices de una población de Madrid). Tras los cruces las lombrices se aislaron otra vez individualmente en placas Petri y se registró el número de capullos producidos por las lombrices durante 15 semanas.

### 3. RESULTADOS

El volumen de esperma almacenado en las espermatecas fue similar en las primeras y en las segundas parejas de las lombrices focales, lo que indica que no hubo agotamiento de esperma tras dos cópulas consecutivas. Además, el esperma estaba distribuido de forma similar en las cuatro espermatecas.

Las lombrices respondieron al estado de apareamiento de sus parejas y triplicaron el esperma donado cuando copularon con individuos que habían copulado recientemente (Figura 3a) y además, esos aumentos en el volumen de esperma donado fueron mayores cuando las lombrices copularon con parejas de mayor tamaño (6). Estos resultados indican que las lombrices han desarrollado mecanismos que les permiten detectar el estado reproductivo de sus parejas y ajustar la inversión de esperma con el objeto de maximizar sus oportunidades de fecundación.



**Figura 3. Flexibilidad fenotípica de la función masculina y de la función femenina en las lombrices de tierra.** (a) Volumen total de esperma (mm<sup>3</sup>) almacenado después de la cópula con uno y dos donadores en relación a la masa corporal del receptor. La línea de puntos indica el volumen de esperma esperable si el volumen de esperma donado por el 2º donador fuese similar al donado por el 1º. (b) Número de capullos producidos por las lombrices en cruces endogámicos, intrapoblacionales y exogámicos.

De hecho, en muchos animales en los que las hembras almacenan esperma, los machos detectan el estado de apareamiento de las hembras y, para competir con el esperma rival lo que hacen es aumentar el aporte de esperma cuando copulan con hembras no vírgenes (5, 8).

La mayoría de estudios de competencia espermática se han realizado en organismos con los sexos separados, aunque los modelos teóricos también sugieren que la competencia espermática debe ser un importante agente selectivo con importantes consecuencias en las estrategias de vida de los hermafroditas simultáneos. De hecho, la capacidad de ajustar el volumen de eyaculado durante la cópula no había sido demostrado de forma convincente hasta este momento en ningún hermafrodita.

Cuando quisimos comprobar la hipótesis de si las lombrices eran capaces de detectar el grado de parentesco de sus parejas y de reaccionar en consecuencia, encontramos que la endogamia y la exogamia reducen de forma significativa el éxito reproductivo de las lombrices de tierra (Figura 3b), lo que indica la existencia de un ajuste reproductivo de las lombrices en función de la divergencia genética de sus parejas, es decir, que la función femenina también es fenotípicamente flexible (7).

#### 4. CONCLUSIONES

Estos resultados demuestran de forma clara que las lombrices de tierra son muy flexibles fenotípicamente y que esta flexibilidad esta modulada tanto por la función masculina como por la función femenina. También ponen de evidencia que la evaluación de pareja, ya no es que simplemente exista, sino que está sometida a una intensa selección en los animales hermafroditas. Estos trabajos junto a otros que nuestro equipo de investigación ha venido desarrollando en la última década ilustran de forma clara que las lombrices de tierra constituyen un excelente modelo para estudiar la selección sexual en animales hermafroditas.

En su último trabajo, Charles Darwin dedicó todo un libro al estudio de la biología de las lombrices de tierra (9). Contrariamente a lo que pensaba y había expuesto en 1871 (1) pero de acuerdo con sus numerosas observaciones, Darwin concluyó que las lombrices de tierra poseen un potencial cognitivo bastante mayor que el que se creía. Los resultados de nuestros trabajos en el ámbito de la biología evolutiva de las lombrices de tierra concuerdan claramente con esta visión y muestran que el sistema de reconocimiento de las lombrices es en realidad altamente eficiente en términos de evaluación de pareja y es muy importante para el éxito reproductivo de estos animales.

**5. AGRADECIMIENTOS** Los trabajos que aquí se exponen han sido parcialmente financiados con fondos FEDER y el proyecto CGL2006-11928/BOS del Ministerio de Educación y Ciencia.

#### 6. REFERENCIAS

1. Darwin, C. **1871**. The descent of man, and selection in relation to sex. J. Murray, *Ed.* London.

2. Brauer, V. S., et al. **2007**. Phenotypically flexible sex allocation in a simultaneous hermaphrodite. *Evolution*, 61, 216–222.
3. Michiels, N. K. et. al. **2001**. Precopulatory mate assessment in relation to body size in the earthworm *Lumbricus terrestris*: avoidance of dangerous liaisons? *Behavioral Ecology*, 12, 612-618.
4. Monroy, F., et al. **2005**. Size-assortative mating in the earthworm *Eisenia fetida* (Oligochaeta, Lumbricidae). *Journal of Ethology*, 23, 69–70.
5. Wedell, N. et al. **2002**. Sperm competition, male prudence and sperm-limited females. *Trends in Ecology and Evolution*, 17, 313–319.
6. Velando, A. et al. **2008**. Brainless but not clueless: earthworms boost their ejaculates when they detect fecund non-virgin partners. *Proceedings of the Royal Society B*, 257, 1067-1072.
7. Velando, A. et al. **2006**. Inbreeding and outbreeding reduces cocoon production in the earthworm *Eisenia andrei*. *European Journal of Soil Biology* 42, S354-S357.
8. Frieberg, U. 2006. Male perception of female mating status: its effect on copulation duration, sperm defence and female fitness. *Animal Behavior* 72, 1259-1268.
9. Darwin, C. **1881**. The formation of vegetable mould, through the action of worms, with observations on their habits. J. Murray, Ed. London.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Darwin, C. 1881. The formation of vegetable mould, through the action of worms, with observations on their habits. J. Murray, Ed. London.
- Ghiselin, M. T. 2006. Sexual selection in hermaphrodites: where did our ideas come from? *Integrative and Comparative Biology*, 46, 368–372.



---

# 5.7

## Estrategias Reproductivas en Parásitos de la Malaria

Santiago Merino y Josué Martínez de la Puente

*Departamento de Ecología Evolutiva, Museo Nacional de Ciencias Naturales, Consejo Superior de Investigaciones Científicas. C/ José Gutiérrez Abascal 2. 28006 Madrid, España.*

### RESUMEN

En este trabajo recopilamos la información publicada en los últimos años por nuestro equipo de investigación sobre la existencia de estrategias adaptativas de parásitos similares a los causantes de malaria en aves. Hasta hace poco se pensaba que estos parásitos una vez que infectaban a su hospedador vertebrado simplemente se multiplicaban en su interior y su crecimiento era limitado por las defensas del organismo infectado. Sin embargo, la existencia de formas pre-sexuales con marcadas desviaciones en la proporción de sexos en estos parásitos ha dado lugar a la exploración de la posible existencia de estrategias adaptativas en estos seres que les permitan ajustar la proporción de sexos según las circunstancias. Encontramos que la reducción de densidad de la infección produce un cambio adaptativo en la proporción de sexos del parásito *Haemoproteus* infectando una población silvestre del ave herrerillo común (*Cyanistes caeruleus*). Además comprobamos que las infecciones de más de un parásito en un mismo eritrocito en esta especie no parece ser una estrategia para asegurar la fertilización en el mosquito vector sino en todo caso el producto de una respuesta del hospedador para mitigar los efectos de la infección. Si bien todavía queda mucho por saber en esta área parece que estos protozoos parásitos son capaces de responder a estímulos que producen la reducción de densidad de la infección de forma adaptativa.

### 1. INTRODUCCIÓN

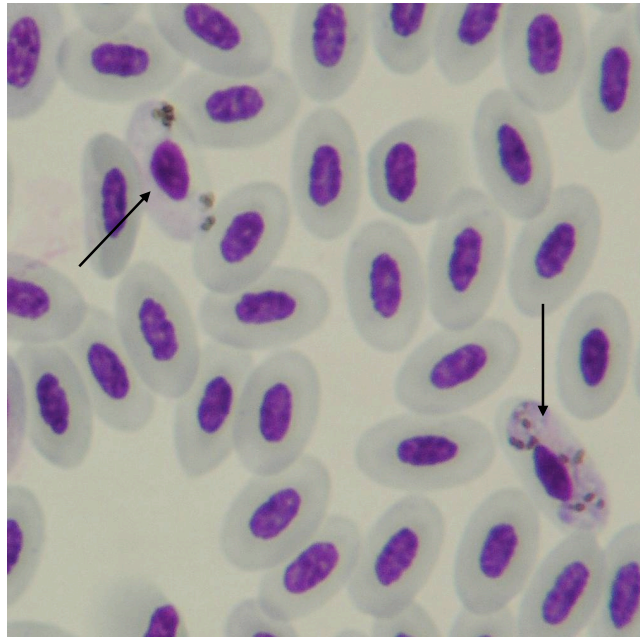
Una proporción de sexos equilibrada comprende una relación 1:1 en la frecuencia de sexos. Esto es así pues en situaciones de desequilibrio, los individuos del sexo menos numeroso tendrían mayor eficacia biológica. Pero en ciertas ocasiones nos podemos encontrar con situaciones de marcada desproporción de sexos, lo que ineludiblemente nos conduce a preguntarnos el ¿por qué? La respuesta puede ser algo compleja y los parásitos de la malaria nos pueden proporcionar algunas respuestas.

Los parásitos causantes de la malaria son unos protozoos que se transmiten a través de la picadura de un mosquito o insecto vector. Estos parásitos, una vez en el torrente sanguíneo del hospedador vertebrado alcanzan órganos internos y se multiplican. Tras varios estadios vuelven al torrente sanguíneo esta vez para infectar glóbulos rojos. En ese momento, algunos de los parásitos se desarrollan en una forma pre-sexual, macho o hembra, que tras ser ingerida por el mosquito dará lugar a un único gameto en

el caso de la hembra o a varios microgametos en el caso del macho. Puesto que los parásitos macho forman entre seis y ocho microgametos y cada uno es capaz de fecundar un gameto femenino, la producción de gametos óptima para el parásito podría presentar sesgos hacia hembras de entre un 60 y un 80%. De esta forma se producirían únicamente tantos machos como fueran necesarios para fecundar a las hembras, evitando producir un exceso de los mismos. Esto puede ocurrir bajo ciertas circunstancias como ya explicó William Hamilton en 1967 (1). En concreto, se podría esperar esta infección óptima cuando solo una o unas pocas líneas infectaran al hospedador y los descendientes resultantes se aparearan entre ellos. Con este ajuste en la producción de sexos se evitaba “desperdiciar” recursos en una producción de machos que luego tendrían que competir entre ellos mismos por aparearse con las hembras disponibles. Una competencia que podría considerarse poco o nada adaptativa si las hembras y los machos son hermanos como es el caso en varias especies de himenópteros parasitoides donde solo una o unas pocas hembras ponen sus huevos en un mismo hospedador en el que se desarrollan hasta el estado adulto. Una vez en el exterior se aparean entre ellos y sólo las hembras se dispersan en busca de nuevos hospedadores en los que depositar los huevos. Por supuesto, si varias hembras infectan el mismo hospedador, la estrategia óptima varía puesto que los machos producidos por una de las hembras deberán de competir por los apareamientos con los machos de otras. Así, cuanto mayor sea el número de hembras que han depositado sus huevos en un hospedador, menor será el sesgo hacia hembras. Está hipótesis llamada “competición local por la pareja” (“Local Mate Competition”) se puede aplicar también a los parásitos sanguíneos puesto que las infecciones son producidas por solo una o unas pocas líneas en cada hospedador y los machos y hembras producidos competirán entre ellos por los apareamientos en el intestino del insecto vector. Así, los sesgos hacia hembras en *Plasmodium falciparum*, uno de los parásitos causantes de la malaria en humanos, alcanzan cotas mayores del 80% (2). También parece que según disminuye el grado de endogamia de la infección, es decir, que más líneas lo componen, menor sesgo se produce (2). En este sentido Reece y colaboradores han demostrado recientemente que infecciones de *Plasmodium chabaudi* son capaces de variar su sex ratio en respuesta a la presencia de otras líneas coinfectivas (3). Por otro lado, un estudio reciente desarrollado por investigadores del Instituto Pasteur de París, ha encontrado un efecto conjunto de la proporción de sexos y la densidad de parásitos en el éxito de transmisión de *Plasmodium falciparum* al insecto vector, de modo que un incremento en la proporción de parásitos machos incrementaba el éxito de transmisión cuando la abundancia de gametocitos era baja, encontrándose el caso contrario a altas densidades de gametocitos (4).

Sin embargo, en el caso de algunos de estos parásitos puede no producirse un sesgo tan marcado. Este es el caso de *Haemoproteus*, un pariente de *Plasmodium* (Ver Figura 1). Este parásito se transmite mediante la picadura de un insecto vector de apenas 2-3 mm de longitud perteneciente al género *Culicoides*, más comúnmente conocidos como jejenes. Debido a su reducido tamaño, la cantidad de sangre que estos insectos ingieren es también muy pequeña. Por ello, en el caso de infecciones de *Haemoproteus* que alcancen una baja densidad en sangre, si el sesgo estuviera muy desviado hacia hembras podría ocurrir que sólo llegaran al intestino del mosquito formas

productoras de hembras y el ciclo no se cerraría. En esta situación una estrategia de producción de sexos óptima se puede ver afectada por la necesidad de producir una proporción más equilibrada que asegure la fertilización en el mosquito vector. Esta es la hipótesis del “seguro de la fertilidad” (“Fertility Insurance”) propuesta por West y colaboradores en 2002 (5).



**Figura 1. El parásito sanguíneo *Haemoproteus*.** El estadio que infecta estos glóbulos rojos del herrerillo común se llama gametocito y son formas pre-sexuales que pueden distinguirse con facilidad (arriba un macho y abajo una hembra). Los glóbulos rojos de las aves están nucleados en su madurez.

Por otro lado, en estos parásitos suele ocurrir con cierta frecuencia que más de una célula parásita entre en el mismo glóbulo rojo (o eritrocito) a desarrollarse (6). Tradicionalmente se ha considerado que este tipo de infecciones (invasiones) múltiples en el mismo eritrocito son un producto del azar, un error del parásito cuando la densidad de la infección es elevada. Sin embargo, el parásito podría asegurar también la fertilidad en este sentido si los parásitos que infectan el mismo glóbulo son de distinto sexo. Bastaría con que uno solo de estos glóbulos fuera ingerido por el mosquito para conseguir al menos una fecundación y, por tanto, que el mosquito fuera también infectado (6). Podríamos por tanto, postular una estrategia parasitaria para asegurar la fertilidad que consistiera en infectar cada glóbulo con un parásito que se desarrollara en macho y otro que se desarrollara en hembra. Esto sería especialmente útil cuando la densidad de parásitos en sangre se redujera y siempre que ambos parásitos se desarrollaran con éxito en la célula sanguínea infectada (6). Sin embargo, si este tipo de infecciones de más de un parásito en el mismo glóbulo no maduraran correctamente o estuviesen formadas por

parásitos del mismo sexo, podríamos descartar que pudiera ser una estrategia adaptativa del parásito. Aún más, podríamos estar entonces ante una estrategia adaptativa del hospedador puesto que si la introducción de más de un parásito en una célula hospedadora es provocada por las defensas del hospedador y estas infecciones no son adaptativas para el parásito, el hospedador se vería beneficiado de tener menos células sanguíneas infectadas que en el caso de que cada parásito infecte un único eritrocito (7).

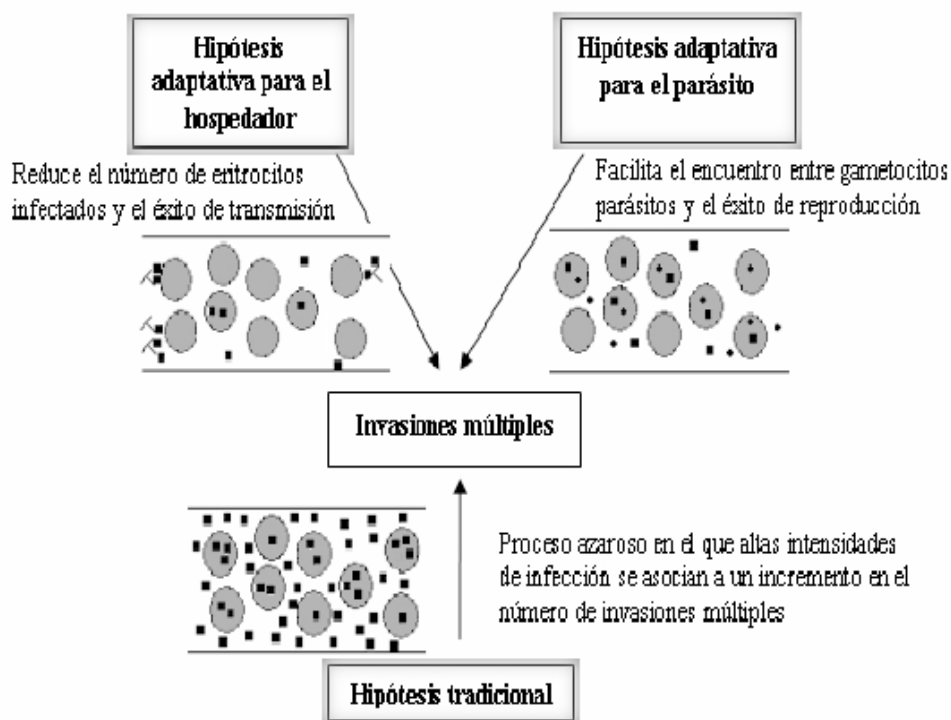
## 2. OBJETIVOS

Con el objetivo de explorar todas estas posibilidades en la naturaleza nos propusimos realizar una serie de experimentos en una población de herrerillo común (*Cyanistes caeruleus*) que cría en cajas-nido dispuestas a tal efecto en un robledal de los montes de Valsaín, en el centro de España. Sabíamos de antemano que esta población sufre de un alto nivel de infección por el parásito productor de malaria aviar *Haemoproteus*. De hecho, cerca del 80 % de las aves de esta especie en el área de estudio solían estar infectadas (8). Este hecho nos permitió asignar las aves sin un conocimiento previo de su estado real de infección a uno de los dos tratamientos siguientes: 1) grupo medicado, las aves fueron capturadas cuando sus polluelos tenían tres días de edad, se tomó una muestra de sangre para contabilizar la densidad de parásitos y su proporción de sexos y se les inyectó una dosis sub-curativa de un medicamento contra la malaria; 2) grupo control, las aves se capturaron a la misma edad de los polluelos que el grupo medicado y se tomó la muestra de sangre con el mismo propósito pero esta vez se les inyectó una dosis de suero fisiológico. Diez días después se volvieron a capturar tantas aves como fueron posibles de ambos grupos y se tomó una segunda muestra de sangre para volver a cuantificar la densidad de parásitos y su proporción de sexos. De esta forma pretendíamos saber si la reducción en densidad provocada por la medicación provocaría un cambio adaptativo en la proporción de sexos, reduciendo el sesgo hacia hembras de forma que se asegurara la entrada de al menos algún macho en el interior del mosquito y se produjera la fecundación.

Por otro lado, también realizamos experimentos para comprobar si las infecciones múltiples resultaban adaptativas para los parásitos. En esta ocasión el tratamiento de medicación arriba descrito se combinó con la cuantificación en las muestras del número y maduración de las infecciones múltiples así como de su composición por parásitos del mismo o distinto sexo. Esto nos permitiría saber si este tipo de infecciones por parásitos de distinto sexo en el mismo glóbulo rojo prosperaban y aumentaban con la disminución en densidad, lo cual sería un rasgo inequívoco de un funcionamiento de resultado adaptativo para el parásito, o al contrario. En un experimento posterior también cuantificamos la respuesta inmune del hospedador medida como nivel de inmunoglobulinas totales para comprobar si las defensas del herrerillo común estaban relacionadas con la presencia de infecciones múltiples. De ser así, tendríamos una evidencia a favor de que las invasiones múltiples son el resultado de un sistema de defensa del ave frente al parásito.

### 3. RESULTADOS

**3.1. Proporción de sexos y el seguro de fertilidad.** En primer lugar comprobamos que aunque en el grupo control se producía una reducción de la densidad de parásitos entre la primera y la segunda captura, este descenso era significativamente más acusado en el caso del grupo medicado ( $F_{1,61}=4.37$ ,  $p=0.041$ ). Además, comprobamos que la proporción de sexos de *Haemoproteus* en nuestra población de herrerillos está ligeramente sesgada hacia hembras en el momento de la primera captura (variando entre un 48 y un 54% de hembras), algo inesperado según la hipótesis de la “competición local por la pareja” ya que esta población de herrerillos está infectada por una única línea de *Haemoproteus*, según han mostrado estudios moleculares recientes. Además, en consonancia con la disminución observada en la intensidad de infección entre ambas capturas, comprobamos que la proporción de sexos cambió en ambos grupos aumentando la proporción de machos. No obstante, este aumento fue significativamente más marcado en el grupo medicado tal y como se esperarían si la disminución en densidad fuera la responsable de la respuesta de los parásitos ( $F_{1,61}=7.36$ ,  $p=0.009$ ) (9).



**Figura 2.** . Esquema de las hipótesis propuestas sobre la ocurrencia de invasiones múltiples de eritrocitos por parásitos de la malaria y otros parásitos emparentados. Hasta el momento la ocurrencia de varios parásitos dentro de la misma célula hospedadora se ha tratado de explicar como mecanismo azaroso asociado a altas intensidades de infección. Además, se ha propuesto que podrían ser un mecanismo adaptativo para el parásito o para el hospedador vertebrado. Modificado de (10).

### 3.2. Las invasiones múltiples como respuesta adaptativa del parásito.

Nuestros resultados mostraron que el número de infecciones múltiples aumentaba según lo hacía la densidad de parásitos ( $R= 0.69$ ,  $n= 115$ ,  $p< 0.0001$ ). Además, la mayoría de las infecciones múltiples no llegaban a madurar y de las que lo hacían muy, muy pocas eran por parásitos de distinto sexo (solo 0.9%) (6). Ver Fig.2.

### 3.3 Las invasiones múltiples como respuesta adaptativa del hospedador.

Los niveles de inmunoglobulinas de los herrerillos estuvieron relacionados con la presencia de infecciones múltiples de forma que en aquellos individuos en los que se detectaron infecciones múltiples tuvieron mayores niveles de inmunoglobulinas tanto en las muestras correspondientes a la captura inicial (Wald= 4.03,  $n= 66$ ,  $P= 0.045$ ) como en las correspondientes a la captura final (Wald= 4.70,  $n= 54$ ,  $P= 0.03$ ) (7). Ver Fig.2.

## 4. CONCLUSIONES

Nuestros resultados demuestran que parásitos como *Haemoproteus* son capaces de cambiar de forma adaptativa su proporción de sexos en respuesta a un estímulo relacionado posiblemente con la reducción en densidad de la infección. La naturaleza de este estímulo es incierta pero podría ser un cambio en el ambiente al que está expuesto el parásito, como por ejemplo un aumento en los niveles de inmunoglobulinas. Una posible explicación alternativa a nuestros resultados es que la medicación esté sesgada hacia alguno de los sexos del parásito pero esta posibilidad parece remota ya que el medicamento parece actuar a nivel mitocondrial del parásito y ambos sexos tienen estos orgánulos (9). Por otro lado, hay que señalar que si bien el cambio en la proporción de sexos se produce en la dirección apropiada también resulta difícil de explicar porque llega a producirse un exceso de machos. Esto puede deberse a que la respuesta inmunitaria afecta a la movilidad o capacidad fecundante de los microgametos masculinos por lo cual sería necesario un ligero exceso de machos. En este sentido, es necesario saber más sobre la determinación del sexo de estos parásitos puesto que solo conociendo como se produce podemos comprender con exactitud el mecanismo que permite variar la inversión en uno u otro sexo en respuesta a determinados estímulos.

El hecho de que muy pocas infecciones múltiples de *Haemoproteus* que terminen madurando resulten en parásitos de distinto sexo implica que esta no puede ser una estrategia adaptativa del parásito para asegurar la fertilidad. Si a eso sumamos la escasez de maduración en estas infecciones y que no aumentan al reducirse la densidad de parasitación parece que podemos descartar esta posibilidad en su totalidad. Sin embargo, existen entonces dos posibilidades aún difíciles de diferenciar. Por un lado, podría ser simplemente un error de los parásitos que al aumentar la densidad tienden a penetrar más de uno en la misma célula o bien puede ser que sea una respuesta del hospedador ante la infección. En apoyo de esto último encontramos que los niveles de inmunoglobulinas en sangre fueron mayores en los individuos que muestran infecciones múltiples. Esta última posibilidad encaja mejor con el hecho de que pocas de estas infecciones maduran, lo cual puede ser a

consecuencia de la respuesta inmunitaria sufrida por el parásito antes de penetrar en el eritrocito e incluso permite explicar mejor la presencia en ocasiones de infecciones múltiples aún en bajas densidades de infección. Si las infecciones múltiples son provocadas por la respuesta inmunitaria del hospedador, estaríamos ante una estrategia adaptativa para este, puesto que reduce el número de células infectadas y, por tanto, la destrucción de eritrocitos asociada a la infección que puede desembocar en anemia. Además podríamos postular un segundo beneficio para el hospedador, ya que si estas invasiones múltiples no maduran disminuirán las posibilidades de transmisión del parásito. Este segundo caso solo sería beneficioso para el hospedador, y por tanto con selección a favor, si la transmisión afectara principalmente a otros miembros de la población emparentados con él. Este sería el caso si la transmisión ocurriera de padres a hijos o en poblaciones con niveles de consanguinidad elevada. Por otro lado, si las infecciones están producidas por distintas líneas de parásitos con virulencia diferencial y las más virulentas son las que se reproducen a mayor ritmo, el hecho de que se dificulte la transmisión mediante la generación de infecciones múltiples cuando los parásitos alcanzan ciertos niveles de densidad puede implicar que las defensas están dirigidas fundamentalmente contra los parásitos más virulentos, lo cual puede favorecer las líneas menos virulentas y, por tanto, rendir un beneficio adaptativo para el hospedador.

Aunque todavía sabemos muy poco sobre la vida de los protozoos parásitos parece claro que la selección ha desarrollado en ellos como en todos los demás seres vivos adaptaciones más o menos complejas encaminadas a la perpetuación de sus genes. Las estrategias defensivas generadas por el hospedador para combatir la infección pueden ayudarnos a buscar herramientas que nos ayuden a limitar la extensión y el impacto de estas enfermedades. Por ejemplo, si se pudiera potenciar el mecanismo que promueve las infecciones múltiples se podría limitar considerablemente el daño causado por el parásito reduciendo el número total de eritrocitos infectados (y por consiguiente, la anemia producida) a la par que podría disminuirse el éxito de transmisión del parásito, un objetivo todavía hoy difícil de alcanzar en enfermedades que, como la malaria, causan más de un millón de muertes anuales entre los seres humanos.

**5. AGRADECIMIENTOS** Queremos agradecer la colaboración de Juan Moreno, Javier Martínez, Gustavo Tomás, Elena Arriero, Judith Morales, Elisa Lobato, Juan José Sanz, Cristina Folgueira y Sonia García-Fraile en la realización de los trabajos en los que se basa este texto. Nuestro trabajo fue financiado por los proyectos PB97-1233, BOS2000-1125, BOS2003-05724, BOS2001-0587 y CGL2004-00787/BOS otorgados por los distintos Ministerios de Ciencia de los últimos años. J. Martínez-de la Puente disfruta de una beca 'El Ventorrillo- CSIC'. En la actualidad nuestro trabajo es financiado por el proyecto CGL2006-14129-C02-01/BOS del Ministerio de Ciencia e Innovación.

## 6. REFERENCIAS

1. Hamilton, W. D. **1967**. Extraordinary sex ratios. **Science**, 156: 477–488.
2. Read, A. F., et al. **1992**. Gametocyte sex ratios as indirect measures of outcrossing rates in malaria. **Parasitology**, 104: 387–395.

3. Reece, S. E., et al. **2008**. Sex ratio adjustment and kin discrimination in malaria parasites. **Nature** 453: 609-614.
4. Mitri, C. et al. **2009**. Density-dependent impact of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* gametocyte sex ratio on mosquito infection rates. **Proceedings of the Royal Society B**, en prensa.
5. West, S. A., et al. **2002**. Fertility insurance and the sex ratios of malaria and related hemosporin blood parasites. **Journal of Parasitology**, 88: 258–263.
6. Martínez-de la Puente, J., et al. **2006**. Are multiple gametocyte infections in malarial parasites an adaptation to ensure fertility? **Parasitology**, 132: 23-28.
7. Martínez-de la Puente, J., et al. **2007**. Can the host immune system promote multiple invasions of erythrocytes in vivo? Differential effects of medication and host sex in a wild malaria-like model. **Parasitology** 134: 651-655.
8. Merino, S., et al. **2000**. Are avian blood parasites pathogenic in the wild? A medication experiment in blue tits. **Proceedings of the Royal Society of London B** 267: 2507-2510.
9. Merino, S., et al. **2004**. Changes in *Haemoproteus* sex ratios: fertility insurance or differential sex life-span? **Proceedings of the Royal Society of London B** 271: 1605-1609.
10. Martínez-de la Puente, J. y Merino, S. **2008**. Factors affecting multiple invasions of erythrocytes in Plasmodium and other malaria-like parasites. A neglected characteristic of infections? **Open Parasitology Journal** 2: 40-42.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Read, A. F., et al. **2002**. Sex ratios of malaria parasites and related protozoa. En: Sex Ratios: Concepts and Research Methods. Cambridge University Press.
- Ewald, P.W. **1994**. Evolution of Infectious Diseases. Oxford University Press.
- Valkiunas, G. **2005**. Avian Malaria Parasites and other Haemosporidia. CRC Press, Boca Raton, Florida.



---

# 5.8

## Compromisos Adaptativos en la Selección de Hábitat de Aves Esteparias

Manuel B. Morales y Juan Traba

*Grupo de investigación en Ecología y Conservación de Ecosistemas Terrestres (TEG). Departamento de Ecología, Universidad Autónoma de Madrid. c/ Darwin, 2. 28049. Madrid, España.*

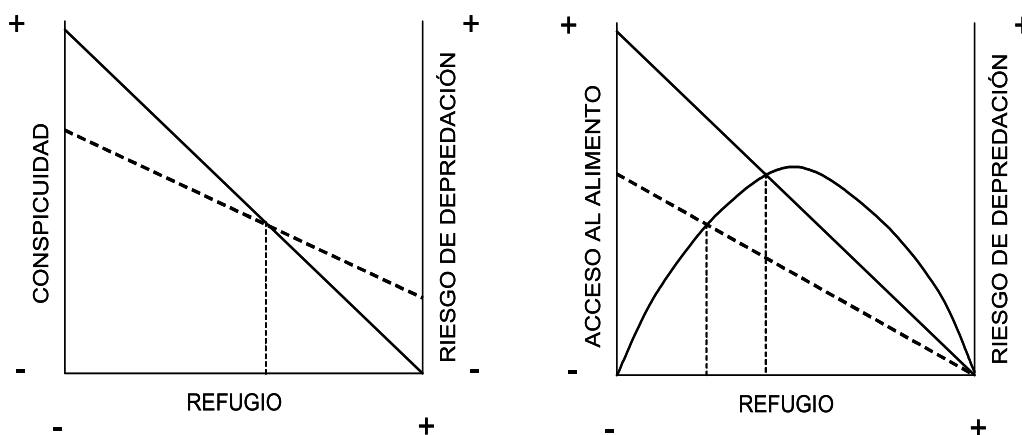
### RESUMEN

En el marco teórico de la optimización de estrategias comportamentales, se discuten los compromisos adaptativos a los que se enfrentan cuatro especies de aves esteparias (avutarda común, sisón común, perdiz roja y alcaraván) al seleccionar la estructura de la vegetación (microhábitat) más adecuada para el desarrollo de distintas actividades (forrajeo y exhibición sexual, fundamentalmente). Para ello se utilizan datos de disponibilidad y uso de microhábitat por las cuatro especies en agrosistemas cerealistas del centro de la Península Ibérica. El análisis mediante ACP de estos datos pone de manifiesto la existencia de dos gradientes ambientales interpretables en términos de disponibilidad de alimento y refugio. La forma en que las especies utilizan estos gradientes permite evaluar cómo lo individuos se enfrentan a distintos compromisos evolutivos, como son los de señalización sexual y búsqueda de alimento frente a ocultamiento. La avutarda, el sisón y la perdiz tienden a favorecer el ocultamiento en dichos compromisos, siendo el alcaraván la que menos se ajusta a dicho patrón, debido a sus diferencias de dieta y comportamiento. Además, las diferencias de tamaño corporal entre especies (avutarda frente a sisón y perdiz) pueden parcialmente explicar las diferentes selección y respuesta a los compromisos, aumentando para la especie más grande las necesidades de refugio y disminuyendo las demandas energéticas por unidad de masa corporal. Estos resultados permiten discriminar mejor las necesidades de hábitat a pequeña escala de estas especies, consecuencia de sus particulares adaptaciones en términos de ecología trófica y reproductiva, lo que debería considerarse en la gestión de las estepas cerealistas de cara a su conservación.

### 1. INTRODUCCIÓN

La selección de hábitat, esto es, el reparto no aleatorio de los organismos en el medio, es uno de los resultados más claros de la acción de la selección natural sobre los individuos (1). En concreto, la elección de un hábitat particular para el desarrollo de una determinada actividad (forrajeo, exhibición sexual, puesta y anidamiento) se ha descrito frecuentemente como el resultado de un compromiso evolutivo entre presiones selectivas opuestas que maximiza la supervivencia y/o el éxito reproductor a lo largo de la vida del organismo implicado (2).

Uno de los compromisos que más atención ha recibido por parte de la ecología evolutiva, en el marco de la teoría de selección de hábitat, es el que afrontan los organismos cuando eligen dónde alimentarse, de forma que puedan obtener la máxima cantidad del recurso, exponiéndose lo mínimo posible a los depredadores (3). Otro compromiso relevante por sus implicaciones directas en el éxito reproductor individual es el que deben resolver los organismos al seleccionar el hábitat adecuado para la reproducción, ya se trate del lugar de puesta, de exhibición (normalmente de los machos), o de ambos (4). En este caso, el compromiso se establece entre la necesidad de disponer de refugio frente a los depredadores y la de gozar de cierto grado de visibilidad, bien para la vigilancia, bien para la señalización sexual. Además, el resultado de los distintos compromisos evolutivos suele diferir entre sexos en una misma especie, ya que machos y hembras tienden a presentar distintas estrategias de maximización de la eficacia biológica (5). La figura 1 esquematiza la optimización de ambos tipos de compromiso, los cuales han sido ampliamente estudiados en distintos taxones, desde invertebrados a mamíferos, pasando por peces y aves (4).



**Figura 1. Dos compromisos adaptativos relacionados con la selección de hábitat.** Izquierda. Compromiso entre conspicuidad y ocultación para un individuo en exhibición sexual: la línea continua muestra la relación entre conspicuidad (señalización) y la cantidad de refugio disponible en el medio, mientras que la línea discontinua indica la relación entre ésta última y el riesgo de depredación; el punto de corte indica la cantidad de refugio que optimiza ambas relaciones. Derecha. Compromiso entre obtención de alimento y ocultación para un individuo en forrajeo: la curva continua muestra la relación entre acceso al alimento y la cantidad de refugio disponible, las rectas indican la relación entre esta última y el riesgo de depredación para dos individuos que realizan distintos niveles de uso del refugio disponible (elevado, recta continua, y reducido, recta discontinua). Los puntos de corte con la curva indican la cantidad de refugio que optimiza el compromiso en cada caso.

Las aves esteparias constituyen un grupo taxonómicamente muy diverso de especies que presentan adaptaciones comunes a los ambientes abiertos

dominados por vegetación herbácea o matorral de pequeño porte, entre las que se incluye la capacidad cursora, la nidificación en el suelo, el plumaje críptico y un comportamiento en general discreto, así como rasgos de historia de vida que permiten la persistencia de sus poblaciones a pesar de cierta impredecibilidad en la disponibilidad de recursos y las relativamente elevadas tasas de depredación que se dan en estos ambientes (6). La selección de hábitat de muchas de estas especies ha sido estudiada a distintas escalas espaciales y en muy diversas localidades, aunque son especialmente numerosos los estudios de las especies con distribución en Europa dada su tendencia a ocupar zonas de cultivo cerealista y, por tanto, al impacto de la gestión agraria en su estado de conservación, en general precario (6). La mayor parte de estos estudios considera la selección de hábitat a mesoescala, es decir, qué tipos de vegetación o sustrato agrario son preferentemente elegidos por los individuos de una población para diversas actividades de entre lo que se encuentra disponible en el paisaje que ocupa dicha población (7). Los estudios a escala espacial por encima o por debajo de ésta son menos frecuentes, aunque el desarrollo de métodos de modelización estadística cada vez más potentes ha favorecido la proliferación de estudios de selección a gran escala espacial (regional o subregional) con el objeto de predecir la distribución de las especies. Más escasos son los estudios que consideran la selección de microhábitat, es decir, de determinadas estructuras o arquitecturas de la vegetación, independientemente de su tipología y que pueden incluir características adicionales del hábitat como la disponibilidad de alimento (7). Aunque existen trabajos relevantes para algunas especies, muchas otras no han sido nunca tratadas a esta escala espacial de selección (ver citas incluidas en (8); (9)).

La escala de microhábitat ofrece la oportunidad de medir la variación ambiental en parámetros directamente relacionados con los factores que intervienen en el compromiso evolutivo entre forrajeo y refugio, o entre señalización sexual y refugio, de una forma más precisa que la que permitirían escalas espaciales mayores. Así por ejemplo, el gradiente espacial en cobertura total de la vegetación utilizado por un individuo para alimentarse puede interpretarse como un gradiente en la disponibilidad de refugio, de forma que la situación a lo largo del mismo en que más frecuentemente se encuentre a un organismo mientras busca alimento indicaría cómo resuelve ese organismo el compromiso entre alimentarse o esconderse de los depredadores (Figura 1, derecha). El mismo tipo de razonamiento puede ser aplicado a cómo resolvería un macho en exhibición de cortejo el compromiso entre ser fácilmente percibido por las hembras, o evitar ser detectado por un depredador (Figura 1, izquierda).

## 2. OBJETIVOS

En el presente ensayo analizamos la selección de microhábitat, o lo que es lo mismo, de una determinada estructura de la vegetación, en un conjunto de cuatro especies de aves esteparias de tamaño medio a grande en relación a los dos tipos de compromiso referidos arriba, los cuales se sintetizan en la Tabla 1 para las especies estudiadas, la avutarda común (*Otis tarda*), el sisón común (*Tetrax tetrax*), el alcaraván (*Burhinus oedicephalus*) y la perdiz roja (*Alectoris rufa*).

Estas cuatro especies están asociadas a zonas de cultivo de cereal en seco más o menos extensivo, encontrándose frecuentemente en simpatria (tal es el caso de los datos aquí presentados). Para ello, se analiza la distribución de los valores de utilización del microhábitat por parte de cada especie a lo largo de dos gradientes ambientales independientes, obtenidos mediante análisis de componentes principales (ACP) de variables relacionadas con la estructura y complejidad de la vegetación. Esta fue estimada en puntos de observación de las especies (n=260) y puntos control aleatorios (n=178), alejados un mínimo de 100 m de las localizaciones de aves, obtenidos en 3 localidades del centro de España, durante el pico reproductivo de las especies en los años 2005 y 2006. Dichos gradientes miden, respectivamente, disponibilidad de refugio y disponibilidad de alimento, permitiendo inferir cómo resuelven estas especies los compromisos evolutivos mencionados y discutir cómo se reparten entre ellas los recursos en el ambiente (para conocer las variables originales empleadas y el detalle metodológico, consultar (8)). En aquellas especies cuyos sexos pueden ser inequívocamente diferenciados, cada uno ha sido tratado independientemente, con el fin de conocer las diferencias sexuales en la selección de microhábitat y la resolución de los compromisos.

Decisión	Especies modelo	Estrategia	Limitantes
Dónde exhibirse	Sisón y avutarda (machos)	Maximizar detección por las hembras	Exposición a depredadores
Dónde comer	Sisón, avutarda, perdiz, alcaraván	Maximizar acceso al alimento	Exposición a depredadores
Dónde nidificar	Sisón, avutarda, perdiz, alcaraván (hembras)	Maximizar ocultación	Posibilidad de vigilancia

**Tabla 1. Decisiones y estrategias implicadas en los compromisos adaptativos afrontados por las especies de estudio en la selección de hábitat.**

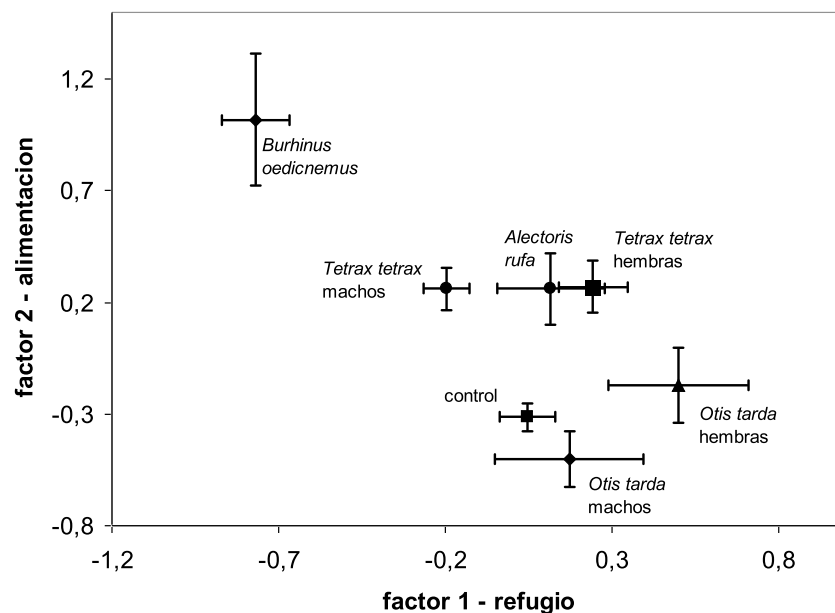
### 3. RESULTADOS

Los 2 primeros ejes del ACP realizado sobre la matriz de correlación de las variables originales transformadas absorbieron un 73% de la varianza. El primer eje (52.3%) se correlacionó positivamente con la cobertura de la vegetación y la cantidad de contactos a distintas alturas, y negativamente con la superficie de suelo desnudo, por lo que puede ser interpretado como un gradiente de disponibilidad de refugio. El segundo eje (20.7%) puede interpretarse como un gradiente de disponibilidad de alimento dada su correlación positiva con la cobertura de especies arvenses y la cantidad de detritus y materia orgánica en el suelo. En la Figura 2 se representa la ubicación de los centroides ( $\pm$  error

típico) de las observaciones de las especies de estudio en el espacio definido por estos 2 ejes. La mayoría de las observaciones se agrupa en el subespacio inferior derecha, definido como típico de especies que maximizan la calidad del hábitat para la supervivencia frente a la calidad para la reproducción ((10)).

Las diferencias existentes entre observaciones (MANOVA de los 2 ejes del ACP para el factor tipo de observación:  $F=9.68$ ;  $gl=12$ ;  $p<0.0001$ ) permiten detallar el análisis sobre tres aspectos reseñables: i) el patrón de selección de las especies según el microhábitat disponible, estimado a partir de las observaciones control; ii) las diferencias entre las especies y iii) las diferencias entre sexos, interpretables en función de sus características morfológicas y comportamentales.

**3.1. Patrón de selección.** Respecto del patrón de selección de refugio (eje 1), las hembras de avutarda ( $p<0.05$  en el test a posteriori LSD de Fisher) y los alcaravanes ( $p<0.0001$ ) seleccionaron de forma significativa respectivamente más y menos refugio que lo disponible (Figura 2). En cuanto a la disponibilidad de alimento, sin embargo, las avutardas fueron las únicas que no mostraron un patrón significativo de selección o evitación. El resto de las especies y/o sexos se localizaron en ubicaciones con valores significativamente más altos que los controles para el eje 2 (Figura 2; en todos los casos  $p<0.001$  o menor en el test LSD de Fisher), lo que apunta a que sisones, perdices y alcaravanes realizan una búsqueda preferente de sitios con alta disponibilidad de alimento. En general, la proximidad de los centroides de los dos sexos de la avutarda a las observaciones control parece indicar la alta adecuación de esta especie a las condiciones de disponibilidad de microhábitat de las zonas de estudio.



**Figura 2.** Representación de los centroides de las observaciones ( $\pm$  ET en ambos ejes) para las cuatro especies y los puntos control en el espacio definido por los dos primeros ejes del ACP (tras rotación Varimax).

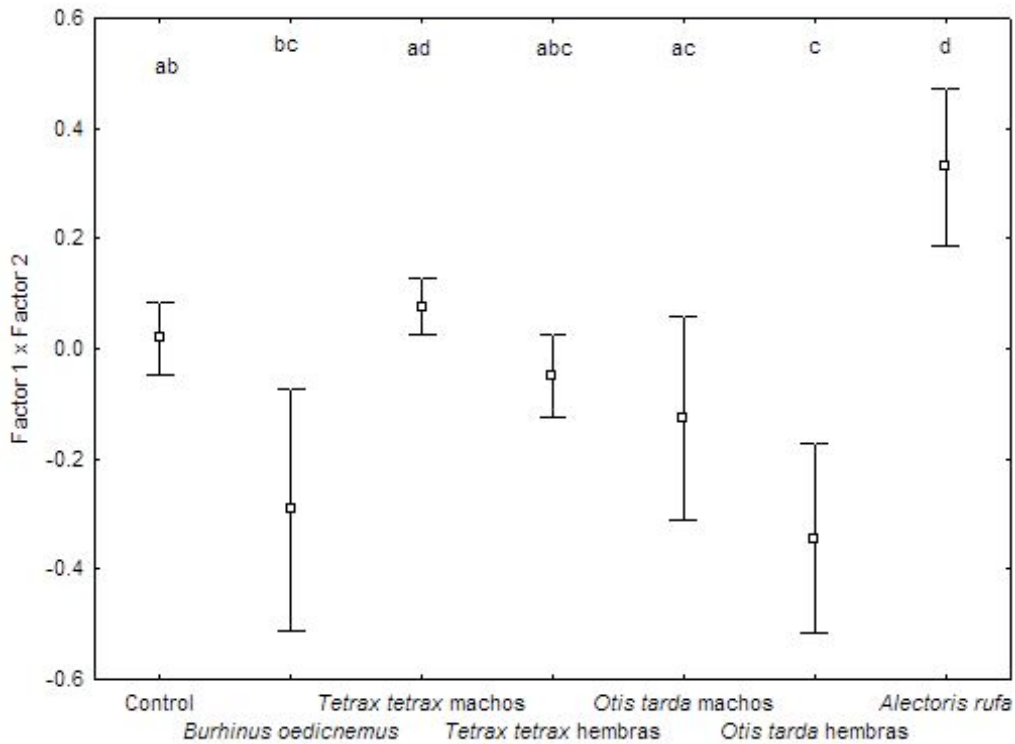
**3.2. Diferencias entre especies.** En cuanto a las diferencias entre especies, los resultados de los tests a posteriori se ajustaron a lo esperable a partir de aspectos morfológicos y comportamentales (Tabla 1). En el caso de la búsqueda de refugio (eje 1), el alcaraván se comportó de modo significativamente diferente al resto de las especies ( $p < 0.001$  o menor), seleccionando preferentemente puntos con muy poco refugio, explicable probablemente por su comportamiento crepuscular y particularmente esquivo. Por su parte, las hembras de avutarda mostraron una tendencia significativamente mayor que los machos de sisón ( $p < 0.01$ ) a seleccionar localizaciones cuya estructura de la vegetación favorece el ocultamiento, aunque la diferencia de tamaño debe explicar parcialmente este resultado; la ausencia de diferencias significativas en la selección de refugio entre hembras y entre machos de las dos Otíidas sugiere comportamientos conservativos en especies filogenéticamente cercanas respecto de las estrategias que maximizan la supervivencia y garantizan visibilidad para la señalización sexual, aunque no la calidad del hábitat para la obtención de alimento.

De hecho, los resultados de los análisis a posteriori respecto del gradiente de disponibilidad de alimento (eje 2) enfatizaron las diferencias entre especies. En primer lugar, el alcaraván volvió a mostrarse significativamente diferente al resto de las especies ( $p < 0.01$  o menor en todos los casos), maximizando localizaciones con alta disponibilidad de alimento. Los machos de avutarda minimizaron la disponibilidad de alimento como factor de selección, prefiriendo localizaciones con menor disponibilidad de alimento que las seleccionadas por sisonos y perdices ( $p < 0.01$  o menor).

Por último, el GLM efectuado sobre el producto de los dos factores del ACP arrojó diferencias significativas entre especies, incluyendo las observaciones control ( $F = 2,75$ ;  $gl = 7$ ;  $p < 0.05$ ). Este producto expresa de forma sintética un gradiente de restricción-amplitud en la selección de microhábitat que pueden realizar las especies, de forma que aquellas que presenten más restricciones en el compromiso acceso al alimento-disponibilidad de refugio alcanzarán mayores valores de dicho producto. Los análisis a posteriori revelaron más claramente este gradiente de restricción del compromiso entre refugio y alimentación, en el que la perdiz se mostró como la especie más exigente y las avutardas y el alcaraván como las menos (Figura 3). Parece, por tanto, que la especie de mayor tamaño (la avutarda), por un lado, y la que difiere más del resto en términos de dieta y comportamiento (el alcaraván), por otro, son las que sufren menos restricciones a la hora de resolver los compromisos entre refugio y alimentación.

**3.3. Diferencias entre sexos.** Las avutardas no presentaron diferencias entre sexos para ninguno de los dos factores, aunque las hembras mostraron la ya mencionada preferencia por puntos con más refugio. Los sisonos, por su parte, no mostraron diferencias entre sexos en la selección en función de la disponibilidad trófica, aunque los machos maximizan la visibilidad y las hembras el refugio ( $p < 0.05$ ), como se ha descrito anteriormente (8). Adicionalmente, este resultado apoya la idea de que los machos de sisón tienden a seleccionar aquellos puntos en los que la estructura de la vegetación permite maximizar la detección por las hembras pero también mantener un adecuado acceso al alimento, mientras que las hembras potencian la necesidad de refugio (8). La

selección positiva que realizan los machos de sisón durante la reproducción de localizaciones con alta disponibilidad de alimento es consistente con la existencia en esta especie de *leks* dispersos, aunque también permite apoyar la idea de un sistema de emparejamiento basado en defensa de recursos (9).



**Figura 3. Representación de los valores medios ( $\pm$  ET) del producto de los 2 primeros ejes del ACP para las cuatro especies y los puntos control.** Gradiente de restricción–amplitud del compromiso entre refugio y alimentación, expresado como el producto de los 2 ejes del ACP realizado sobre las variables de microhábitat. Valores altos en el producto (la perdiz) expresan mayores restricciones en dicho compromiso, o mayores requerimientos en la calidad del hábitat, tanto para reproducción como para supervivencia. Valores bajos (avutardas hembras y alcaraván) expresan una más fácil adecuación a la oferta de microhábitat existente. Diferentes letras indican diferencias significativas en el test a posteriori LSD de Fisher..

#### 4. CONCLUSIONES

En definitiva, los resultados mostrados indican que la selección de una determinada estructura de la vegetación (microhábitat) por parte de las especies de aves esteparias estudiadas responde a sus características morfológicas y de comportamiento, al menos durante la época reproductiva, ya que fuera de la misma otros factores (p.e. tamaño de bando, etc.) entran en juego en los compromisos. Se observa, por tanto, que independientemente de su nivel de coexistencia a meso y macroescala, las especies no se distribuyen

uniformemente a lo largo de los dos ejes de microhábitat, sino que su ubicación parece responder a sus compromisos adaptativos. Así, los machos de avutarda desplazan el compromiso entre refugio y conspicuidad mostrado en la Figura 1 hacia hábitats más pobres en disponibilidad trófica y apenas se enfrentan a limitaciones de su capacidad de señalización debido tanto a su tamaño corporal, como al tipo de exhibición sexual, altamente detectable a gran distancia. Este compromiso es, probablemente, mucho más estrecho para los machos de sisón que han de buscar zonas más abiertas al ser menos conspicuos, aunque aumente su vulnerabilidad ante depredadores, favorecida por su menor talla.

La perdiz muestra un comportamiento cercano al de las hembras de sisón, tendiendo a utilizar zonas que garanticen tanto el refugio, como una importante abundancia de alimento, por encima incluso del promedio disponible en el hábitat. El alcaraván, sin embargo, cambia este patrón, ya que parece seleccionar preferentemente localizaciones con disponibilidad alta de alimento, aunque sea a costa de reducir marcadamente la cantidad de refugio.

Las hembras de avutarda manifestarían preferencias por localizaciones en las que se maximiza la necesidad de refugio sobre las de alimento, siendo esta última tendencia marcadamente mayor que en las hembras de sisón, a pesar de la similitud que muestran ambas Otíidas en su estrategia de anidamiento y en los limitantes que afrontan a la hora de seleccionar el microhábitat adecuado (Tabla1). De hecho, hembras de sisón y avutarda representan dos soluciones divergentes al compromiso entre obtención de alimento y ocultación sintetizado en la Figura 1: las hembras de avutarda seleccionarían los microhábitats que proporcionan la máxima ocultación, sacrificando el acceso al alimento, mientras que las sisonas, sin sacrificar totalmente el primer factor, seleccionarían lugares con abundancia de recursos tróficos. Los numerosos estudios de selección de hábitat a escalas intermedias (tipo de sustrato agrario) realizados en ambas especies (ver revisión en (7)) apoyan esta conclusión, al mostrar la preferencia de las avutardas por las siembras de cereal (mucho refugio, escaso alimento) y de las sisonas por los barbechos (menos, aunque suficiente, refugio, abundancia de alimento). Esta segunda solución es lo que sugieren, igualmente, los resultados relativos a la perdiz, en los que no ha sido posible distinguir sexos y, por lo tanto, tampoco determinar hasta qué punto están influidos por la estrategia de los machos (aumentar detectabilidad para las hembras, sacrificando ocultación). La causa por la cual las hembras de avutarda pueden permitirse renunciar a una mayor disponibilidad trófica en el hábitat de anidamiento para favorecer al máximo su uso como cobertura ante depredadores podría relacionarse con su gran diferencia de tamaño con respecto a las demás especies, la cual aumenta la necesidad de refugio, por una parte, pero limita la demanda energética por unidad de masa corporal del individuo, debido a la menor tasa metabólica impuesta por la mayor talla corporal.

Finalmente, el alcaraván muestra el patrón de selección más extremo y alejado del promedio disponible, lo cual resulta esperable de acuerdo con sus muy distintos requerimientos tróficos y comportamiento. Al tratarse de un insectívoro crepuscular, la necesidad de refugio físico no resulta tan limitante en esta especie como en las demás, diurnas y omnívoras, por lo que los individuos pueden alimentarse allí donde haya disponibilidad de insectos



medianos y grandes, lo que, en los paisajes agrarios extensivos, frecuentemente ocurre en sustratos con cobertura vegetal reducida (9). En este contexto, el hecho de que los compromisos discutidos aquí sean tan laxos para esta especie, permite utilizarla como 'control' de su efecto sobre las demás.

Las adaptaciones comportamentales y morfológicas de las especies generan, por tanto, una serie de restricciones para la selección del microhábitat utilizado durante el periodo reproductor. Para una especie dada, cuanto mayores sean estas restricciones (nicho realizado más estrecho), menor será el rango de microhábitat utilizable. En el otro sentido, especies con pocas restricciones (nicho más amplio), dispondrán finalmente de más hábitat que ocupar. El producto de los dos factores del ACP expresa adecuadamente y de forma resumida este gradiente de restricción-amplitud. Aquellas especies que muestren más restricciones en el compromiso entre disponibilidad de refugio y alimento alcanzarán valores más altos en el gradiente de restricción. En la parte baja de este gradiente se encontrarán las especies de nicho realizado más amplio (Figura 3). Es decir, determinadas adaptaciones comportamentales (insectivoría y actividad crepuscular) y morfológicas (gran tamaño), permiten alcanzar más fácilmente los compromisos entre refugio y alimentación. Sería por tanto esperable que prácticas en la gestión agraria encaminadas a mejorar el estado de conservación de especies de nicho realizado amplio, como la avutarda, y que se reflejen en el aumento de la superficie de sustratos que benefician a esta especie, puedan tener un efecto escaso o incluso negativo sobre otras especies cuyos requerimientos de microhábitat son diferentes.

**5. AGRADECIMIENTOS** M. P. Delgado, E. L. García de la Morena, D. Jiménez, E. Carriles, M. A. Sanza y M. Fernández realizaron gran parte de la toma de datos de microhábitat. Este trabajo es una contribución a los proyectos CGL2009-13029 del MICINN y AGRIPOPES de la ESF. Los autores pertenecen a la red de grupos de excelencia REMEDINAL (S-0505/AMB/0335), financiada por la Comunidad de Madrid.

## 6. REFERENCIAS

1. Moreno, J. 2008. *Retos Actuales del Darwinismo ¿Una teoría en Crisis?* Editorial Síntesis.
2. Krebs, J. R. y Davies, N. B. 1993. *An Introduction to Behavioural Ecology*. Blackwell.
3. Verdolin, J. L. 2006. Meta-analysis of foraging and predation risk trade-offs in terrestrial systems. **Behavioural Ecology and Sociobiology**, 6: 457-464.
4. Clark, R. C. y Shluter, D. 1999. Avian habitat selection: pattern from process in nest-site use by ducks? **Ecology**, 80: 272-287.
5. Trivers, R.L. 1972. Parental investment and sexual selection. En: Campbell, B. (Ed.), *Sexual Selection and the Descent of Man*. Aldine Press.
6. Suárez, F. y Santos, T. 2005. Biogeography and population trends of Iberian steppe birds. Capítulo 3. En: *Ecology and Conservation of Steppe-land Birds*. Lynx Editions.
7. Morales, M. B., Suárez, F. y García de la Morena, E.L. 2006. Reponses des oiseaux de steppe aux différents niveaux de mise en culture et d'intensification du paysage agricole: une analyse comparative de leurs effets sur la densité de population et la sélection de l'habitat chez l'Outarde Canepetière *Tetrax tetrax* et l'Outarde Barbue *Otis tarda*. **Revue d'Écologie (Terre et Vie)**, 61: 261-269.

8. Morales, M.B., Traba, J., Carriles, E., Delgado, M.P. y García de la Morena, E.L. 2008. Sexual differences in microhabitat selection of breeding Little Bustards *Tetrax tetrax*: ecological segregation based on vegetation structure. **Acta Oecologica**, 34: 345-535.
9. Traba, J., Morales, M. B., García de la Morena, E .L., Delgado, M. P. 2008. Selection of breeding territory by little bustard (*Tetrax tetrax*) males in Central Spain: the role of arthropod availability. **Ecological Research**, 23: 615–622
10. Naves, J., Wiegand, T., Revilla, E., Delibes, M. 2003. Endangered species constrained by natural and human factors: the case of brown bears in Northern Spain. **Conservation Biology**, 17: 1276–1289.



---

## 5.9

### ¿Sabes Contar las Lombrices? Una Visión Darwiniana Sobre la Evolución de la Inteligencia Matemática

**Pau Carazo y Enrique Font**

*Unidad de Etología, Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva, Apdo. 22085, C.P. 46071, Universidad de Valencia, Valencia, España.*

#### RESUMEN

A menudo pensamos que características como el lenguaje, la moral o nuestra extraordinaria capacidad para aprender nos distinguen de otros animales y nos convierten en la especie más inteligente del planeta. Una de nuestras cumbres intelectuales es nuestra capacidad para las matemáticas. Pero, ¿de dónde surge nuestra inteligencia matemática? Tradicionalmente hemos asumido que la cultura era la única respuesta a esta pregunta, pero la adopción de una perspectiva evolutiva arroja serias dudas sobre esta idea. Estudios recientes indican que nuestra inteligencia matemática depende de una serie de sistemas innatos de número, que son independientes de nuestro lenguaje y que compartimos con muchas otras especies de vertebrados. Los últimos avances sugieren incluso que algunas especies de insectos podrían exhibir un concepto de número muy similar al que nos permite aprender a contar. En definitiva, parece que nuestra inteligencia matemática depende de mecanismos cognitivos específicos, resultado de la evolución, que no sólo no son exclusivos de la especie humana sino que están mucho más extendidos de lo que sospechábamos.

#### 1. LAS LOMBRICES DE DARWIN

En 1881, cuando contaba 72 años de edad, Charles Darwin publicó el último y probablemente menos conocido de sus libros. En él, Darwin aplicó el ingenio y la escrupulosa minuciosidad que caracteriza toda su obra al estudio de un animal tan poco atractivo y aparentemente insignificante como la lombriz de tierra (1). Aunque dedicó la mayoría de sus 326 páginas a discutir el impacto de las lombrices sobre su entorno, Darwin reservó una pequeña parte al estudio del comportamiento y de los 'poderes mentales' de estos gusanos. En concreto, se centró en el comportamiento que exhiben las lombrices al ocluir sus túneles con las hojas de ciertas plantas. Descubrió que las lombrices manipulan cada hoja de forma distinta (en función de sus características físicas) de forma sorprendentemente eficaz. La conclusión a la que llegó resultó incendiaria:

*'Sólo queda una alternativa, que, a pesar de ocupar un escalafón bajo en la escala de organización, las lombrices posean un cierto grado de inteligencia...'*

Que uno de los científicos más célebres de la historia asocie una cualidad tan humana como la inteligencia a una simple lombriz invita a cuestionar el estado mental de un Darwin ya anciano. Muy al contrario, una lectura cuidadosa del texto revela que sabía muy bien lo que se hacía:

*‘...Esta afirmación chocará a todo el mundo como algo altamente improbable; pero habría que preguntarse si conocemos lo suficiente acerca del sistema nervioso de los animales inferiores como para justificar nuestro natural escepticismo hacia dicha conclusión.’*

Darwin tenía muy claras las posibles explicaciones alternativas al comportamiento aparentemente inteligente de las lombrices. Sencillamente, ninguna le satisfacía. Ninguna parecía encajar bien con los datos que había ido recogiendo. En ausencia de más conocimientos y en una época en la que el estudio de la cognición aún no había nacido, Darwin interpretó los datos disponibles como el científico brillante que era, sin prejuicios. Equivocado o no, tuvo la valentía y el coraje necesarios para desafiar ‘nuestro natural escepticismo’.

En realidad, las ideas de Darwin sobre la inteligencia de las lombrices nacen de una hipótesis que había enunciado años antes, en su libro *‘El Origen del Hombre y la Selección en Relación al Sexo’* (2). En él, Darwin propuso que la distancia que separa nuestras facultades mentales de las del resto de los animales refleja diferencias de grado, y no de cualidad. En otras palabras, lo que Darwin postuló es la existencia de una continuidad entre la mente animal y humana. Esta idea sacudiría los cimientos de la sociedad victoriana y, desde entonces, nos hemos mostrado extraordinariamente reacios a aceptarla. No es sorprendente. El ser humano posee un repertorio excepcionalmente sofisticado de capacidades mentales que, nos gusta pensar, lo sitúan en un pedestal con respecto al resto de las especies del planeta. La cultura, asumimos tradicionalmente, es el material que teje dicho pedestal y nuestra extraordinaria capacidad de aprendizaje, el pilar sobre el que se levanta. Según esta visión, nuestro cerebro sería una *tabula rasa* sobre la que la experiencia y la cultura escribirían para dar lugar a las características que nos hacen humanos, como nuestra personalidad, nuestro lenguaje o nuestra moral. De entre todo lo que nos hace humanos, quizá una de nuestras cumbres intelectuales haya sido el desarrollo de las matemáticas. Durante mucho tiempo hemos dado por hecho que las matemáticas, más incluso que otras características como el lenguaje o la moral, son el resultado exclusivo de nuestro desarrollo cultural. Al fin y al cabo, ¿qué podría tener que ver la evolución con un comportamiento tan único y excepcional que nos ha llevado, entre otras cosas, a conquistar la luna?

## **2. LA EVOLUCIÓN DE LA INTELIGENCIA MATEMÁTICA**

La capacidad para realizar operaciones matemáticas complejas requiere conceptos abstractos que sólo son accesibles a la mente educada de un ser humano, ya que dependen de habilidades simbólico-lingüísticas exclusivas de nuestra especie. Incluso un proceso relativamente sencillo como el de ‘contar’ es un fenómeno simbólico, consciente, verbal y aprendido que, hasta en las sociedades más avanzadas, un niño tarda en torno a cuatro años en dominar.

Todo, incluida nuestra intuición, parece indicar que la capacidad para contar y realizar operaciones matemáticas es un reducto reservado a la especie humana. ¿Hay motivos para esperar lo contrario?

Desde el punto de vista evolutivo, esta pregunta representa un problema biológico fascinante. El axioma 'el poder está en el número' es aplicable a aspectos del comportamiento social de gran cantidad de especies animales, que parecen necesitar algún tipo de competencias numéricas básicas. Los chimpancés viven en comunidades cuyo tamaño puede oscilar entre 20 y 150 individuos. La competencia entre comunidades vecinas suele ser intensa y con relativa frecuencia se establecen guerras que pueden acabar en el asesinato de miembros de una comunidad rival. Sin embargo, los chimpancés de una comunidad sólo atacarán a sus rivales si los superan en número. De forma similar, cuando un grupo de leonas escucha los rugidos de un grupo rival en las inmediaciones de su territorio, la decisión de atacar o no dependerá del número de leonas que hayan escuchado rugir en relación al tamaño de su propio grupo. ¿Realmente saben contar los animales? La clave para comenzar a responder a este enigma evolutivo la encontramos en el estudio de bebés humanos en etapas pre-verbales.

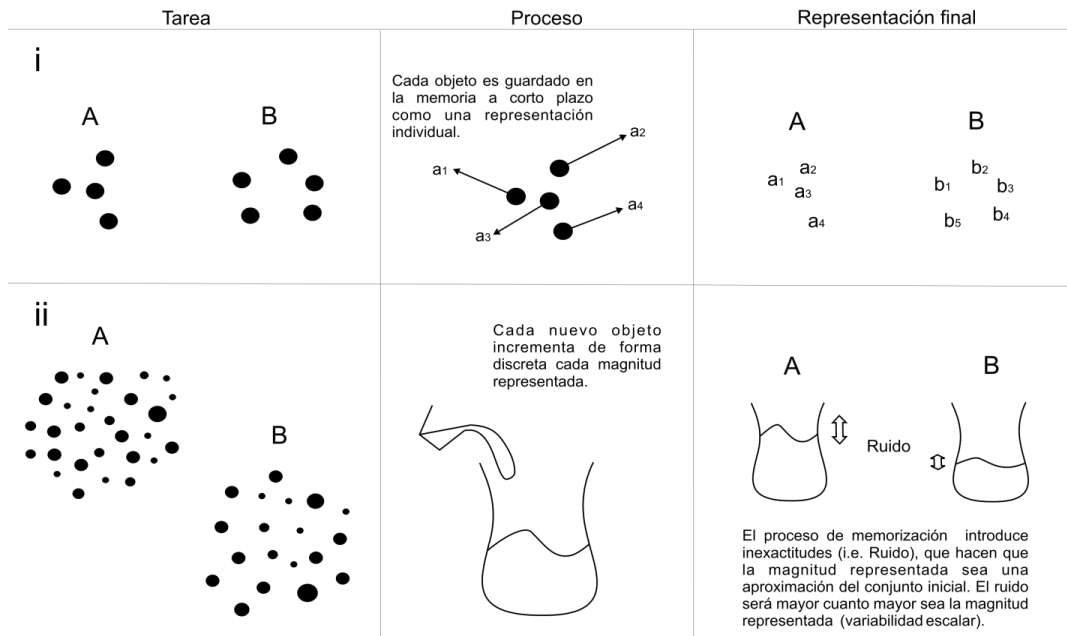
### 3. MATEMÁTICAS INFANTILES

La adquisición de un concepto simbólico de número depende de la existencia de un lenguaje. Sin embargo, algunas investigaciones realizadas en las últimas dos décadas sugieren que el concepto simbólico de número no es el único posible. De hecho, al parecer los seres humanos disponemos de dos sistemas innatos (no aprendidos) de representación numérica, de dos 'sistemas de número', que son independientes del lenguaje.

El primero de estos sistemas es un 'sistema exacto de número' que permite calcular el número exacto de objetos en un conjunto siempre que éste no sea superior a cuatro, para los bebés, y a siete, para los adultos. Se trata de un proceso mucho más rápido que el proceso simbólico de contar y aparece en bebés de entre nueve y doce meses de edad, mucho antes de la adquisición del lenguaje. Se puede comprobar su funcionamiento con un experimento muy sencillo. Si, durante un breve instante, presentamos a un amigo un grupo de, pongamos por caso, cuatro bolígrafos, debería ser capaz de decirnos el número exacto de bolígrafos aún en ausencia de tiempo suficiente como para contarlos verbalmente ( $< 0.5$  s). Nuestra mente nos permite realizar este 'truco' porque almacena en la memoria a corto plazo representaciones mentales individuales de cada uno de los objetos (utilizando un símil informático, un archivo por cada objeto). De esta forma, podemos saber de un vistazo la cantidad de objetos que hay en un solo conjunto, o bien comparar en paralelo dos conjuntos distintos e identificar cuál de los dos contiene un número mayor de objetos (Figura 1).

El segundo sistema, denominado 'sistema aproximado de número', aparece más temprano en el desarrollo (a partir de los seis meses de edad) y nos permite calcular el número de objetos de un conjunto de forma aproximada. Este segundo sistema permite valorar conjuntos compuestos por un número de objetos muy por encima de siete, que constituye el límite operativo del sistema

exacto de número. Como contrapartida, sólo permite un cálculo aproximado del número de objetos pertenecientes a un conjunto.



**Figura 1. Sistemas fundamentales de número.** Esquema que muestra los procesos cognitivos y las representaciones implicadas en una tarea de discriminación de la numerosidad (discriminación entre dos grupos con distinto número de objetos): i) sistema exacto de número y ii) sistema aproximado de número.

El tipo de representación mental que actúa en este sistema es radicalmente distinto al primero. En este caso, lo que almacena nuestra mente no es una representación individual de cada objeto, sino una magnitud proporcional al número total de objetos del conjunto. En un experimento típico, se nos presentaría una pantalla de ordenador con dos conjuntos de, digamos, 19 y 29 puntos respectivamente. En esta situación, nuestro cerebro asocia a cada conjunto una magnitud continua que representa, de forma aproximada, el número total de objetos que contiene (recuperando el símil informático, un sólo archivo para todo el conjunto de objetos). Aunque no se trata de un proceso en serie, podemos visualizarlo como si nuestro cerebro vertiese un vaso de agua en la vasija imaginaria A por cada objeto presente en el conjunto A (Figura 1). Aunque el incremento de agua por cada objeto acumulado es discreto, el resultado final es una magnitud continua o, en otras palabras, una cantidad incontable de agua. Al final del proceso, lo que contiene nuestra memoria es la representación mental de dos magnitudes continuas (la vasija A y la vasija B) cuya cantidad de agua representa *grosso modo* el número de objetos de cada conjunto. Ambas representaciones son inexactas porque el proceso de memorización es impreciso. Por tanto, la percepción final que obtenemos es una aproximación de la cantidad de objetos en cada conjunto, lo que nos permite valorar cuál de los dos es mayor siempre que la diferencia entre ambos sea lo suficientemente grande. ¿Cómo de grande? La respuesta a esa pregunta

depende de la habilidad de cada uno y, como veremos más adelante, varía sustancialmente entre individuos.

En resumen, los seres humanos disponemos de dos sistemas de número que nos permiten 'contar' sin la necesidad de aprender a contar. Si los comparamos con nuestra habilidad simbólica para contar, se trata de mecanismos rudimentarios. De hecho, los científicos se refieren a ellos como 'sistemas fundamentales de número' para distinguirlos del concepto simbólico y aprendido de número. Ello, no obstante, no debe hacernos perder de vista la enorme utilidad que estos sistemas han podido tener en el transcurso de la evolución. Nos permiten 'contar' en etapas del desarrollo en las que carecemos de un método alternativo y en situaciones en las que no disponemos de tiempo para invocar fenómenos cognitivos conscientes (e.g. contar simbólicamente). Resulta fácil especular acerca de las múltiples ventajas evolutivas que la adquisición de este tipo de sistemas pudo suponer tanto para nuestros antepasados como para otras muchas especies de animales.

#### **4. EL ORIGEN EVOLUTIVO DE LOS SISTEMAS FUNDAMENTALES DE NÚMERO**

Sabemos hace ya algún tiempo que otros vertebrados exhiben sistemas de número con las mismas propiedades que los nuestros. Parece razonable suponer que se trata de los mismos sistemas cognitivos surgidos a partir de un ancestro común. ¿Cuándo, exactamente? Debido muy probablemente al antropocentrismo que todavía impera en muchos campos de la biología, tradicionalmente se había asumido que estos sistemas serían exclusivos de los primates. Pronto se descubrió que esto no era cierto. El hallazgo de sistemas fundamentales de número en otros mamíferos más alejados a la especie humana, así como en aves, peces y anfibios, situaron durante mucho tiempo el origen evolutivo en algún ancestro común a todos los vertebrados. Sin embargo, estudios aparecidos en los últimos meses apuntan en otro sentido.

Un artículo publicado recientemente demuestra que las abejas de la miel (*Apis mellifera*) son capaces de contar el número de hitos que tienen que sobrevolar para encontrar una fuente de alimento siempre que haya menos de cuatro (3). Resulta difícil ignorar el paralelismo con el sistema exacto de número, cuyo límite funcional es también de cuatro tanto en bebés humanos como en otros vertebrados. Por otro lado, un trabajo recién publicado por nuestro grupo de investigación de la Universidad de Valencia sugiere que los escarabajos de la harina (*Tenebrio molitor*) parecen disponer de un sistema que, por sus características, recuerda al sistema aproximado de número presente en vertebrados (4). Por tanto, y aunque de carácter preliminar, la evidencia disponible indica que estaríamos hablando de sistemas cognitivos mucho menos exclusivos de lo que se había sospechado hasta la fecha.

#### **5. DE LOS SISTEMAS FUNDAMENTALES A LAS MATEMÁTICAS SIMBÓLICAS**

Recapitemos. Los seres humanos compartimos una serie de sistemas innatos de número con muchas otras especies de animales. Dichos sistemas son independientes del lenguaje, y explican las habilidades matemáticas

rudimentarias presentes tanto en los bebés como en otras especies de animales. Pero, ¿tienen estos sistemas algo que ver con nuestras habilidades para las matemáticas simbólicas? ¿Qué factor marca el paso de la aparente sencillez con la que cuenta un bebé a la exuberante complejidad de los logaritmos, los números imaginarios o los fractales? La respuesta inmediata a esta pregunta pasa ineludiblemente por nuestra cultura. Desde la invención (o el descubrimiento) del 0 al desarrollo del cálculo, pasando por la comprensión de los números negativos, racionales y reales, el origen de los conceptos matemáticos está inexorablemente relacionado con nuestra historia cultural. No obstante, cabe preguntarse acerca del origen de las habilidades cognitivas que han permitido dicho desarrollo. ¿Cuáles son los sustratos neurales que permiten a nuestro cerebro entender y desarrollar conceptos matemáticos puramente simbólicos? Hasta hace poco, el consenso en la comunidad científica era que dichos sustratos son los mismos responsables de nuestras habilidades simbólico-lingüísticas, de nuestro lenguaje.

Sin embargo, un trabajo reciente cuestiona muy seriamente esta hipótesis (5). Científicos de la Universidad John Hopkins, en EEUU, sometieron a estudiantes de 14 años de edad a una batería de experimentos, de dificultad creciente, con los que analizaron su capacidad para discriminar entre dos conjuntos de objetos usando el sistema aproximado de número (Figura 1). Los resultados demuestran que la habilidad para usar este sistema de número varía mucho entre individuos y, lo que es aún más sorprendente, que la capacidad de cada persona está íntimamente relacionada con su aptitud para las matemáticas simbólicas. En otras palabras, los estudiantes que muestran una habilidad destacada a la hora de utilizar el sistema aproximado de número también exhiben una aptitud elevada en matemáticas y viceversa. Paralelamente, otros trabajos aparecidos recientemente demuestran que las áreas cerebrales implicadas en el sistema aproximado de número se activan cuando realizamos operaciones matemáticas simbólicas (6). En conjunto, estos estudios indican que el sistema aproximado de número desempeña un papel fundamental tanto en el aprendizaje como en la ejecución de operaciones matemáticas complejas, y ponen de manifiesto que el lenguaje no es, por sí solo, el responsable de nuestra inteligencia matemática.

Si parte de nuestra capacidad para las matemáticas depende de un sistema innato y evolutivamente arcaico que compartimos con otros animales, parece lícito plantear la posibilidad de que otras especies tengan habilidades más complejas que la simple capacidad para contar. Las últimas y más concluyentes investigaciones en este sentido son las realizadas por el equipo de las doctoras Jessica Cantlon y Elizabeth Brannon, de la Universidad de Duke, en EEUU. En ellas, demuestran que los macacos Rhesus no solo utilizan el sistema aproximado de número para representar cantidades, sino que son capaces de comparar dichas representaciones para ordenar grupos de objetos de menor a mayor (el 'principio de ordenación', uno de los principios básicos de la aritmética (7)). Más aún, Cantlon y Brannon demuestran que estos primates son capaces de sumar cantidades aproximadas. Las pruebas disponibles indican que los procesos subyacentes a estas operaciones son idénticos en humanos y en monos Rhesus, ya que ambos somos capaces de realizar operaciones aritméticas sencillas, como la ordenación o la suma, haciendo uso del sistema aproximado de número.



## 6. CONCLUSIONES: ¿SABEN CONTAR LAS LOMBRICES?

Aunque prometedores, los estudios de los sistemas fundamentales de número no han hecho más que empezar. El futuro deberá conducirnos por estas y otras sendas apasionantes en busca, por ejemplo, de las presiones selectivas que hayan podido dar lugar a su evolución. La evolución de sistemas que no sólo nos permiten representar números de forma aproximada, sino también operar sobre estas representaciones para ordenarlas, sumarlas y, quién sabe, quizás incluso restarlas, multiplicarlas y dividir las.

Precisamente porque se trata de un campo en el que aún andamos a gatas, resulta imposible predecir hasta qué punto depende nuestra inteligencia matemática de mecanismos cerebrales innatos. Nuestro cerebro no es sino una respuesta más de la evolución al ambiente en el que hemos evolucionado como especie y, sin embargo, somos el único animal que hace fuego, diagnostica sus enfermedades y se pregunta acerca de su propio origen. El enigma está servido; el partido ha comenzado. Se disputa entre los que enfatizan la continuidad de la mente humana con la del resto de los animales y aquellos que defienden lo contrario. Aunque el final no arroje un vencedor claro, lo que resulta indiscutible es que la idea de Darwin no era tan descabellada después de todo. Los conocimientos acumulados durante las últimas décadas han hecho añicos la teoría de la *tabula rasa*. Hoy sabemos que nuestra capacidad para aprender un lenguaje depende de una serie de módulos cognitivos innatos diseñados por la selección natural (8). Sabemos también que nuestra personalidad se ve mucho más afectada por nuestra biología de lo que jamás habríamos podido sospechar (9). Incluso nuestro sentido de la moral parece fundamentarse en un 'instinto' moral fruto de la evolución (10).

En su último libro, Darwin no aportó ni una sola prueba concluyente sobre la existencia de inteligencia en las lombrices. Hizo mucho más que eso. Como tantas otras veces, fue capaz de despojarse de los prejuicios sociales, científicos e incluso ontológicos de la sociedad en la que vivía para proponer una idea que aún hoy en día provoca una sensación de rechazo y repugnancia intelectual en la mayoría de las personas. Existen pocas razones científicas para descartar, *a priori*, que especies que han evolucionado respondiendo a desafíos similares a los de nuestro pasado evolutivo puedan exhibir facultades mentales parecidas a las nuestras. Por mucho que nos pese, nuestros bebés cuentan utilizando mecanismos muy similares a los que utilizan algunos insectos. Los mismos que nos ayudan a aprender a contar y a hacer complejas operaciones matemáticas como adultos. Acogemos de buen grado este tipo de pruebas cuando hacen referencia a especies filogenéticamente próximas a nosotros mismos, como los primates, mas con incredulidad y escepticismo cuando se trata de seres de sangre fría y apariencia robótica, como los insectos. Estamos dispuestos a aceptar la existencia de inteligencia en un chimpancé, pero no en un reptil, ni mucho menos en un gusano.

Nuestros prejuicios no son reflejo de lógica evolutiva alguna, sino de nuestro propio antropocentrismo. En palabras de Richard Dawkins:

*'...nuestro cerebro parece especialmente diseñado para malinterpretar la teoría de la evolución...'*

Y es que, a pesar de lo arraigada que pueda estar esta idea en nuestro subconsciente, las teorías Darwinianas no predicen un incremento lineal de la inteligencia con el transcurso de la evolución. La evolución no es una *escala naturae* en la que cada nuevo peldaño constituye un ascenso. Decía el personaje 'la reina roja' de Lewis Carroll:

*'Es preciso correr todo lo que uno pueda para quedarse en el mismo sitio'.*

Como la reina roja, la evolución se asemeja a una carrera sobre una cinta corredera en la que cada especie se encuentra en continuo movimiento para adaptarse a las condiciones cambiantes de su entorno. Como resultado, la evolución favorecerá la aparición de capacidades cognitivas complejas siempre que las condiciones lo exijan. Lo previsible es que este hecho haya sucedido en distintos momentos dentro de la larga historia de la vida en este planeta, en grupos muy diversos y, probablemente, en respuesta al mismo tipo de desafíos ambientales. Aún estamos lejos de comprender muchas de las claves que explican la aparición de la inteligencia. ¿Por qué, por ejemplo, encontramos características cognitivas tan sofisticadas como el juego, el aprendizaje de tareas complejas, el uso espontáneo de herramientas o la existencia de personalidades individuales en el chimpancé, una especie de simio altamente social, y al mismo tiempo en el pulpo, un invertebrado solitario de aspecto extraterrestre?.

Para deshacer este nudo gordiano no basta con mirarse en el espejo. No basta con estudiar sólo aquellas especies en que nos vemos reflejados. Es el momento de beber de la insolencia de Darwin y atreverse a plantear preguntas valientes, pues escondidas en su aparente irrelevancia yacen las respuestas a muchos de los enigmas con los que se enfrenta el estudio moderno de la mente. ¿Saben contar las lombrices? Quién sabe, pero conviene recordar que las respuestas vienen después de las preguntas y que ésta, como otras similares, es una pregunta que merece ser abordada. Merece serlo con la misma valentía, rigor, claridad y ausencia de prejuicios que, hace 150 años, en plena sociedad victoriana, llevaron a Charles Darwin a proponer una de las ideas más revolucionarias, socialmente irreverentes y, sencillamente, geniales de la historia de la ciencia: la de la evolución por selección natural. Este año, en el que celebramos el aniversario del nacimiento de esa gran idea, no existe mejor forma de honrar a Charles Darwin que siguiendo su propio ejemplo.

## 7. REFERENCIAS

1. Darwin, C. **1881**. The formation of vegetable mould, through the action of worms, with observations on their habits. J. Murray, *Ed.* London.
2. Darwin, C. **1871**. The descent of man and selection in relation to sex. J. Murray, *Ed.* London.
3. Dacke, M. & Srinivasan, M.V. **2008**. Evidence for counting in insects. *Animal Cognition*, 11, 683-689

4. Carazo et al. **2009**. Quantity discrimination in *Tenebrio molitor*: evidence of numerosity discrimination in an invertebrate? ***Animal Cognition***, 12, 463-470.
5. Halberda, J. et al. **2008**. Individual differences in non-verbal number acuity correlate with maths achievement. ***Nature***, 455, 665-668.
6. Dehaene, S. **1998**. Abstract representations of numbers in the animal and human brain. ***TINS***, 21, 355-361.
7. Cantlon, J.F. & Brannon, E.M. **2007**. Basic Math in Monkeys and College Students. ***PLoS Biol***, 5, e328
8. Pinker, S. **1994**. The language instinct. Penguin.
9. Bouchard, T.J. et al. **1990**. Sources of human psychological differences: The Minnesota study of twins reared apart. ***Science***, 250, 223-228.
10. Hauser, M.D. **2006**. Moral minds. Ecco.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Bolhuis, J. J. & Wynne, C.D.L. **2009**. Can evolution explain how minds work? ***Nature***, 458. 832-833.
- Ridley, M. **2004**. Qué nos hace humanos. Taurus.

---

# 5.10

## **Evolución de la Cooperación para Beneficio Mutuo entre Individuos que Comparten Rasgos Arbitrarios**

**Miguel A. Toro<sup>1</sup> y Laureano Castro<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Departamento de Producción Animal. ETS Ingenieros Agrónomos. Ciudad Universitaria. 28040 Madrid. España.* <sup>2</sup>*Centro Asociado de Madrid, UNED, C/ Paseo del Prado 30 (portal B), 28014, Madrid. España.*

### **RESUMEN**

En este trabajo mostramos que la cooperación para beneficio mutuo puede favorecer una preferencia genética a interactuar con individuos que se nos parecen con respecto a una o varias etiquetas o señales genéticas o culturales. Para ello se requieren dos condiciones: a) una población de censo reducido o una metapoblación grande subdivida y b) una asimetría entre los compañeros de la interacción de forma que uno de ellos (actor) propone la cooperación y elige al compañero, mientras que el otro (receptor) siempre acepta la oferta. También mostramos que si la señal utilizada en la elección del compañero es el comportamiento altruista éste puede aumentar en frecuencia. Por último, señalamos que cuando la preferencia se dirige hacia una serie de etiquetas culturales transmitidas de forma vertical se produce una homogeneización cultural dentro de las poblaciones al mismo tiempo que un aumento de la variabilidad entre poblaciones, lo que puede facilitar la aparición de grupos étnicos.

### **1. INTRODUCCIÓN**

La cooperación y el altruismo, son temas que, iniciados por Hamilton (1), han despertado un interés continuo en las ciencias biológicas y sociales. Sin embargo, como ha señalado Maynard Smith (2), la fascinación por la naturaleza paradójica del altruismo ha hecho que se pasara por alto otras formas de cooperación como las relacionadas con el beneficio mutuo, esto es, aquellas en las que ambos participantes salen beneficiados. En estos casos suele considerarse que la selección natural habría favorecido estas interacciones mutualistas y no se profundiza en el análisis de los modelos relevantes.

Por otra parte, gran parte de las explicaciones que permiten la evolución de los comportamientos altruistas se basan en asumir que las interacciones entre individuos no son aleatorias, sino que los individuos altruistas tienden a interactuar con los altruistas. La forma más natural de que suceda esto surge cuando las interacciones ocurren dentro de familias. Es lo que se denomina selección de parentesco o *kin selection*. También podría ocurrir que los altruistas se reconocieran entre sí e interactúan preferentemente entre ellos. Si admitimos que una parte de los encuentros se produce de manera

preferencial entre individuos altruistas o entre individuos egoístas, mientras que las restantes interacciones se establecen de manera aleatoria, es fácil demostrar que el altruismo se convierte en la estrategia ganadora. Siguiendo un ejemplo de Dawkins (3), denominado el modelo de la barba verde, si imaginamos que los altruistas tienen un carácter visible fácilmente identificable como, por ejemplo, poseer una barba verde, los altruistas podrían utilizar la regla de asistir a los que la tengan y así los genes altruistas se ayudarían a sí mismos y se impondrían en la población. Sin embargo, la falacia de este argumento, como señaló el propio Dawkins, reside en que es virtualmente imposible que el mismo gen que determina el comportamiento altruista cause también una señal que permita distinguir a sus portadores. Además, si aceptamos esta condición, también habría que admitir la posibilidad de que surgiera un mutante egoísta con barba verde, que en buena lógica anularía el proceso.

En nuestra especie se acepta comúnmente que la mayor parte de la variabilidad conductual entre poblaciones responde a causas de origen cultural. Una fracción importante de la misma se corresponde con diferencias de tipo étnico. Las poblaciones humanas se encuentran muchas veces divididas en grupos étnicos marcados por lo que parecen ser etiquetas arbitrarias denominadas marcadores étnicos, tales como tipos de vestidos o de ornamentos corporales, lenguaje, acentos, religión o normas sociales. Las diferencias entre grupos para estos marcadores se mantienen a pesar de que existen factores que potencialmente tienden a homogeneizar las poblaciones, tales como la migración o los matrimonios mixtos que constantemente mezclan individuos de diferentes grupos. Por ello, el origen y mantenimiento de la diversidad cultural de tipo étnico resulta problemática (4).

## 2. OBJETIVOS

En este trabajo, siguiendo a Castro y Toro (5-6), estudiamos la evolución de la interacción preferencial (asortación) mediante la elección activa del compañero de la interacción en un contexto de cooperación para beneficio mutuo. Y demostramos que la selección natural favorece la tendencia a que los individuos interactúen con individuos que se les parecen para una etiqueta o señal arbitraria, aunque ambos caracteres, la preferencia y la señal, dependan de dos genes independientes que no están ligados. Esto requiere dos condiciones: a) un censo poblacional pequeño y b) una asimetría entre los compañeros de la interacción de forma que uno de ellos (actor) propone la cooperación y puede elegir el compañero mientras que el otro (receptor) siempre la acepta. Consideremos, por ejemplo, a un individuo que descubre un recurso alimenticio y necesita otro individuo para explotarlo. Es razonable que elija a un individuo que le caiga bien, por las razones que sean. Sin embargo, el individuo que recibe la oferta difícilmente la rechazará, puesto que para él será ventajosa, con independencia de que el proponente le resulte o no simpático.

### 3. RESULTADOS

**3.1. Modelo A: la interacción preferencial se produce utilizando una señal neutral.** Consideremos una población sexual haploide con dos loci, uno para preferencia ( $A/a$ ) y otro para una etiqueta o señal neutral con dos alelos ( $E/e$ ). Si el alelo  $a$  está presente en el primer locus del actor éste ofrece cooperación de forma aleatoria, pero, si es el alelo  $A$  el que lo está, hay una tendencia (medida por  $m$ ) a que ofrezca cooperación a un individuo que se le parece genéticamente para dicha señal arbitraria ( $E,e$ ). Por tanto, suponemos que cuando un individuo ofrece cooperación es capaz, al menos parcialmente, de elegir al compañero. Por el contrario, cuando un individuo recibe una oferta nunca la rechaza (si no tendría una desventaja obvia).

Puede demostrarse que el alelo  $A$  puede aumentar en frecuencia cuando ambos la preferencia ( $A$ ) y la etiqueta ( $E/e$ ) dependen de dos loci no ligados. Si las frecuencias del alelo  $A$  en el primer locus y del alelo  $E$  en el segundo locus son  $p_1$  y  $p_2$ , respectivamente, el cambio en frecuencias génicas y en desequilibrio de ligamiento ( $D$ ) será:

$$\Delta p_1 = \frac{mD^2}{2p_2(1-p_2)} \quad (1)$$

$$\Delta p_2 = \frac{mD}{2} \quad (2)$$

$$\Delta D = \frac{mD(1-c)}{2} \left[ \frac{D(1-2p_2) - 0.5D^2}{p_2(1-p_2)} \right] - Dc \quad (3)$$

siendo  $c$  la frecuencia de recombinación.

Se pueden extraer varias conclusiones de las fórmulas anteriores. El sistema está en equilibrio si  $D=0$  al margen de los valores de las frecuencias génicas  $p_1$  y  $p_2$ . De esta forma, comenzando con un valor arbitrario de  $D$  el sistema evoluciona hacia la disipación del desequilibrio hasta que se alcanza un valor de  $D=0$ . Conforme  $D$  va hacia 0 el comportamiento de los dos loci es diferente. En el primer locus ( $A,a$ ), el aumento de la frecuencia del alelo  $A$ , que favorece la interacción preferencial, depende del valor del desequilibrio al cuadrado ( $D^2$ ) y, por tanto, siempre aumenta en frecuencia sea cual, sea el signo de  $D$ , mientras no valga 0. Sin embargo, en el segundo locus ( $E,e$ ) el cambio en frecuencia depende directamente del signo y magnitud del desequilibrio de ligamiento y, por lo tanto, puede aumentar o disminuir.

Lamentablemente las formulas anteriores no describen el sistema en el caso de poblaciones finitas, ya que no incluyen el efecto de la deriva ni el hecho de que un individuo no puede interaccionar consigo mismo. Por ello, la

evolución del sistema en situaciones interesantes se ha abordado mediante simulación en computador. En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos en una población subdividida en grupos, entre los cuales hay migración, asumiendo que tendencia a escoger a individuos similares para interactuar, que depende del alelo *A*, es máxima ( $m=1$ ). Consideramos una metapoblación formada por 100 poblaciones de 50 individuos cada una. La selección entre grupos se evita en la medida en que no existe extinción y recolonización y la migración no depende de la eficacia biológica de los grupos. En cada generación y antes de que ocurran las interacciones cada población intercambia  $k$  individuos con otras poblaciones. La selección y el apareamiento ocurren únicamente dentro de poblaciones. Cada situación se replica 500 veces y asumimos que cada individuo tiene el mismo número ( $n=20$ ) de interacciones como actor. Puede verse que esta situación es muy favorable para el aumento en frecuencia del alelo *A* porque la migración asegura el mantenimiento de variabilidad genética dentro de poblaciones, mientras que la subdivisión es una fuente de desequilibrio de ligamiento. Por eso existe un valor óptimo para la frecuencia de migración (en nuestro caso  $k=1$ ) que maximiza el aumento en frecuencia del alelo *A*.

**Tabla 1** Evolución de las frecuencias génicas de los alelos *A* y *E* con el transcurrir de generaciones en una metapoblación formada por 100 poblaciones de 50 individuos con  $k$  migrantes.

Situaciones	Alelos	Generaciones				Tendencia significativa
		1	50	100	250	
( $k=0.25$ )	<i>A</i>	0.100	0.110	0.118	0.147± 0.003	↑
	<i>E</i>	0.500	0.500	0.497	0.497± 0.004	=
( $k=1$ )	<i>A</i>	0.100	0.112	0.125	0.173 ± 0.004	↑
	<i>E</i>	0.500	0.500	0.500	0.504± 0.005	=
( $k=10$ )	<i>A</i>	0.100	0.108	0.118	0.151± 0.003	↑
	<i>E</i>	0.500	0.496	0.497	0.498± 0.005	=

**3.2. Modelo B: El altruismo actúa como señal para la preferencia** Una vez que hemos demostrado que la cooperación para beneficio mutuo puede promover la interacción preferencial vamos a estudiar si esto permitiría la evolución del altruismo en sentido estricto. Para ello, en el modelo anterior asumimos que el alelo *e* induce un comportamiento egoísta mientras que el *E* favorece un comportamiento altruista. El alelo *A* favorece la interacción entre individuos que se parecen, pero para este segundo locus altruista. Así, *AE* tiende a interactuar con *AE* y *aE*, mientras que *Ae* tiende a interactuar con *Ae* y *ae*. Como antes suponemos además que: a) cada individuo ofrece cooperación como actor el mismo número de veces; b) los actores pueden elegir, al menos parcialmente, al compañero; c) cuando un individuo recibe una oferta de cooperación nunca la rechaza.

Si  $b$  y  $c$  son el beneficio y el coste de la acción altruista respectivamente, puede demostrarse que la frecuencia del alelo  $A$  aumentará en frecuencia si

$$bmDp_1 - cD + \frac{mD^2[1 + b(1 - p_2)]}{p_2(1 - p_2)} > 0$$

y la del alelo  $E$  si

$$mD + bmD(1 - p_2) + p_2(1 - p_2)(mp_1b - c) > 0$$

Puesto que en una población de censo reducido  $D$  cambia de signo aleatoriamente los términos en  $D$  se cancelarán en promedio. Por tanto, el alelo  $E$  aumentará en frecuencia si  $p_1mb > c$ . Obviamente si  $b=c=0$  recuperamos la situación de beneficio mutuo.

En la Tabla 2 se presentan los resultados en el escenario favorable de una población subdividida como la descrita anteriormente. El alelo  $A$  aumenta en frecuencia como en la situación de beneficio mutuo lo que a su vez favorece el aumento de  $E$  porque  $p_1mb$  aumenta con  $p_1$ .

**Tabla 2.** Evolución de las frecuencias génicas de los alelos  $A$  y  $E$  con el transcurso de las generaciones (frecuencia inicial de ambos alelos:  $p_1=p_2=0.1$ )

Situación	Alelos	Generaciones				Tendencia significativa
		1	50	100	250	
Metapoblación ( $m=1, p_1b > c$ ) ( $k=1$ )	$A$	0.100	0.108	0.123	$0.178 \pm 0.004$	↑
	$E$	0.100	0.126	0.170	$0.453 \pm 0.011$	↑

**3.1. Modelo C: Etiquetas culturales.** En este caso modificamos el modelo  $A$  asumiendo que las etiquetas que se usan para elegir el compañero de la interacción son varios caracteres culturales. El sistema de herencia es por tanto doble: genético para el gen responsable de la elección de compañero ( $A/a$ ) y cultural para las etiquetas culturales arbitrarias que de las que depende la preferencia. Cada señal cultural tiene dos variantes alternativas neutras -por ejemplo para 4 señales arbitrarias serían  $B/b, C/c, D/d$  y  $E/e$ . Así un individuo  $ABCDE$  tenderá a interaccionar con  $ABCDE$  y  $aBCDE$ , mientras que  $Abcde$  como actor tiende a interaccionar con  $Abcde$  y  $abcde$ . Si no existe ningún individuo que posea todas las etiquetas apropiadas cada actor elige al receptor con el que comparte el máximo número de etiquetas. También asumimos que cada actor puede elegir uno o más receptores y, por tanto, en las interacciones cooperativas pueden estar implicados dos o más individuos.

Los individuos aprenden por transmisión cultural una de las dos variantes de la etiqueta cultural. Consideramos dos modelos de transmisión cultural:



(1) Transmisión vertical en la que los individuos imitan la etiqueta cultural de sus padres. Puede ser uniparental ( $V_{up}$ ) si se imita a uno de los padres, la madre por ejemplo, o biparental ( $V_{bp}$ ) si, para cada etiqueta, el individuo imita al azar, bien a su padre o a su madre.

(2) Transmisión oblicua en la que los individuos imitan un individuo de la generación previa elegido al azar y adoptan todas sus etiquetas culturales (oblicua con un único modelo  $O_{um}$ ), o escogen como modelo un individuo diferente para cada etiqueta cultural (oblicua con múltiples modelos  $O_{mm}$ ).

La evolución del sistema se ha estudiado simulando una metapoblación constituida por 100 poblaciones de 50 individuos con migración. Por simplicidad asumimos que todos los individuos tienen una sola interacción como actores y, por lo tanto, las diferencias en eficacia biológica se deben a las diferencias en el número de veces que son elegidos como receptores. Cada individuo de la siguiente generación se genera eligiendo al azar dos individuos de la generación previa de acuerdo con sus valores de eficacia biológica. Los apareamientos tienen lugar dentro de cada población y cada una intercambia al azar  $k$  migrantes con las otras poblaciones antes de que las interacciones ocurran.

Los resultados de simulación en computador indican que el alelo responsable de la preferencia aumenta en cualquiera de los sistemas de transmisión cultural considerados, aunque el aumento es lento con transmisión oblicua (0.0013/generación para  $O_{um}$  y  $O_{mm}$ ), mientras que es rápido en el caso de transmisión vertical (0.0055 y 0.0069/generación para  $V_{up}$  y  $V_{bp}$ , respectivamente). Como se muestra en la ecuación (1) el desequilibrio de ligamiento que surge entre el locus  $A/a$  y el carácter usado como etiqueta cultural causa el incremento en la frecuencia de  $A$  porque los individuos  $A$  interaccionan más veces como receptores que los  $a$ . Los valores de  $D^2$  promediados sobre etiquetas, réplicas y generaciones fueron 0.0325 y 0.0319 con transmisión oblicua unimodelo y multimodelo respectivamente, mientras que con transmisión vertical los valores fueron más altos (0.0594 con  $V_{up}$  y 0.0478 con  $V_{bp}$ ).

Una consecuencia importante de la evolución del sistema es que las poblaciones tienden a homogeneizarse para las etiquetas culturales transmitidas verticalmente, pero al mismo tiempo tienden a magnificarse las diferencias entre poblaciones. La variabilidad cultural dentro y entre poblaciones se analiza en la Tabla 3 cuando el alelo de la preferencia está fijado ( $p=1$ ) o está ausente ( $p=0$ ). La variabilidad inicial es la misma en todos los casos correspondiendo la mayor parte de ella (98%) a variabilidad dentro de grupos. Si el alelo  $A$  está ausente la variabilidad dentro disminuye por deriva en generaciones sucesivas, pero aumenta con la migración de forma que en la generación 100 la partición de la variabilidad es 80% dentro y 20 entre poblaciones. Si el alelo  $A$  está fijado y el sistema de transmisión cultural es vertical biparental la partición se modifica drásticamente y la variabilidad entre poblaciones representa el 86% de la variabilidad total. Las poblaciones tienden a homogeneizarse para una estructura fenotípica particular diferente en cada población y resiste la invasión de migrantes procedentes de otras poblaciones. La transmisión vertical biparental facilita este resultado porque cuando un migrante llega a la población produce una descendencia culturalmente híbrida que tiene dificultades para ser elegido como compañero en las interacciones

con otros individuos. Con transmisión cultural vertical uniparental el efecto es menor y por lo tanto la variabilidad dentro de poblaciones tras 100 generaciones es el 68% del total. Con transmisión cultural oblicua la presencia del alelo *A* no contribuye a aumentar la variabilidad entre poblaciones porque la probabilidad de ser un modelo cultural es la misma para todos los individuos y por lo tanto le estructura fenotípica se replica generación tras generación.

**Tabla 3.** Evolución de la frecuencia media de las etiquetas culturales (*B*) y de la variabilidad cultural dentro y entre poblaciones en función de que el alelo *A* responsable de la preferencia esté fijado ( $p=1$ ) o esté ausente ( $p=0$ ) para distintos sistemas de transmisión cultural y después de transcurridas 100 generaciones

Situación	Alelo Cultural	Generaciones		Variabilidad cultural (después de 100 generaciones)		
		0	100	Dentro	Entre	Total
$V_{bp} p=1$	<i>B</i>	0.5	0.5033	0.0346	0.2104	0.2450
$V_{bp} p=0$	<i>B</i>	0.5	0.5028	0.1898	0.0556	0.2454
$V_{up} p=1$	<i>B</i>	0.5	0.5057	0.0828	0.1600	0.2428
$V_{up} p=0$	<i>B</i>	0.5	0.4951	0.1899	0.0557	0.2456
$O_{mm} p=1$	<i>B</i>	0.5	0.4977	0.1952	0.0508	0.2460
$O_{mm} p=0$	<i>B</i>	0.5	0.4983	0.1952	0.0508	0.2460
$O_{um} p=1$	<i>B</i>	0.5	0.5010	0.1950	0.0512	0.2462
$O_{um} p=0$	<i>B</i>	0.5	0.5016	0.1947	0.0514	0.2489

También hemos considerado una situación con dos grupos étnicos. Inicialmente hay 50 poblaciones homogéneas para una de las variantes de cada etiqueta (BCDEFGHIJK) y otras 50 poblaciones homogéneas para las etiquetas alternativas (bcdefghijk). Si el alelo *A* está ausente y con una tasa de migración de  $k=1$ , al margen del sistema de transmisión cultural considerado, la variabilidad entre poblaciones disminuye al cabo de 100 generaciones hasta alcanzar un valor próximo al 20%. Por el contrario, cuando el alelo *A* está fijado y el sistema de transmisión cultural es el vertical biparental casi el 87% de la variabilidad total se mantiene entre poblaciones. La resistencia a la invasión de migrantes se explica porque éstos tienen un fenotipo mixto que les hace menos atractivos para ser elegidos como compañeros. Si la transmisión cultural es vertical uniparental, la descendencia de un migrante será idéntica a él mismo o a su pareja, pero sin producirse nuevos tipos étnicos híbridos. Por tanto, la capacidad de resistir a la invasión de migrantes es limitada, ya que cuando llega un grupo de migrantes similares constituirán un grupo de interacción

exclusivo con la misma eficacia que el resto de la población. Por esta razón, tras 100 generaciones, la variabilidad entre poblaciones disminuye hasta un 55% del total.

#### 4. CONCLUSIONES

Gran parte de la cooperación en la especie humana es cooperación para beneficio mutuo. La posibilidad de cooperar depende a veces de una asimetría entre los individuos involucrados: uno de los individuos (actor) tiene información sobre un recurso que sólo puede ser explotado en cooperación. Esta modalidad es la que hemos analizado en este trabajo. Tres conclusiones principales emergen del mismo. La primera hace referencia a la posibilidad de que en una población pequeña, o en una población grande subdividida (metapoblación), en las que los individuos cooperan para beneficio mutuo, evolucione una tendencia a la interacción preferencial (asortación) con respecto a una etiqueta arbitraria: interacciona con aquellos individuos que se te parecen. La ventaja de los individuos que poseen el alelo *A* para la preferencia se debe a que reciben más ofertas de cooperación cuando existe desequilibrio de ligamiento entre la preferencia y las etiquetas.

La segunda conclusión refiere a la posibilidad de que la evolución de las interacciones preferenciales pueda favorecer la evolución de comportamientos altruistas. Para ello hace falta que el alelo *A* utilice el comportamiento altruista como etiqueta para la asortación. Además se requiere un censo poblacional pequeño o una población subdividida al comienzo del proceso para que la condición que permite que el altruismo evolucione ( $p_1mb > c$ ) pueda cumplirse. Nótese que este efecto es diferente del denominado 'efecto de la barba verde', ya que aquí estamos asumiendo dos loci independientes y no ligados y, por lo tanto, sólo funciona en las condiciones establecidas por el modelo: asimetría en el papel jugado por dos compañeros de la interacción, población subdividida y que el comportamiento altruista se utilice como etiqueta.

La tercera conclusión es que la evolución de una preferencia a interaccionar con individuos que se nos parecen ocurre también si el parecido es para etiquetas culturales arbitrarias. El efecto es mayor con transmisión cultural vertical biparental que con vertical uniparental y no existe con transmisión oblicua. Creemos que este fenómeno podría haber jugado un papel importante en la creación y mantenimiento de la diversidad étnica de tipo cultural en la especie humana debido a; 1) el importante papel que juegan las interacciones cooperativas para beneficio mutuo; 2) la posibilidad de que los caracteres culturales puedan usarse como etiquetas visibles; 3) la estructura metapoblacional de nuestra especie al menos hasta la implantación de la agricultura hace unos 11500 años; 4) la evidencia existente de que muchos caracteres culturales se transmiten a través de transmisión vertical. En este sentido, nosotros hemos defendido que la transmisión cultural humana se produce inicialmente a través del control parental de la conducta de los hijos mediante su aprobación o reprobación. Esta forma de transmisión cultural entre padres e hijos a la que denominamos *assessor* (7) podría haber favorecido la propagación de esa tendencia a interaccionar con individuos similares que parece estar en el origen de la variabilidad cultural étnica.

## 5. REFERENCIAS

1. Hamilton, W. D. 1964. The genetical evolution of social behaviour I-II. ***Journal of Theoretical Biology*** 7, 1-32.
2. Maynard Smith, J., Szathmáry, E. 1995. *The Major Transitions in Evolution*. W.H. Freeman, Oxford.
3. Dawkins, R. 1976. *The Selfish Gene*. Oxford University Press, Oxford.
4. McElreath, R., Boyd, R., Richerson, P. 2002. Shared norms can lead the evolution of ethnic markers. ***Current Anthropology*** 44,122-129.
5. Castro, L., Toro, M. A., 2004. Mutual benefit can promote the evolution of preferential interactions and in this way can lead to the evolution of true altruism. ***Theoretical Population Biology*** 65, 239–247.
6. Castro, L., Toro, M. A., 2007. Mutual benefit cooperation and ethnic cultural diversity. ***Theoretical Population Biology***, 71, 392-399.
7. Castro, L., Toro, M. A., 2004. The evolution of culture: from primate social learning to human culture. ***Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*** 101, 10235-10240.

## 6. LECTURAS RECOMENDADAS

- Castro, L., López-Fanjul, C. y Toro, M.A. 2003. *A la sombra de Darwin: Las aproximaciones evolucionistas al comportamiento humano*. Siglo XXI Editores, Madrid.
- Dugatkin, L. A. 2007. *Qué es el altruismo. La búsqueda científica de la generosidad*. Katz Barpal Editores, Madrid



# Tema 6

---

## Interacción entre Especies

---

# 6.1

## Estrategias Adaptativas a Antivirales en Virus de RNA

José M. Cuevas<sup>1, 2, 3</sup>, F. Xavier López-Labrador<sup>1, 3, 4</sup>, Vicente Sentandreu<sup>1</sup>, María A. Bracho<sup>1, 3, 4</sup>, Fernando González-Candelas<sup>1, 2, 3, 4</sup>

<sup>1</sup>Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva. Universitat de València. Apartado de correos 22085, 46071 Valencia, España <sup>2</sup>Departamento de Genética, Universitat de València. Apartado de correos 22085, 46071 Valencia, España. <sup>3</sup>CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Valencia, España. <sup>4</sup>Área Genómica y Salud, Centro Superior de Investigación en Salud Pública, Avenida de Cataluña 21 46020 Valencia, España.

### RESUMEN

En este trabajo analizamos los diferentes mecanismos de adaptación que se presentan en virus con genoma RNA frente a las terapias antivirales actuales. Para ello, comparamos las estrategias empleadas por dos virus ampliamente distribuidos a nivel mundial: el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y el virus de la hepatitis C (VHC). Por un lado, los tratamientos antivirales frente al VIH-1 son específicos y actúan sobre dianas conocidas del virus, más concretamente, sobre posiciones aminoacídicas específicas. Por otro lado, las terapias que se emplean actualmente frente al VHC son fundamentalmente inespecíficas y presentan un mecanismo de acción claramente diferente, donde, si bien se detectan posiciones sobre las que parece aumentar la presión de selección, no se observan convergencias adaptativas en las poblaciones virales de distintos pacientes analizados. En el caso del VHC, este hecho dificulta extraer conclusiones acerca del efecto concreto del tratamiento antiviral empleado, así como de los mecanismos particulares de evasión empleados por el virus.

### 1. INTRODUCCIÓN

Desde las últimas décadas del siglo pasado hasta la actualidad, podemos destacar la emergencia de nuevas enfermedades virales, generalmente causadas por virus con genoma RNA. Esta emergencia ha sido debida bien a la identificación de nuevos virus o al aumento de su prevalencia, hasta el punto de constituir un problema de salud pública a nivel mundial. El VHC constituye un ejemplo del primer caso, ya que no fue identificado hasta 1989 como el principal causante de la hepatitis post-transfusional no-A no-B (NANB), entidad pese a todo conocida desde 1975 como tipo de hepatitis viral no relacionada con los virus de la hepatitis A o B. El caso del VIH-1 es distinto y su origen parece estar en un salto de hospedador, que habría tenido lugar durante la primera mitad del siglo XX, desde el chimpancé común hasta los seres humanos.

Los virus producen numerosas enfermedades en humanos, algunas de las cuales generan costes elevados en los sistemas de salud (Tabla 1). Como se ha mencionado, de especial preocupación son las enfermedades

emergentes, causadas principalmente por virus con genoma RNA. Este grupo de virus se caracteriza por presentar tamaños poblacionales muy elevados, tasas de mutación altas y genomas de tamaño pequeño (Domingo et al, 2008). Sin embargo, estas propiedades no son completamente exclusivas de virus con genoma RNA, ya que el tamaño genómico de algunos virus con genoma DNA y, fundamentalmente, sus tamaños poblacionales son similares a los que presentan los virus con genoma RNA. Lo que es realmente exclusivo de los virus con genoma RNA son las elevadas tasas de mutación, ya que las polimerasas de RNA carecen de la capacidad de reparación de errores durante la replicación. Esta característica les confiere un enorme potencial evolutivo y, en consecuencia, una gran capacidad de adaptación (Holmes, 2009).

El VIH-1, agente causal del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), se caracteriza por una gran diversidad genética clasificada en distintos subtipos moleculares, que incluyen numerosas formas recombinantes (1). Los datos más recientes de la OMS indican que el VIH-1 infecta a unos 33 millones de personas en todo el mundo, fundamentalmente en el África subsahariana. El primer antirretroviral que se empleó en el tratamiento del SIDA fue un análogo de nucleósido, el AZT o zidovudina, que actúa como inhibidor de la transcriptasa inversa (TI). Con el tiempo se han desarrollado nuevos fármacos, algunos de los cuales también actúan inhibiendo la TI (inhibidores no nucleosídicos y análogos de nucleótidos), mientras que otros son inhibidores de la proteasa viral o del proceso de fusión (entrada del virus a la célula). Actualmente, las terapias antirretrovirales consisten en la combinación de un "cóctel" de fármacos, que contienen tanto inhibidores de la TI como de la proteasa. Este tratamiento combinado, conocido como TARGA (tratamiento antirretroviral de gran actividad, del inglés HAART, *highly active antiretroviral therapy*) ha permitido que se ralentice tremendamente el progreso de la enfermedad en pacientes sometidos al mismo y que la infección causada por el VIH-1 pueda ser considerada, en algunos casos, una enfermedad crónica en países desarrollados, donde el uso de este tratamiento está extendido.

El VHC es la principal causa de enfermedades hepáticas en países desarrollados y supone un importante riesgo potencial de morbilidad y mortalidad sustancial en el futuro. Se estima que unos 170 millones de individuos están infectados por el VHC en todo el mundo. El primer tratamiento disponible fue la utilización de un inmunomodulador, el  $\alpha$ -interferón (IFN- $\alpha$ ), pero el porcentaje de éxito era inferior al 15%. Posteriormente, se introdujo la terapia combinada con el análogo de nucleósido ribavirina (RBV), mejorando el porcentaje de pacientes respondedores al tratamiento hasta el 45%. Más tarde, se mejoró la farmacocinética del IFN- $\alpha$ , incorporándole una molécula de polietilén-glicol (peg-IFN- $\alpha$ ), y la administración de peg-IFN- $\alpha$  + RBV ha aumentado ligeramente la eficacia del tratamiento (2). En cualquier caso, la terapia actual frente al VHC es básicamente inespecífica, ya que no está dirigida contra las proteínas del virus, y está lejos de tener una eficacia suficiente. Debido a esto, es sumamente importante estudiar los mecanismos de adaptación del VHC a los antivirales con objeto de desarrollar nuevos fármacos dirigidos específicamente contra el virus.

La constante mejora en las tecnologías de secuenciación ha permitido que el estudio de las enfermedades infecciosas, y en particular las causadas por virus con genoma RNA, se aborde desde un punto de vista epidemiológico-

molecular. En este sentido, las herramientas clásicas de la genética de poblaciones, así como nuevos métodos de inferencia filogenética, se emplean cada vez más en el estudio de las dinámicas de infección viral en poblaciones humanas (3, 4). De este modo, la epidemiología molecular puede proporcionar información relevante en distintos aspectos. Desde un punto de vista global, los análisis filogenéticos pueden identificar el origen de una infección en una región geográfica particular o bien explicar la distribución global de una enfermedad a mayor escala, resultando también útiles en otros campos, como la medicina forense (3). Los estudios epidemiológicos pueden aportar datos relevantes sobre los mecanismos concretos de evasión de las poblaciones virales, tanto del sistema inmune del hospedador como de los tratamientos antivirales. En este contexto, a continuación vamos a comparar las estrategias de escape del VHC y del VIH-1 frente a los tratamientos antivirales utilizados en la actualidad en ambos casos.

	<b>Grupo</b>	<b>Familia</b>	<b>Género</b>	<b>Ejemplo</b>
RNA	ss(-)	<i>Filoviridae</i>	<i>Filovirus</i>	Virus Ébola
	ss(+)	<i>Flaviviridae</i>	<i>Hepacivirus</i>	VHC
	ss-RT	<i>Retroviridae</i>	<i>Lentivirus</i>	VIH-1
	ds	<i>Reoviridae</i>	<i>Rotavirus</i>	Rotavirus
DNA	ss	<i>Parvoviridae</i>	<i>Parvovirus</i>	Parvovirus humano B19
	ds	<i>Papillomaviridae</i>	<i>Papillomavirus</i>	Virus del papiloma humano
	ds-RT	<i>Hepadnaviridae</i>	<i>Orthohepadnavirus</i>	Virus de la hepatitis B

**Tabla 1. Virus que causan enfermedades en humanos.** Se muestra un ejemplo para cada uno de los grupos de virus con genoma RNA y DNA. Abreviaturas: ss, cadena sencilla; (-), polaridad negativa; (+), polaridad positiva; RT, virus que utilizan transcriptasa inversa en su ciclo de replicación; ds, doble cadena.

## 2. OBJETIVOS

En este trabajo pretendemos mostrar las diversas estrategias adaptativas frente al tratamiento antiviral que se pueden presentar en virus con genoma RNA. Para ello, vamos a describir las distintas respuestas adaptativas de dos virus de gran importancia en salud pública, el VIH-1 y el VHC. De esta forma, podremos observar cómo la adaptación de estos virus a sus hospedadores se ve alterada de forma distinta por sus respectivos tratamientos antivirales, que facilitan estrategias adaptativas sustancialmente distintas.



### 3. RESULTADOS

**3.1. Adaptación del VIH-1 al tratamiento antiviral.** Como hemos comentado, los genes de la proteasa y de la TI codifican las enzimas empleadas como principales dianas de las terapias antirretrovirales (1). Las poblaciones virales, por su naturaleza altamente polimórfica, proporcionan un reservorio de mutaciones que, en condiciones de fuerte presión selectiva como la provocada por drogas antivirales, puede dar lugar a la selección de mutaciones de resistencia. De hecho, esto es lo que se observa claramente en la infección por el VIH-1. A modo de ejemplo, la adquisición de resistencia a los inhibidores de la proteasa requiere generalmente la presencia simultánea de varios cambios aminoacídicos, mientras que en el caso de los análogos nucleosídicos inhibidores de la TI es suficiente la aparición de sustituciones aminoacídicas únicas (1).

Las mutaciones de resistencia a fármacos antirretrovirales son frecuentes en el gen *pol* del VIH-1, que codifica, entre otras proteínas, la proteasa y la TI. Actualmente se dispone de una extensa base de datos de mutaciones de resistencia del subtipo B del VIH-1, el más extendido en los países desarrollados. Sin embargo, la alta heterogeneidad genética del VIH-1 hace que sea necesaria la caracterización de mutaciones de resistencia en el resto de subtipos. En cualquier caso, en contraste con la gran variabilidad genética presente en el genoma del VIH-1, cabe destacar que hay una gran similitud entre los distintos subtipos a nivel de las posiciones concretas asociadas a la resistencia a antirretrovirales (1).

Un aspecto importante en la adquisición de mutaciones de resistencia es el potencial coste que pueden tener sobre la eficacia biológica viral. En este sentido, se han observado resultados paradójicos, ya que en algunos casos las cepas portadoras de mutaciones de resistencia eran menos eficaces que las no resistentes, mientras que en otros estudios ocurría lo contrario. En este segundo caso, como era de esperar, las mutaciones se detectaban con frecuencia en pacientes no sometidos a tratamiento antiviral (3). Se han detectado numerosas mutaciones compensatorias, capaces de “restaurar” la eficacia perdida por los virus portadores de algunas mutaciones de resistencia.

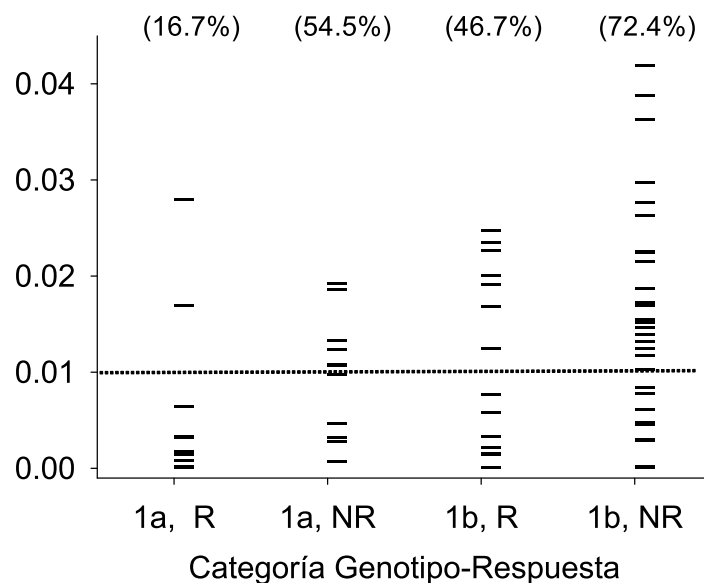
La recombinación genómica es un mecanismo a través del cual se pueden combinar mutaciones de resistencia y/o compensatorias en un único genoma de forma mucho más rápida de lo que tendría lugar por simple acumulación sucesiva de mutaciones. Además, la recombinación también permite eliminar mutaciones deletéreas que podrían provocar disminuciones drásticas de la eficacia. Un claro ejemplo de la importancia de la recombinación es el VIH-1, cuya tasa de recombinación es incluso mayor que la tasa de mutación (5). Por ello, se ha especulado que el TARGA tiene pocas probabilidades de proporcionar una cura definitiva de la enfermedad, ya que los fenómenos de recombinación podrían permitir que la adquisición de resistencias tuviera lugar mucho más rápidamente de lo que ocurriría por simple acumulación sucesiva de mutaciones (3).

**3.2. Adaptación del VHC al tratamiento antiviral.** Como hemos mencionado, la terapia actual para la hepatitis C es inespecífica y se trata de una combinación peg-IFN- $\alpha$  + RBV, presentando cada uno de estos compuestos un

efecto claramente distinto. Por un lado, el IFN- $\alpha$  es una proteína natural que produce el sistema inmunitario como respuesta a diversos agentes externos, tales como virus o células cancerígenas. Debido a ello, la administración de IFN- $\alpha$  supone un incremento efectivo de su concentración en el paciente e intensifica, por tanto, el efecto de la respuesta inmune. El efecto de la ribavirina, un análogo de nucleósido, es radicalmente distinto, aunque su modo de acción sigue sin estar completamente caracterizado. Algunos de los mecanismos de acción propuestos para la ribavirina consisten en la inhibición directa de la polimerasa viral, la inmunomodulación hacia una respuesta celular tipo Th1, o el incremento de la carga mutacional deletérea en los genomas virales nacientes. De hecho, este último mecanismo ha sido puesto de manifiesto recientemente en el VHC (6). Sin embargo, es necesario resaltar que los diversos modos de acción propuestos para la ribavirina han sido corroborados en algunos virus, pero no han podido ser probados en otros, de ahí que siga existiendo cierta incertidumbre en este sentido (6).

Se han analizado con detalle varias regiones del genoma del VHC con el objetivo de detectar cambios adaptativos en respuesta al tratamiento antiviral. Concretamente, se ha estudiado intensamente la variabilidad genética de los genes que codifican las proteínas E2 y NS5A del genoma del VHC, ya que contienen varias regiones potencialmente implicadas en la evasión del sistema inmunitario (2, 7). La proteína E2 es una proteína estructural que forma parte de la envuelta del virus. Hasta la fecha, se han identificado en esta proteína tres regiones con alta variabilidad, conocidas como regiones hipervariables, que parecen ser dianas de neutralización de los anticuerpos generados como respuesta a la infección por el VHC, motivo por el cual estarían sujetas a una fuerte presión de selección (7). La proteína NS5A es una proteína no estructural y contiene dos regiones de interés biológico, conocidas como dominios PKR-BD y V3, que parecen estar implicadas en la respuesta al interferón (7).

El análisis de las regiones arriba mencionadas no ha proporcionado resultados claros sobre los mecanismos concretos de adaptación. Diversos estudios han analizado la variabilidad genética de las poblaciones del VHC antes del inicio del tratamiento antiviral. Si bien las poblaciones virales que consiguen evadir el tratamiento antiviral suelen presentar valores iniciales de variabilidad ligeramente mayores a los observados en pacientes que responden al tratamiento, los resultados no son concluyentes. A modo de ejemplo, Torres-Puente y colaboradores (2) observaron que las estimas de diversidad genética en las proteínas E2 y NS5A eran mayores, en líneas generales, en los pacientes que no respondían al tratamiento, es decir, donde el virus evadía el tratamiento (Figura 1). A pesar de esta tendencia general, se observaron ejemplos claros de poblaciones virales con niveles inicialmente bajos de variabilidad genética que superaban el tratamiento antiviral, mientras otras poblaciones con niveles altos no eran capaces de hacerlo (Figura 1). De hecho, ninguna de las regiones del VHC analizadas, ni las regiones hipervariables de la región E2 ni los dominios PKR-BD o V3 de la región NS5A, mostraron posiciones discriminantes entre los pacientes que responden al tratamiento y los que no (2).

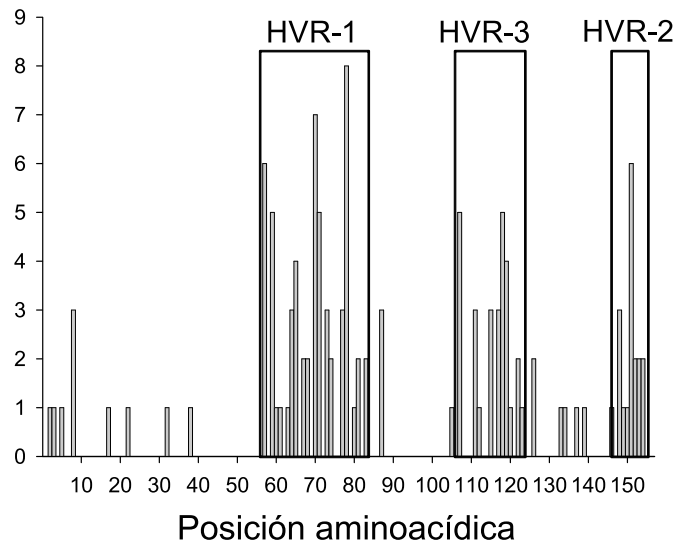


**Figura 1. Valores de diversidad nucleotídica en muestras del VHC pertenecientes a pacientes antes de iniciar el tratamiento antiviral.** Se muestran los valores para muestras virales de los subtipos 1a y 1b de pacientes que respondían (R) o no (NR) al tratamiento. Para cada categoría, en la parte superior se muestra entre paréntesis el porcentaje de pacientes que se presenta por encima de un valor arbitrario de 0.01 (línea punteada). Figura modificada de (2).

Otros análisis de las fuerzas selectivas implicadas en la respuesta viral al tratamiento tampoco han proporcionado resultados claros. Por ejemplo, se han estudiado las posiciones que evolucionan bajo selección positiva así como realizado reconstrucciones filogenéticas de las poblaciones virales previas y posteriores a tratamientos infructuosos, con el objeto de discernir patrones generales así como mecanismos concretos de adaptación que expliquen la respuesta al tratamiento antiviral (7). Sin embargo, estos estudios no han detectado patrones comunes de adaptación, sino que únicamente han podido confirmar la existencia de diversas regiones donde el sistema inmunitario, el tratamiento antiviral o la combinación de ambos, ejercen una fuerte presión selectiva de manera inespecífica. Este es el caso de las regiones hipervariables (Figura 2), donde se observa un claro efecto de la acción de la selección positiva en numerosos aminoácidos, pero en la que no se aprecia ninguna tendencia hacia la adquisición de cambios específicos en ninguna posición concreta (7).

En conjunto, los resultados antes expuestos podrían hacernos pensar que otras regiones no consideradas pueden estar implicadas en la resistencia al tratamiento antiviral. Aunque esta posibilidad no se puede descartar por completo, también es cierto que no se han detectado mutaciones específicas de resistencia en el gen de la polimerasa del VHC (8). Todo ello sugiere que la estrategia empleada por el VHC para evadir la presión inmune o el tratamiento antiviral actual no consiste en un único mecanismo sino, probablemente, en diversas alternativas, en las que la combinación de un conjunto de cambios

simultáneos a lo largo del genoma puede conferir la capacidad para superar fuertes presiones selectivas.



**Figura 2. Distribución de posiciones bajo selección positiva en un fragmento del genoma del VHC que contiene las regiones hipervariables (HVR-1, HVR-2 y HVR-3).** Para cada posición aminoacídica, la altura de la barra correspondiente indica el número de pacientes donde se detectó selección positiva (n = 22). Figura modificada de (6).

**3.3. Efecto de la diversidad genética en la respuesta diferencial al tratamiento.** Hasta ahora, hemos mostrado las diferentes estrategias adaptativas que presentan el VIH-1 y el VHC frente al tratamiento antiviral. Sin embargo, también es necesario comentar que esta respuesta es dependiente en gran medida del genotipo o subtipo viral analizado. De este modo, en el caso del VHC, la tasa de éxito del tratamiento antiviral en pacientes infectados con los genotipos 2 y 3 es entre dos y tres veces superior a la de pacientes infectados con genotipo 1 (2). En relación con esto, la velocidad de aparición de mutaciones de resistencia también difiere entre los subtipos del VIH-1. Esto parece basarse en el nivel de polimorfismo natural presente en los distintos subtipos. A modo de ejemplo, la aparición de una sustitución aminoacídica que confiere resistencia a inhibidores de la TI requiere una única mutación en algunos subtipos del VIH-1 frente a dos mutaciones en otros subtipos (1). En definitiva, el estudio comparado de los distintos genotipos o subtipos virales constituye una herramienta importante de cara a establecer los mecanismos concretos de evasión al tratamiento antiviral.

**3.4. Comparación entre las estrategias adaptativas del VIH-1 y el VHC.** En los apartados anteriores hemos mostrado los distintos tratamientos empleados frente al VIH-1 y al VHC, además de los mecanismos de resistencia que utilizan estos virus. Las diferencias mostradas entre ambos virus en la aparición de resistencias pueden ser debidas tanto al modo de acción de cada tratamiento

en particular como a factores intrínsecos de cada virus. Ambos aspectos serán tratados a continuación.

La estrategia empleada en la lucha contra estas dos enfermedades virales es radicalmente distinta. En el caso del VIH-1, los fármacos utilizados atacan específicamente distintas etapas del ciclo de replicación del virus (1). En el caso del VHC, sin embargo, la terapia actual está fundamentada en el uso de interferón, que no ejerce ninguna acción específica sobre el virus, sino que actúa como inmunomodulador. El único aspecto en común que tienen ambos tipos de tratamiento es el uso de análogos de nucleósido, ribavirina frente al VHC y otros análogos frente al VIH-1. Como hemos mencionado, sí se han observado mutaciones de resistencia en el VIH-1 (1), pero no se han observado resistencias específicas y generales a la ribavirina en el VHC (7, 8). En conclusión, el hecho de que ambos virus presenten estrategias diversas se puede explicar, al menos parcialmente, por los tratamientos antivirales empleados, si bien sigue resultando sorprendente que no se detecten mutaciones de resistencia a la ribavirina en el VHC.

En lo relativo a los mecanismos particulares de cada virus, nos encontramos con virus con genoma RNA, caracterizados por sus altas tasas de mutación. Sin embargo, la principal diferencia entre el VIH-1 y el VHC es la tasa de recombinación, mucho más elevada en el primero (5). Como comentamos anteriormente, la recombinación puede facilitar la aparición de resistencias múltiples a distintos fármacos, mediante la combinación, en un único genoma viral, de varias mutaciones de resistencia y/o compensatorias producidas en distintos genomas del virus. Sin embargo, la recombinación también puede provocar una ralentización en la adquisición de resistencias como consecuencia de la pérdida de combinaciones de mutaciones favorables. En este sentido, numerosos estudios teóricos han investigado ambas posibilidades en la dinámica de adaptación del VIH-1 con resultados diversos, donde la recombinación podía acelerar o ralentizar la adquisición de resistencias (9). Más recientemente, un trabajo que consideraba globalmente las distintas variables utilizadas previamente ha revelado que la recombinación parece ejercer un efecto mínimo en la evolución de la resistencia a antivirales (9). Por otro lado, hay muy pocas evidencias de fenómenos de recombinación en el VHC, dada la baja frecuencia con la que se producen coinfecciones por distintos subtipos del mismo, por lo que se supone que la importancia de la recombinación es muy limitada en este virus. No obstante, hay un estudio que postula que los fenómenos de recombinación en el VHC pueden ser más habituales de lo comúnmente aceptado (10). En cualquier caso, tanto en el VHC como en el VIH-1 no hay actualmente evidencias claras sobre la importancia de la recombinación en los mecanismos de resistencia a antivirales.

#### **4. CONCLUSIONES**

Desde el descubrimiento del VIH-1, 25 años de investigación han permitido obtener una terapia combinada (TARGA) específica y muy efectiva, aunque sus costes elevados hacen que se encuentre restringida fundamentalmente a los países desarrollados. Respecto al VHC, aunque su descubrimiento data de 1989, las terapias utilizadas hasta ahora son mucho menos eficaces, pero

mejorarán seguramente en los próximos años, ya que se están desarrollando más de 50 fármacos específicos contra varias proteínas del virus. En cualquier caso, el control de ambas enfermedades pasa por la obtención de una vacuna efectiva, algo que a día de hoy todavía parece estar lejos.

En términos epidemiológicos, el VIH-1 y el VHC están caracterizados por niveles altos de heterogeneidad y variabilidad genéticas, lo que se ve reflejado en distintos aspectos como la generación de resistencias, la persistencia, la susceptibilidad al tratamiento o la progresión de la infección. Además, también hay que considerar la existencia de una compleja interacción entre la diversidad genética del virus y la respuesta inmune del hospedador. En el caso del VHC, es precisamente esta interacción la que parece dificultar la obtención de evidencias claras en cuanto a los mecanismos empleados por el virus para evadir la respuesta inmune y el tratamiento antiviral actual.

**5. AGRADECIMIENTOS** Queremos agradecer la colaboración de todas aquellas personas que han formado parte del grupo de Epidemiología Molecular en el Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva durante todos estos años, sin cuya aportación no habría sido posible la obtención de muchos de los resultados mostrados en este trabajo.

## 6. REFERENCIAS

1. Buonaguro, L. et al. **2007**. Human immunodeficiency virus type 1 subtype distribution in the worldwide epidemic: pathogenetic and therapeutic implications. **J. Virol.** 81. Pp. 10209-10219.
2. Torres-Puente, M. et al. **2008**. Genetic variability in hepatitis C virus and its role in antiviral treatment response. **J. Viral Hepat.** 15. Pp. 188-199.
3. Moya, A. et al. **2004**. The population genetics and evolutionary epidemiology of RNA viruses. **Nat. Rev. Microbiol.** 2. Pp. 279-288.
4. Grenfell, B.T. et al. **2004**. Unifying the epidemiological and evolutionary dynamics of pathogens. **Science** 303. Pp. 327-332.
5. Jung, A. et al. **2002**. Recombination: multiply infected spleen cells in HIV patients. **Nature** 418. Pp. 144.
6. Cuevas, J.M. et al. **2009**. Effect of ribavirin on the mutation rate and spectrum of Hepatitis C virus in vivo. **J. Virol.** 83. Pp. 5760-5764.
7. Cuevas, J.M. et al. **2008**. Genetic variability of hepatitis C virus before and after combined therapy of interferon plus ribavirin. **PLoS ONE.** 3. Pp. e3058.
8. Ward, C.L. et al., **2008**. Interferon and ribavirin therapy does not select for resistance mutations in hepatitis C virus polymerase. **J. Viral Hepat.** 15. Pp. 571-577.
9. Kouyos, R.D. et al. **2009**. Recombination and drug resistance in HIV: population dynamics and stochasticity. **Epidemics.** 1. Pp. 58-69.
10. Sentandreu, V. et al. **2008**. Evidence of recombination in inpatient populations of hepatitis C virus. **PLoS ONE.** 3. Pp. e3239.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Domingo, E.C., Parrish, C.R., Holland, J.J. (Eds). **2008**. Origin and Evolution of Viruses. Academic Press.
- Holmes, E. **2009**. The Evolution and Emergence of RNA Viruses. OUP.

---

## 6.2

### Evolución Molecular del Bacilo de la Tuberculosis

Iñaki Comas y Sebastien Gagneux

MRC National Institute for Medical Research, The Ridgeway, NW7 1AA, London, United Kingdom

#### RESUMEN

A pesar de de ser una enfermedad tratable, la tuberculosis es la segunda enfermedad infecciosa que más muertes causa en el mundo después del VIH. Además, las manifestaciones clínicas de la enfermedad son muy variables y la vacuna BCG es inefectiva en la mayor parte de los casos. Esto sugiere un papel de las variaciones genéticas entre cepas del bacilo tuberculoso. Sin embargo, solo recientemente hemos empezado a conocer el verdadero alcance de dicha variación. En este capítulo nos centraremos en las diferentes fuerzas evolutivas que han generado la actual diversidad genética y distribución biogeográfica del bacilo.

#### 1. LA TUBERCULOSIS ES UN PROBLEMA DE SALUD GLOBAL

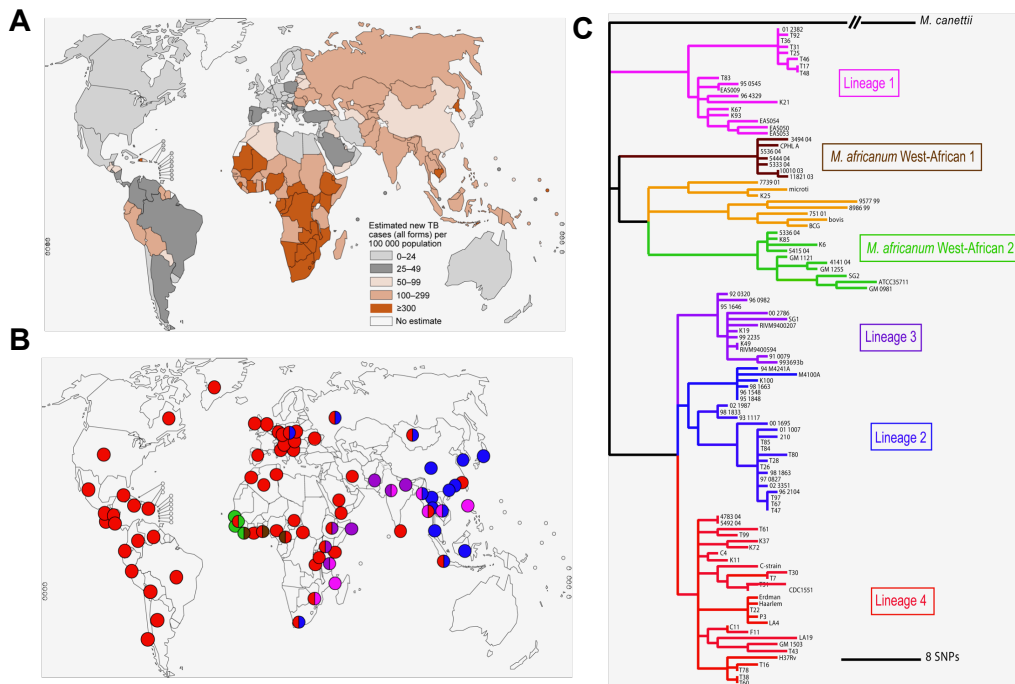
*Mycobacterium tuberculosis (Mtb)* es el agente causante de la tuberculosis. Se calcula que alrededor de un tercio de la población mundial podría estar infectada por el bacilo aunque solo un 5-10% desarrolla la enfermedad. De acuerdo con las estimaciones de la organización mundial de la salud (OMS) en 2007 ocurrieron 9.3 millones de casos de tuberculosis que se tradujeron en 1.3 millones de muertos (1,2). Estas cifras son impresionantes para una enfermedad que se tenía esperanza en erradicar hace apenas unas décadas. El crecimiento de la incidencia de la enfermedad se dio más rápidamente durante los años 90 mientras que actualmente dicha incidencia está decreciendo o estabilizada. Además es de esperar que disminuya en los próximos años pues en 2006 se puso en marcha el Plan Global para frenar TB (2006-2015) con el ambicioso objetivo de reducir la mortalidad debida a la tuberculosis a la mitad con respecto a la de 1990.

Dos grandes factores han contribuido a este renacimiento de la enfermedad y a las dificultades en controlarla. Por una parte la epidemia de VIH iniciada en los ochenta ha tenido un fuerte impacto en el aumento de número de casos. De hecho la tuberculosis es la infección oportunista más frecuente entre personas infectadas con VIH convirtiéndose en la principal causa de muerte entre dichas personas. De los 1.3 millones de casos de coinfección estimados en 2007 casi un 30% resultaron en muerte. Por otra parte desde el descubrimiento de la estreptomocina en 1943 y su posterior uso como tratamiento antituberculoso la bacteria ha sido sometida a una creciente presión antibiótica. Una acumulación de factores entre los que están un inapropiado uso

de antibióticos y las malas condiciones socioeconómicas de muchos países del mundo han llevado durante los 90 a la creciente frecuencia de cepas resistentes. Se calcula que en 2006 se dieron alrededor de medio millón de nuevos casos de pacientes portadores de cepas multirresistentes (MDR-TB) y un número creciente de casos diagnosticados de pacientes con cepas con un espectro de resistencia extendida (XDR-TB). MDR-TB se caracteriza por su resistencia a isoniazida y rifampicina como antibióticos de primera línea, mientras que XDR-TB son cepas resistentes a esas mismas drogas, más a una de las fluoroquinolonas y al menos una de las drogas de segunda línea inyectables (amikacina, kanamicina y/o capreomicina). Dichas cepas XDR se han encontrado en 55 países y todos los continentes y representan una de las mayores amenazas para el futuro control de la enfermedad pues su tratamiento es muy caro y muchas veces inefectivo.

**2. EL COMPLEJO DE *Mycobacterium tuberculosis***

*Mtb* es una bacteria gram positiva que forma parte del conocido como el complejo de *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC). El MTBC abarca varias especies todas ellas causantes de tuberculosis en diferentes hospedadores.



**Figura 1.** La tuberculosis hoy en día. El panel **A** presenta las estimaciones de 2007 de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el número de nuevos casos de tuberculosis anual por cada 100000 habitantes (2). El panel **B** presenta el principal linaje circulante en diferentes regiones geográficas (adaptado de (5)). La relación entre los diferentes linajes viene dada por el árbol filogenético del panel **C** obtenido después del análisis de 89 genes en 108 cepas del MTBC. Se observan 6 linajes principales divididos en dos grupos referidos como MTBC “Antigua” y “Moderna” (adaptado de (1,3)).



La tuberculosis humana está causada por *Mtb* (linajes rojo, azul, púrpura y rosada en la Figura 1C) y *Mycobacterium africanum* (*Maf*) (linajes verde y marrón) mientras que otras especies han sido nombradas dependiendo del hospedador animal donde se encuentran siendo consideradas como diferentes ecotipos. Así *Mycobacterium bovis* causa la enfermedad en vacas. Otros animales que actúan como hospedadores son los ratones de campo (*M. microti*), las focas (*M. pinnipedi*) o la cabra (*M. caprae*).

A pesar de clasificarse como especies distintas no hay razones clínicas que hagan pensar que la tuberculosis provocada por *Maf* sea esencialmente distinta a la de *Mtb*. Sin embargo, la localización geográfica de *Maf* es mucho más restringida a ciertas zonas de África occidental donde causa hasta un 50% de los casos de tuberculosis. Por el contrario, *Mtb* se encuentra distribuido en todo el mundo incluyendo la mayor parte de África.

Existe un último miembro del complejo más relevante por su importancia para entender la evolución del MTBC como explicaremos más adelante que por representar un verdadero problema de salud pública. *M. Canetti* fue encontrado por primera vez en 1969 y descrito formalmente en 1997. A pesar de haber sido identificado tiempo atrás no se sabe mucho sobre el modo de vida de dicho bacilo aunque sus características en términos de evolución molecular son muy distintas al resto del complejo (4).

### 3. VARIACIÓN GENÉTICA DE MTB A ESCALA GLOBAL

El hecho de que el MTBC presente una variación genética limitada con respecto a otras bacterias ha establecido el dogma de que dicha variación no tiene relevancia a nivel clínico. Por una parte *Mtb* es un organismo genéticamente monomórfico, esto es, cuando dos secuencias elegidas al azar provenientes de dos cepas distintas son analizadas solo se encuentran como media una posición variable (SNP, de sus siglas en inglés) cada 2-3 Kb. Por otra parte la estructura poblacional de *Mtb* es altamente clonal debido a la ausencia de recombinación homóloga y no-homóloga seguramente debido al modo de vida intracelular en macrófagos (5). Sin embargo, la secuenciación de los primeros genomas reveló un papel mucho más importante de las variaciones genéticas (6).

Uno de los primeros esfuerzos para explorar la variación a escala global se llevó a cabo en 1997. Un total de 26 genes fueron secuenciados en una colección de 842 cepas de *Mtb*. A pesar del gran número de cepas solo dos SNPs no-sinónimos fueron encontrados y usados para la clasificación de los diferentes linajes de *Mtb* en tres Grupos Genéticos Principales (PGG). Se ha demostrado que dicha muestra estaba significativamente sesgada hacia ciertos linajes impidiéndose la detección de muchos SNPs filogenéticamente informativos. Sin embargo, existen aproximaciones más validas que usando SNPs y polimorfismos largos de secuencia (LSP) han sido capaces de delimitar seis linajes muy diferentes a los 3 grupos principales originalmente propuestos (véase (5) para una revisión de dichos estudios).

Debido a que *Mtb* presenta tan bajos niveles de variación la técnica aplicada a otras bacterias de secuenciar unos pocos genes de cada muestra para analizar su diversidad global no es factible de manera rutinaria (técnica

conocida como tipado basado en secuencia (SBT)). Sin embargo, con el objetivo de elucidar las relaciones entre los seis linajes principales de *Mtb* recientemente se han secuenciado 89 genes en 108 cepas seleccionadas en base a otros marcadores (3). Los siguientes apartados se centraran en explicar cuál ha sido el impacto de este estudio en nuestro entendimiento de la evolución del bacilo de la tuberculosis.

#### 4. TUBERCULOSIS “ANTIGUA”, “MODERNA” Y PROTO-TUBERCULOSIS

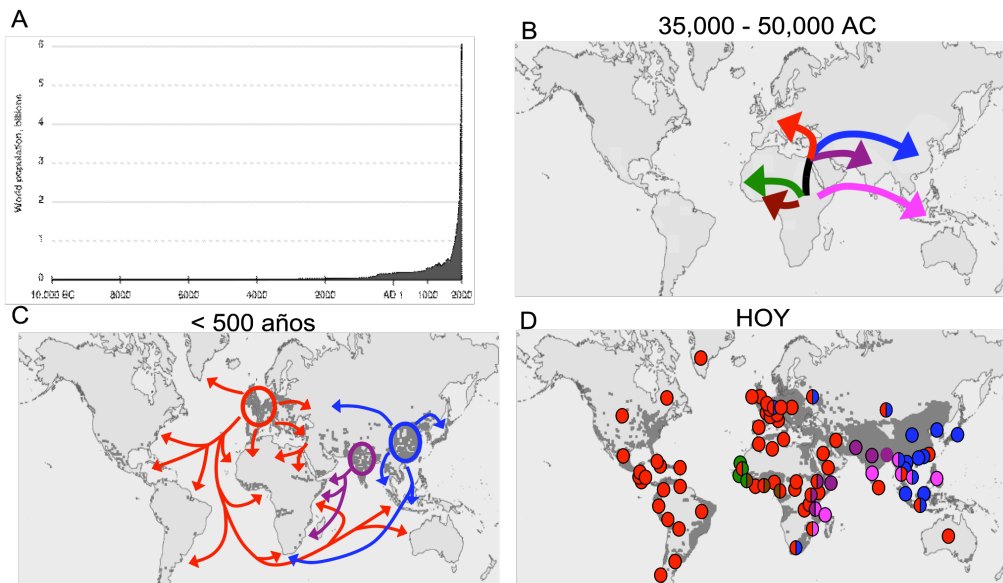
*Mtb* es un patógeno obligado de humanos, debido a ello la evolución de la bacteria ha sido un espejo de la evolución de las poblaciones humanas desde su origen en África. Todos los linajes conocidos se encuentran en el continente africano, sin embargo mientras la mayoría de ellos tienen presencia más importante en otros continentes, aquellos linajes cuyo origen sabemos que se encuentra en África aparecen sólo en dicho continente, restringidos a ciertas regiones del oeste de África (verde y marrón en Figura 1B). Estos linajes además son basales en la filogenia cuando se usa *M. canettii* para enraizarlas (Figura 1C). De hecho *M. canettii* es una prueba más del origen africano de la enfermedad puesto que es la especie genéticamente más cercana al MTBC y mayormente ha sido aislado en la región africana de Djibuti, en el conocido como cuerno de África.

Algunos autores consideran que *M. canettii* forma parte del MTBC, formando ambos grupos una nueva entidad llamada *M. prototuberculosis*. Dicho nombre quiere reflejar el hecho de que *Mtb* y *M. canettii* provienen de una misma población ancestral. Desde el punto de vista evolutivo las características de *M. canettii* son muy diferentes a las del bacilo de la tuberculosis (4). El análisis de 8 genes en 37 cepas aisladas en una misma región geográfica ha revelado una gran variación genética unida a unas altas tasas de recombinación, ambas observaciones son diametralmente opuestas a lo que se observa al analizar la variación genética en *Mtb* como se ha explicado anteriormente. Este hecho es difícilmente reconciliable con un modo de vida de patógeno obligado e intracelular como *Mtb*.

En lo que respecta al MTBC, como se ha dicho la población ancestral, la que pasó de un ambiente natural a infectar al hospedador humano, se debió encontrar en alguna parte de África. Diferentes movimientos migratorios humanos dieron lugar a los seis diferentes linajes conocidos hoy (Figura 2B). Por una parte, una primera diferenciación dio lugar a los linajes de *Mycobacterium africanum* (marrón y verde). Se sabe muy poco de estos linajes salvo que se encuentran confinados a ciertas regiones del oeste de África, aunque existe la posibilidad de que puedan hallarse en otras regiones y no hayan sido encontrados debido a las dificultades para trabajar en ese continente. Es importante mencionar que uno de esos linajes (verde en Figura 1C) es el que se encuentra más cercano evolutivamente a las cepas de especies aisladas en animales tanto domésticos como salvajes (naranja en Figura 1C).

Originalmente se pensaba que el origen de la tuberculosis humana se debió a una zoonosis de animales infectados al hospedador humano. Ahora parece claro que la diversidad genética encontrada en animales es un

subconjunto de la variación total que se encuentra en humanos. Pero la tuberculosis no-humana no solo tiene importancia por el impacto económico de la enfermedad en animales domésticos sino porque además de ella se derivó la vacuna usada todavía en nuestros días. Después de 13 años de pases Calmette y Guérin consiguieron en 1921 una cepa avirulenta que es la que se usa como vacuna “BCG” en nuestros días. Ahora sabemos que durante esos pases la cepa que dio lugar a la vacuna perdió una porción del genoma conocida como RD1 que contiene genes que están directamente relacionados con la virulencia del bacilo (7).



**Figura 2.** Escenario evolutivo para el MTBC. (A) Crecimiento de la población global en los últimos 10000 años. (B) Las cepas *Mtb* “moderna” (rojo, azul, púrpura) y *Mtb* antigua (rosa) poblaron el mundo durante la ola de migración humana “Out of Africa”. (C) En los últimos 500 años los linajes modernos se han dispersado por todo el mundo a través del comercio y las colonizaciones acoplados al gran crecimiento poblacional observado en las regiones donde esos linajes son mayoritarios. (D) Hoy en día la distribución biogeográfica de MTBC es el resultado de los escenarios B y C. En B, C y D cada punto gris representa 1 millón de personas. Adaptado de (3).

La distribución del resto de linajes del MTBC parece apoyar dos vías de migración fuera de África (“Out of Africa”) pues uno de los linajes “antiguos” (rosa en la Figura 1C y 1B) aparece a lo largo de la costa sur de la India, la costa del Océano Índico y Las Filipinas lo que sugiere una ruta de migración humana a través de Etiopía y el estrecho de Bab-el-Mandeb en el Mar Rojo. Curiosamente, este linaje antiguo aparece mayoritariamente en el sur de la India mientras que el Norte está dominado por uno de los linajes modernos. Dichos linajes modernos aparecieron como consecuencia de la población de Asia y Europa. Los linajes modernos (rojo, azul y púrpura en la Figura 1C y 1B) no solo se establecieron más recientemente sino que además han evolucionado bajo diferentes densidades de hospedador que los linajes antiguos. En aquellas zonas ocupadas por dichos linajes se han dado

históricamente grandes explosiones de crecimiento poblacional (Figura 2). Esto acoplado a que las civilizaciones de esas zonas son las que lideraron la era de los descubrimientos y del colonialismo ha hecho que dichos linajes modernos se encuentren actualmente en múltiples continentes (Figura 2D) (3).

## 5. EQUILIBRIO DE FUERZAS EVOLUTIVAS EN MTB

Se conoce como pan-genoma al conjunto de genes presentes al menos en una de las cepas de una especie bacteriana. Muchas especies presentan pan-genomas abiertos, por muchas cepas que se secuencien siempre se encuentran genes nuevos debido a altas tasas de transferencia horizontal. *Mtb* es un caso de pan-genoma cerrado. Es un tema común en aquellas bacterias que tienen un estilo de vida intracelular. El ambiente cerrado, protector en el que se desarrolla su ciclo vital impide el intercambio con otras especies. De hecho la dependencia de un hospedador impone un régimen más o menos severo de deriva genética. El tamaño poblacional efectivo de la bacteria se ve fuertemente reducido debido a que depende del tamaño poblacional del hospedador. En este tipo de situaciones muchos genes dejan de estar bajo una fuerte presión selectiva lo que lleva a su inactivación y posterior pérdida a largo plazo. El hecho de que no se haya detectado recombinación y de que los tamaños poblacionales sean pequeños hace que los eventos de delección no se puedan recuperar y por tanto se fijen en la población descendiente, de hecho en *Mtb* son usados como un marcador filogenético. El genoma de *Mtb* presenta rastros de este proceso de evolución reductiva. La pérdida de algunas de estas regiones genómicas puede tener consecuencias funcionales como se ha mencionado antes en el caso de atenuación de la vacuna BCG.

Esta misma evolución bajo condiciones de pequeños tamaños poblacionales condiciona las características genético poblacionales de *Mtb*. Como hemos visto la recombinación está ausente en *Mtb* siendo su variación genética el resultado de un balance entre selección y deriva. Una manera de inferir la acción y fuerza de la selección es usar el ratio dN/dS que relaciona las tasas de sustitución no-sinónima y la sinónima. La utilidad de dicho valor es que da una idea de la eficacia de la selección a la hora de eliminar sustituciones no-sinónimas puesto que la mayoría de ellas son desventajosas en términos de eficacia.

El análisis de 89 genes en 108 cepas de MTBC anteriormente mencionado reveló 488 posiciones variables (1 cada 1.3 Kb.), 370 si excluimos el grupo externo *M. canettii*. De dichos cambios alrededor de 2/3 son no-sinónimos y el dN/dS promedio del MTBC es de 0.57. Este valor es extraordinariamente alto (por ejemplo, en *Escherichia coli* es de alrededor de 0.09) e indica una fuerte presencia de la deriva genética. En otras palabras, el pequeño tamaño poblacional de *Mtb* hace que las sustituciones no-sinónimas se fijen a una tasa más alta de la normal hasta cierto punto independientemente del efecto en la eficacia que tengan.

Por tanto, el análisis de la variación genética en *Mtb* revela que la principal fuerza evolutiva es la deriva genética y no la selección natural y debido a ello muchos cambios desventajosos son fijados en la población lo que lógicamente lleva a unas importantes consecuencias funcionales. Con ello no

se descarta la acción de la selección natural pues existen evidencias que indican adaptación de los diferentes linajes a poblaciones humanas de diferente origen étnico. Por otra parte la selección purificadora se encuentra también presente eliminando cambios con un alto coste de eficacia y manteniendo la funcionalidad de genes esenciales.

Pero si *Mtb* tiene una distribución global e infecta a un tercio de la población mundial, ¿cuáles son las causas de la deriva genética?. Diferentes fenómenos de estocasticidad poblacional han llevado a esta predominancia de la deriva genética. La mayoría de ellos son cuellos de botella ocurridos a dos niveles de la evolución del bacilo. Por una parte, el establecimiento de la bacteria como patógeno intracelular de macrófagos así como las sucesivas migraciones humanas que poblaron el globo han contribuido a disminuir la diversidad genética global de la bacteria. Por otra parte, los cuellos de botella durante la transmisión (una sola bacteria puede establecer una nueva infección), lo hacen a escala epidemiológica. A esto hay que unir fenómenos de subdivisión tanto geográfica como en el hospedador.

## 6. SECUENCIACIÓN DE PRÓXIMA GENERACIÓN EN MTB

El primer genoma secuenciado de *Mtb* fue el de la cepa H37Rv (6). Sin embargo, al igual que en las filogenias ha habido un fuerte sesgo hacia la secuenciación de otros genomas del mismo linaje que H37Rv (rojo en la figura 1C). Con la intención de corregir esto, nuestro grupo en el NIMR tiene pensado obtener secuencias genómicas de cepas pertenecientes a todos los linajes conocidos. Para ello se hará uso principalmente de las nuevas tecnologías de secuenciación. El hecho de que *Mtb* evolucione básicamente por mutación y pérdida génica lo convierten en un organismo perfecto para secuenciar con las nuevas tecnologías de secuenciación masiva como Illumina/Solexa, SOLiD o 454. Con estas tecnologías se pueden generar varios millones de lecturas por genoma y por tanto obtener coberturas muy altas que permiten predecir SNPs con seguridad. Además el reducido coste de estas tecnologías las convertirá en técnicas prácticamente rutinarias en el futuro.

## 7. CONCLUSIONES

El resultado de la infección por *Mtb* es altamente variable. Mientras que un 90% de las personas afectadas permanecerán latentes y asintomáticas, el 10% restante progresará hacia la manifestación activa de la enfermedad. Además, un 75% de dichos casos manifestaran enfermedad pulmonar, pero un 25% de los casos serán extrapulmonares pudiendo diseminar a diferentes órganos incluyendo el sistema nervioso central en el caso de la tuberculosis meningítica. La vacuna desarrollada por Calmette-Guerin ha demostrado ser mayormente inefectiva y sólo protectora contra la tuberculosis meningítica en menores. A pesar de la gran cantidad de dinero gastado en el estudio de los mecanismos moleculares de infección por *Mtb* las causas de dicha variación son en su mayor parte desconocidas lo que sugiere un papel para las

diferencias genéticas entre cepas y entre hospedadores así como factores socio-económicos y demográficos. La Figura 1C provee de una hipótesis de trabajo para empezar a explorar cuál es la contribución de la variación en la bacteria a la variación fenotípica encontrada en la manifestación de la enfermedad.

Desde el punto de vista de la bacteria podemos adelantar que las nuevas tecnologías de secuenciación van a producir una explosión de genomas *de Mtb* y muchos otros patógenos humanos en los próximos años. El efecto de ello se va a reflejar en diferentes campos de estudio de la enfermedad sin embargo, es la genómica de poblaciones y evolución uno de los campos más favorecidos puesto que permitirá estudiar la evolución de la bacteria tanto a largo plazo, como a corto plazo lo que nos permitirá conocer los procesos evolutivos y epidemiológicos a una escala y detalle difícilmente imaginables hace unos pocos años.

*“From so simple a beginning endless forms most beautiful and most wonderful have been, and are being, evolved.”* La última frase del *El Origen de las Especies* recoge uno de las principales, si no el principal mensaje del libro, que los organismos cambian, evolucionan por selección natural (aunque ahora sabemos que existen otros mecanismos) y que dicha evolución ha generado la diversidad que conocemos hoy en día. *Mtb* ha evolucionado desde un ancestro que por primera vez provocó la enfermedad a la diversidad en linajes que conocemos hoy en día. Desde el punto de vista antropocéntrico dichas formas interminables de *Mtb* no son ni bellas ni maravillosas; pero no se puede dejar de admirar como un sistema de interacción tan complejo como el que mantiene el bacilo con el hospedador humano ha podido generarse desde un inicio tan simple.

## 8. REFERENCIAS

1. **Comas, I. Gagneux, S.** The past and future of tuberculosis research. *PLoS Pathog.* 5, e1000600.
2. **World Health Organization.** Global tuberculosis control: Epidemiology, strategy, financing. Summary. 2009. Geneva. Switzerland.
3. **Hershberg, R., et al., 2008.** High functional diversity in *Mycobacterium tuberculosis* driven by genetic drift and human demography. *PLoS Biology* 6, e311.
4. **Gutierrez, M. C., et al., 2005.** Ancient origin and gene mosaicism of the progenitor of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathog.* 1, e5.
5. **Gagneux, S., Small, P. M., 2007.** Global phylogeography of *Mycobacterium tuberculosis* and implications for tuberculosis product development. *Lancet Infect.Dis.* 7, 328-337.
6. **Cole, S. T., et al., 1998.** Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature* 393, 537-544.
7. **Brosch, R., et al., 2007.** Genome plasticity of BCG and impact on vaccine efficacy. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104, 5596-5601.

## 9. LECTURAS RECOMENDADAS

- **Achtman, M., 2008.** Evolution, population structure, and phylogeography of genetically monomorphic bacterial pathogens. *Annual Review of Microbiology* 62, 53-70.
- **Medini, D., et al., 2008.** Microbiology in the post-genomic era. *Nat Rev Micro* 6, 419-430.
- **Young, D., Stark, J., Kirschner, D., 2008.** Systems biology of persistent infection: tuberculosis as a case study. *Nat Rev Micro* 6, 520-528.

---

## 6.3

### Simbiosis en Clave Darwiniana

Andrés Moya<sup>1,2</sup>, Juli Peretó<sup>1</sup> y Amparo Latorre<sup>1,2</sup>

*<sup>1</sup>Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva, Universitat de València y CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBEResp); <sup>2</sup>Area de Genómica y Salud del Centro Superior de Investigación en Salud Pública (CSISP), València.*

#### RESUMEN

La simbiosis es un fenómeno ampliamente distribuido en la biosfera y ha estado y está presente a lo largo de la historia evolutiva. Aquí examinamos el papel que desempeña la simbiosis en la evolución de los insectos y en qué medida estos adquieren nuevas capacidades metabólicas como consecuencia de su asociación con bacterias endosimbiontes, que a su vez se modifican profundamente desde el punto de vista genético y metabólico, pudiendo llegar a establecer consorcios microbianos en el hospedador.

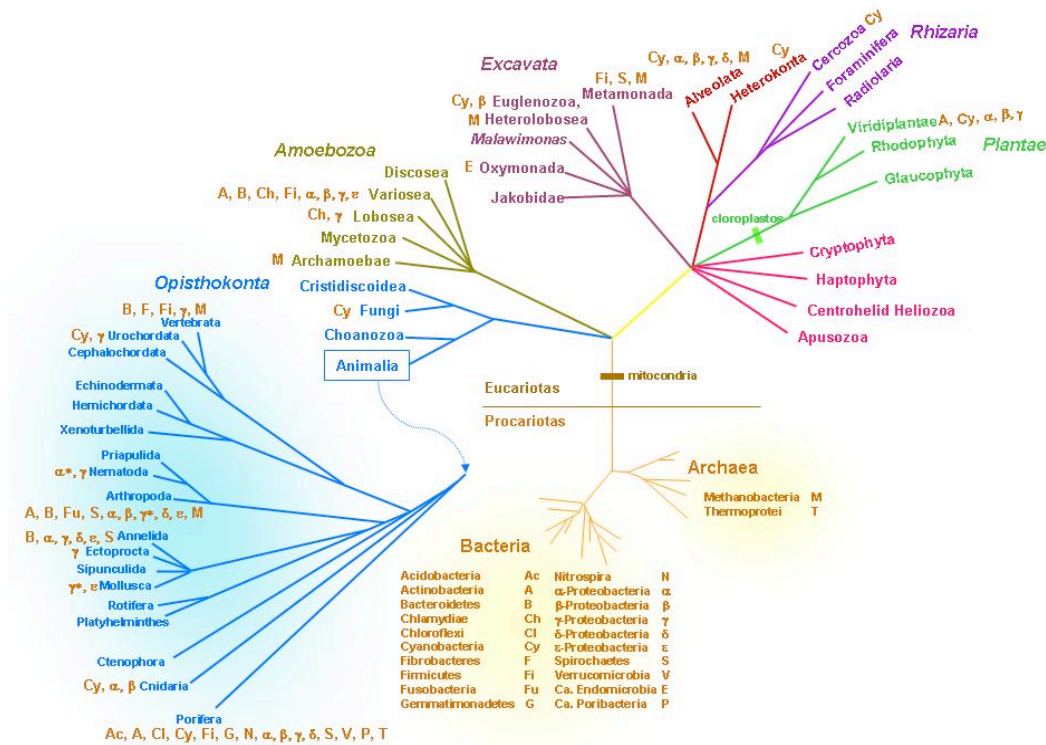
#### 1. INTRODUCCIÓN

La simbiosis, coexistencia física estrecha entre dos o más organismos, es un fenómeno ampliamente establecido en la naturaleza (1). Esta afirmación no es una trivialidad, porque hasta hace poco no éramos conscientes de su magnitud, especialmente aquellas que se establecen entre microorganismos, normalmente procariotas, o entre procariotas y eucariotas uni- o pluricelulares. Hemos tenido que esperar a la disponibilidad de tecnologías que nos permitieran el reconocimiento genético de los organismos implicados en la simbiosis, probablemente no cultivables, para que empezáramos a apreciar el alcance del fenómeno. Allá donde hemos dirigido nuestro interés por detectar simbiosis hemos acabado teniendo éxito. La observamos en muchos de los taxones más inclusivos del árbol de la vida (2), y conviene remarcar que los eucariotas, uni- o pluricelulares, presentan simbiosis con procariotas, tanto bacterias como arqueas (Figura 1).

La genómica aplicada a la verificación, confirmación y estudio de las asociaciones simbióticas, pone de manifiesto que la simbiogénesis –o el origen de estructuras, metabolismos o comportamientos como resultado de una simbiosis hereditaria a largo plazo– es un fenómeno de mucha más enjundia y trascendencia para la evolución de lo que se sospechaba hace apenas unos años. Mas allá de estar implicada en el origen de la célula eucariótica, la simbiogénesis ha continuado teniendo un papel relevante en la evolución de la vida. Las interacciones mutualistas subyacen en la diversificación ecológica y evolutiva de muchos grupos taxonómicos (véase Figura 1). En particular, los



simbiontes procariotas intracelulares (o endosimbiontes) traen de su vida libre previa un amplio rango de capacidades metabólicas. Algunas de éstas son específicamente utilizadas por el hospedador, como en el caso de los insectos chupadores de floema, de xilema, de sangre, e incluso omnívoros, que les permiten ocupar nuevos nichos ecológicos. Pero también la patogenicidad. La patogénesis se ha propuesto como una fuerza motriz importante para la evolución de la inmunidad en eucariotas complejos y podríamos considerarla, en el contexto de la simbiosis, como un proceso evolutivo hacia la explotación especializada de los hospedadores invadidos. Como nos muestra la Figura 1, en buena medida, las asociaciones simbióticas son ubicuas.



**Figura 1. La simbiosis en el árbol de la vida.** Como puede observarse la simbiosis está ampliamente distribuida en la biosfera. Se hace referencia particular a la detección de simbiosis entre los hospedadores eucariotas y los simbiontes procariotas, bien bacterias o arqueas. La genómica ha tenido un gran impacto en la detección de la simbiosis, en la medida en que la presencia de bacterias o arqueas en asociación con sus hospedadores eucariotas solamente se puede poner de manifiesto por su detección genética, al ser imposible muchas veces el aislamiento y cultivo de las mismas.

¿Qué papel desempeña, pues, la simbiosis en la evolución? ¿En qué medida ha contribuido a la generación de novedades evolutivas y al éxito y diversificación de las especies? Todavía es prematuro afirmar que existe una correlación entre el éxito evolutivo de determinados grupos de organismos y la simbiosis, pero sorprende que, por ejemplo, los insectos, el grupo más numeroso de especies actuales, presente un elevado número de simbiosis con procariotas. En cualquier caso: ¿son adaptativas las simbiosis?, ¿disponemos

de pruebas efectivas de tal afirmación? La adaptación es un producto genuino de la selección natural y para responder a la pregunta anterior deberíamos de poder demostrar las ventajas evidentes que los organismos en simbiosis adquieren con respecto a la de aquellos que no la tienen. La respuesta es compleja porque son varias las formas en cómo se puede poner de manifiesto.

Atendiendo al grado de interdependencia para la supervivencia entre los miembros de la asociación, existen simbiosis obligadas y simbiosis facultativas. Muchos simbioses han alcanzado una etapa de completa interdependencia (mutualismo obligado), o completa dependencia de un miembro de la asociación respecto del otro (parasitismo obligado). Finalmente, un factor clave en la evolución de las simbiosis es el modo en el que los simbioses procariotas se transmiten de una generación a la siguiente, pudiendo ser la transmisión vertical u horizontal.

## 2. OBJETIVOS

Mediante el examen de algunos ejemplos de simbiosis intracelulares en insectos, pondremos de manifiesto las transformaciones que han experimentado los organismos implicados en la misma y la ventaja que para ellos ha comportado el adquirirla. Tales transformaciones no son inmediatas, requieren tiempo, son transformaciones que pueden apreciarse a escala filogenética.

## 3. RESULTADOS

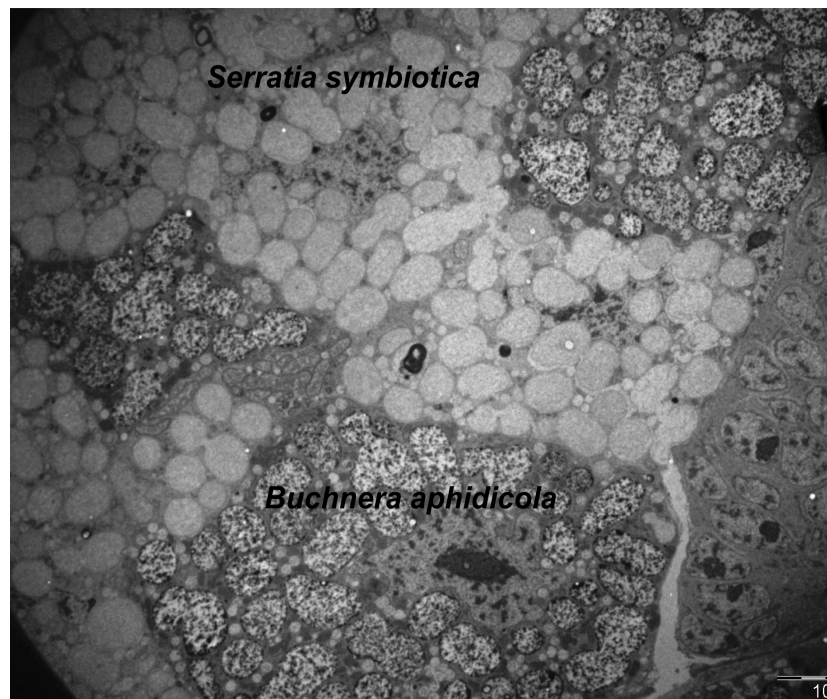
Desde el siglo XIX se conoce la asociación entre bacterias endosimbiontes e insectos (3). Una gran cantidad de estudios genéticos, bioquímicos y fisiológicos ha servido para poner de manifiesto que la relación entre el hospedador eucariota y la bacteria(s) tiene una base metabólica. En buen número de ocasiones la bacteria suministra los nutrientes esenciales que el insecto no obtiene de su dieta habitual. Así, los pulgones, los psílidos, la mosca blanca o las cochinillas, por citar algunos ejemplos, se alimentan del floema de las plantas que es rico en carbohidratos, pero pobre en compuestos nitrogenados (4). Estos insectos han establecido relaciones de simbiosis con distintas bacterias que, en todos los casos, suministran aminoácidos esenciales y vitaminas a la dieta del huésped. Otro ejemplo es el de la mosca tse-tse, que se alimenta de la sangre de vertebrados, pobre en cofactores y vitaminas, que son aportados por su correspondiente endosimbionte (5). Un ejemplo intrigante es el de aquellos insectos omnívoros que, aparentemente, pueden obtener nutrientes de todo tipo de sus respectivas dietas. La secuenciación del genoma de la bacteria endosimbionte de uno de estos insectos, las hormigas carpintero, mostró su importante papel en el reciclado del nitrógeno (6).

Una de las características comunes a todas estas bacterias endosimbiontes es la minimización de su genoma. De hecho, pierden gran número de genes porque el ambiente intracelular donde viven los hace perfectamente prescindibles. Otra cuestión es, no obstante, cómo tiene lugar el proceso de minimización genómica y el papel relativo que fuerzas como la

selección, la mutación o la deriva genética han tenido en la simbiogénesis de estas asociaciones. Por su lado, el hospedador ha desarrollado órganos (bacteriomas) y células específicas para albergar a las bacterias (bacteriocitos), así como modificaciones genéticas específicas para controlar o regular el crecimiento de la población bacteriana, y asegurar la transmisión por vía materna de las mismas a la descendencia. Sorprende el paralelismo evolutivo entre la transmisión de mitocondrias y cloroplastos con la transmisión de bacterias endosimbiontes (Figura 1).

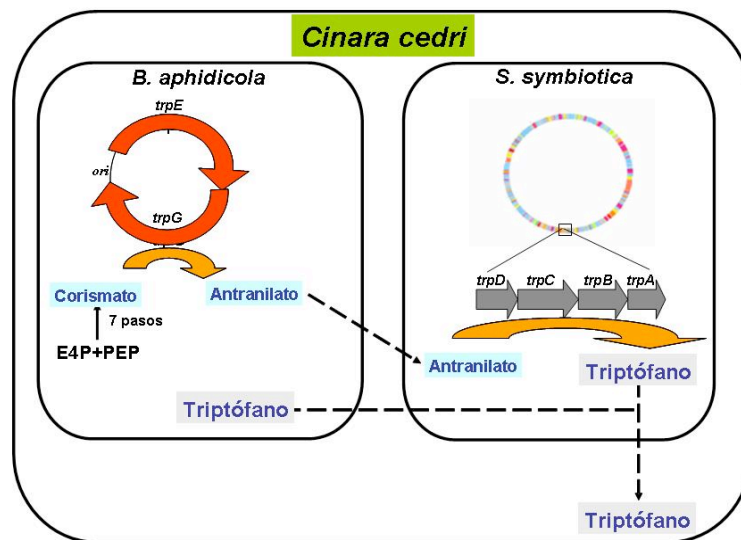
La genómica y metagenómica actuales están ayudando a determinar con gran detalle la naturaleza de las relaciones sintróficas, es decir, la emergencia de complejidad por complementación metabólica, entre los organismos implicados en el consorcio simbiótico. Los estudios bioquímicos y genéticos muestran que los pulgones, como se comentaba anteriormente, siguen una dieta monótona en savia vegetal, rica en glúcidos, entre otras cosas porque las bacterias la complementan con la síntesis de aminoácidos esenciales, como el triptófano y la leucina, así como vitaminas. El bricolaje que se ha establecido entre la red metabólica de las células del pulgón y su endosimbionte primario, *Buchnera aphidicola*, está en la base del éxito evolutivo de estos insectos.

Pero la noción de consorcio simbiótico va más allá de la asociación entre el hospedador y un único simbiote. Al respecto cabe mencionar el caso del pulgón del cedro, *Cinara cedri* (7). Este pulgón alberga en su bacterioma no solamente *B. aphidicola*, sino también *Serratia symbiotica*, un endosimbionte secundario que se ha establecido con posterioridad (Figura 2).



**Figura 2. Microscopía electrónica de una sección del bacterioma del pulgón *Cinara cedri*. Se pueden observar distintos bacteriocitos albergando a *Buchnera aphidicola* y a *Serratia symbiotica*.**

La secuenciación del genoma de *B. aphidicola* ha mostrado que ésta contiene los dos genes que codifican las subunidades del enzima que cataliza la síntesis de antranilato, primer paso de la biosíntesis del triptófano. Pero: ¿dónde están los genes necesarios para completar la ruta? La respuesta la dio el genoma de *S. symbiotica*, que contiene el resto de genes necesarios para completar la ruta metabólica. *B. aphidicola* sintetiza antranilato, que es utilizado por *S. symbiotica* para sintetizar triptófano, que resulta necesario no sólo para ella sino también para *B. aphidicola* y el pulgón (Figura 3). Es un nuevo ejemplo de complementación metabólica (8), en este caso entre las dos bacterias endosimbiontes. Los clásicos experimentos en genética bioquímica de G. Beadle y E. Tatum sobre la biosíntesis del triptófano se vienen haciendo de forma natural hace unos cuantos millones de años.



**Figura 3. Complementación metabólica entre los endosimbiontes del pulgón *Cinara cedri*.** *Buchnera aphidicola* y *Serratia symbiotica* han establecido un consorcio bacteriano para mantener su papel en la simbiosis suministrando aminoácidos esenciales al hospedador. En la figura se muestra cómo *B. aphidicola* codifica para la antranilato sintasa. El antranilato producido debe entrar en *S. symbiotica* y servir de precursor en la ruta que completa la biosíntesis del triptófano.

El genoma de las bacterias endosimbiontes presenta un incremento notable en su composición de AT respecto de sus parientes de vida libre. La pérdida de enzimas de reparación podría contribuir al sesgo en AT de los genomas bacterianos reducidos. De hecho, cambios químicos espontáneos, como son la desaminación de la citosina y la oxidación de la guanina conducen a mutaciones en las cuales, en ausencia de reparación, el par GC es reemplazado por el par AT. El efecto que tal sesgo tiene sobre la composición nucleotídica del genoma que va quedando es de tal naturaleza que los genes quedan afectados en su secuencia primaria y, previsiblemente en forma sustancial, las funciones de las proteínas correspondientes. En el caso particular de *B. aphidicola*, se conocía la existencia de una proteína, simbionina, que se sintetizaba de forma sistemática y alcanzaba proporciones elevadas de

la fracción proteica del propio pulgón. La simbionina es la chaperona GroEL, con una función importante en el endosimbionte: interactúa con otras muchas proteínas de *B. aphidicola* a nivel post-traducciona, ayudando a un adecuado plegamiento de las mismas para, en última instancia, permitir su correcto funcionamiento (9). Los estudios de sustitución nucleotídica llevados a cabo con secuencias de GroEL en *Buchnera* y otros endosimbiontes ponen de manifiesto claramente cómo este gen está sometido a la acción de la selección positiva. Aunque la deriva genética y la selección purificadora son fuerzas muy presentes en la dinámica de los genomas de bacterias endosimbiontes, lo cierto es que ese no es el caso de GroEL. GroEL representa una excelente solución evolutiva, no necesariamente la única, para resolver el problema que supone la degradación genómica por la presión hacia AT, al permitir la recuperación funcional de muchos otros genes del genoma de los endosimbiontes. Un caso más de bricolaje evolutivo donde la selección natural resuelve, no necesariamente de la mejor manera, la adaptación de un microorganismo a la vida intracelular en su hospedador.

#### 4. CONCLUSIONES

Hoy no tenemos ya duda sobre el origen simbiótico de la célula eucariota. Mitocondrias y otros orgánulos que han evolucionado por adaptación a la anaerobiosis, como los hidrogenosomas de algunos protistas y hongos o los mitosomas de *Giardia*, tienen un origen bacteriano. Lo mismo puede sostenerse sobre el origen bacteriano de los cloroplastos de plantas y algas verdes y rojas. Y no se puede descartar la emergencia de nuevos ejemplos, a medida que continúe la exploración de la biosfera, como es el caso de los enigmáticos endosimbiontes fotosintéticos de la ameba *Paulinella chromatophora* (10).

¿Cuánta complejidad eucariótica tiene su origen en la simbiogénesis, el proceso por el que se han originado nuevas rutas metabólicas, nuevas estructuras, nuevos comportamientos a partir de la simbiosis? Como queda patente en la Figura 1 hay simbiosis ampliamente distribuidas en la biosfera y, atendiendo a la relevancia que ha tenido en el origen de la célula eucariota, no podemos descartar la que pueda tener en la evolución misma de los eucariotas. Ciertamente el fenómeno de simbiosis, el que inicia el proceso de simbiogénesis, es un suceso más o menos fortuito por el que dos o más organismos se vinculan. El que queden vinculados genética, bioquímica y metabólicamente va a depender del éxito evolutivo del proceso, especialmente cuando la simbiosis es mutualista y existen ventajas para ambos miembros de la asociación. Es cierto que la simbiosis comporta, en un primer e importante paso, la capacidad putativa de que el hospedador eucariota adquiera nuevas funciones, pero en modo alguno esto entra en contradicción con el principio de la selección natural. De hecho, el éxito diferencial del proceso de simbiogénesis con respecto a la situación donde los organismos implicados no han entrado en simbiosis, bien puede ser producto de la selección natural. Es más, teniendo en cuenta la cantidad de transformaciones que se llevan a cabo en los miembros del consorcio simbiótico a lo largo del tiempo evolutivo, es poco probable que la selección natural no haya tenido un papel relevante en la simbiogénesis. Cuestión aparte es si todas las características de los eucariotas proceden por

simbiosis, cosa más que dudosa, pero aún en el caso de ser cierto, el proceso subsecuente de establecimiento de ellas no excluye que puedan evolucionar por selección natural. Es importante, dentro de la moderna teoría de la evolución, integrar la simbiosis. Quedan lejos los intentos frustrados de la escuela botánica rusa y otros autores olvidados por la historia oficial de la biología de otorgar a la simbiogénesis un papel clave en el proceso evolutivo (véase a este respecto en lecturas recomendadas la excelente revisión histórica de Khakhina 1992). La variación genética y/o la variación genómica no son producto exclusivo de cambios mutacionales puntuales en los genes. La simbiosis puede contribuir generando variación y, en última instancia, novedades evolutivas relevantes, a través de la transferencia horizontal de genomas. Pero ciertamente la implantación de las mismas requiere el concurso de las fuerzas evolutivas, donde la selección natural tiene un papel importante, aunque factores aleatorios y contingencias históricas desempeñan también un papel importante.

**5. AGRADECIMIENTOS** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto BFU2006-06003 y PROMETEO 2009/092.

## 6. REFERENCIAS

1. Paracer, S. and Ahmadjian, V. **2000**. *Symbiosis. An introduction to biological associations*. Oxford University Press.
2. Moya, A. *et al.* **2008**. Learning how to live together: genomic insights into prokaryote-animal symbioses. **Nat. Rev. Genet.**, 9. Pp: 218-229.
3. Buchner, P. 1965. *Endosymbiosis of animals with plant microorganisms*. Interscience.
4. Baumann, P. **2005**. Biology bacteriocyte-associated endosymbionts of plant sap-sucking insects. **Annu. Rev. Microbiol.**, 59. Pp: 155-189.
5. Akman, L. *et al.* **2002**. Genome sequence of the endocellular obligate symbiont of tsetse flies, *Wigglesworthia glossinidia*. **Nat. Genet.**, 32. Pp: 402-407.
6. Gil, R. *et al.* **2003**. The genome sequence of *Blochmannia floridanus*: Comparative analysis of reduced genomes. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 100. Pp: 9388-9393.
7. Perez-Brocal, V. *et al.* **2006**. A small microbial genome: The end of a long symbiotic relationship? **Science**, 314. Pp: 312-313.
8. Gosalbes, M.J. *et al.* **2008**. The striking case of tryptophan provision in the cedar aphid *Cinara cedri*. **J. Bacteriol.**, 190. Pp: 6026-6029.
9. Fares M.A. *et al.* **2002**. Endosymbiotic bacteria: groEL buffers against deleterious mutations. **Nature**, 417. Pp: 398.
10. Keeling, P.J., Archibald, J.M. **2008** Organelle evolution: what's in a name? **Curr. Biol.**, 18. Pp: R345-247.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Bourtzis, K. and Millar, T.A. **2006**. *Insect Symbiosis*. Vol. 2. Taylor and Francis.
- Khakhina, L.N. **1992**. *Concepts of Symbiogenesis*. Editado por L. Margulis y M. McMenamin. Yale University Press.
- Margulis, L. **1993**. *Symbiosis in Cell Evolution*. Freeman.

---

# 6.4

## Domesticación en Animales: Genómica y Evolución

Miguel Perez-Enciso

*Institut Català de Recerca i Estudis Avançats (ICREA). Centre de Recerca en Agrogenòmica y Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona 08193 Bellaterra.*

### RESUMEN

La domesticación no es sino evolución, aunque a una velocidad elevada producida por la selección artificial y la adaptación de la especie al nuevo ambiente en contacto con el hombre. Aunque algunos estudios tienden a enfocar la domesticación como una relación de aprovechamiento, de parasitismo, la domesticación es sobre todo simbiosis y ha producido un beneficio mutuo en el hombre y en la especie doméstica. El proceso de domesticación ha sido, en casi todas las especies estudiadas, mucho más complejo de lo que se pensaba, no sólo ha ocurrido en múltiples ocasiones y lugares, también ha sido un proceso gradual y a menudo de ida y vuelta. Como consecuencia de ello, no siempre es fácil interpretar los resultados experimentales sobre variabilidad genética producidos a gran escala por las nuevas técnicas genómicas. Si algo parece cierto es que la domesticación no ha hecho desaparecer la variación genética, a menudo las razas domésticas son mucho más variables de lo que podíamos sospechar.

### 1. INTRODUCCIÓN

Charles Darwin fue un agudo observador, y no se le escapó la similitud que hay entre la selección artificial, esto es, la ejercida por el hombre para modificar las razas de animales o plantas domésticos, y la selección natural, responsable de la adaptación y evolución de las especies. Si bien hoy en día conocemos que la selección no es la única fuerza evolutiva importante, Darwin supo ver que los mecanismos responsables de la adaptación al medio de las especies naturales son los mismos que actúan cuando el hombre manipula, mediante una cría selectiva, las especies domésticas para su propio beneficio. La mayoría de las observaciones de Darwin a este respecto están recogidas en su obra *La variación de animales y plantas bajo la domesticación*, publicada en 1868. Aunque esta obra fue publicada nueve años después del *Origen*, el interés de Darwin por la cría de animales y plantas domésticos se remonta muchos años atrás. Ya en 1839 había enviado un cuestionario a los ganaderos para que le informasen sobre aspectos relacionados con el mejoramiento y la creación de nuevas razas. Se interesó particularmente por las distintas razas de palomas. A menudo, una determinada raza o línea animal desaparece pero, Darwin se pregunta, ¿cómo surgió esta raza? Darwin era bien consciente de que esta

pregunta era la verdaderamente importante para entender el origen de las especies.

La domesticación es un fenómeno histórico estudiado tradicionalmente por arqueozoólogos a través del análisis de los numerosos yacimientos arqueológicos con asentamientos humanos. Pero, al ser también un proceso que actuó sobre seres vivos, dejó una huella indeleble en el genoma de las poblaciones domésticas que subsisten hasta nuestros días. Por tanto, la domesticación se puede estudiar de forma complementaria analizando la variabilidad genómica de las razas domésticas modernas. Otra fuente de información es el ADN antiguo, esto es, el ADN degradado presente en minúsculas proporciones en restos antiguos, de hasta varios miles de años. Ya que la domesticación es un fenómeno reciente en términos evolutivos (unos pocos miles de años) todavía se puede extraer ADN de los restos antiguos y analizar mediante técnicas especiales. Estas técnicas, por ejemplo, han permitido determinar que cerdos domesticados en el próximo oriente influyeron genéticamente en las poblaciones domésticas europeas, esto es, fueron transportados por los colonizadores en sus migraciones desde oriente próximo.

En este capítulo nos centraremos en los aspectos genéticos de la domesticación y no tanto en los arqueológicos. Lógicamente, ambos enfoques son complementarios y útiles, es sólo la ignorancia del autor lo que hace que esta discusión sea más restringida de lo deseable.

## 2. DOMESTÍCAME

El principito, en el famoso libro de Antoine de Saint Exupéry le dice al zorro: *'Ven a jugar conmigo'*. *'No puedo'* replica éste, *'No estoy domesticado'*. *El principito está desconcertado: '¿Qué significa domesticar?'*. *Domesticar – le responde el zorro – significa 'crear lazos', y prosigue, 'para mí no eres todavía más que un muchachito semejante a cien mil muchachitos. Y no te necesito. Y tú tampoco me necesitas. No soy para ti más que un zorro semejante a cien mil zorros. Pero, si me domesticas, tendremos necesidad el uno del otro. Serás para mí único en el mundo. Seré para ti único en el mundo'*. Además de poético, el principito nos recuerda – sin quererlo y quizá sin saberlo - algunos aspectos clave de la domesticación.

El primero es que la domesticación es una relación simbiótica y no de parasitismo, de cooperación y no de explotación. Los estudios tienden a enfocar la domesticación como un proceso de aprovechamiento por parte del hombre de determinadas especies originalmente salvajes. El hombre se ha beneficiado sin duda de la domesticación, pero también ha protegido a las especies domesticadas evitando su extinción, procurándoles un ambiente favorable, protegiéndoles de enfermedades y favoreciendo su multiplicación. Por recordar la teoría del gen egoísta de Richard Dawkins, el hombre ha facilitado la replicación de los genes de los animales y plantas domésticos. Muchos de los ancestros de los animales salvajes se han extinguido, el caballo de Przewalski antecesor del caballo o el *Bos primigenius* que dio origen al vacuno por citar varios ejemplos. El perro está en mucho menor peligro de extinción que el lobo, sin lugar a dudas. Más aún, en el caso del gato, se supone que éste se auto domesticó (3), encontró en el hábitat humano un buen entorno donde encontrar



alimento y al hombre le benefició que el gato le protegiera de determinadas plagas, como roedores por ejemplo. Es fácil pensar que en el caso del cerdo pudo ocurrir algo similar.

Hay otro aspecto más sutil en el discurso del principito, y es que sólo unos pocos de los individuos de la especie son domesticados. La domesticación necesariamente implica una reducción en el número de animales domésticos en relación al de salvajes. Este proceso se llama *cuello de botella* y tiene importantes consecuencias. La primera es una pérdida de variabilidad genética, ya que ésta es directamente proporcional al número de reproductores en una población. La segunda consecuencia es un aumento del fenómeno conocido como 'deriva genética', es decir, del azar. El azar tiene una influencia en los cambios genéticos que es mayor cuanto menor es el censo de la población. Hay dos fuerzas evolutivas principales que gobiernan el destino genético de las poblaciones: la selección y la deriva genética. La selección permite que una determinada variante genética se implante si tiene un efecto beneficioso. Por ejemplo, un gen que confiera resistencia a un parásito se extenderá en poblaciones que sufren este parásito. Pero este proceso es estocástico, puede que por azar eso no siempre ocurra. Para utilizar un símil popular, la evolución es como un partido de fútbol: se espera que gane el mejor equipo pero, debido a circunstancias ajenas a la calidad de los equipos (p.e., que los partidos no duran indefinidamente, el árbitro, o lesiones de los jugadores), esto no siempre ocurre. Igual que en el fútbol, la salsa de la evolución está en la deriva genética, si siempre ganara el mejor equipo, el fútbol no sería ni la mitad de popular de lo que es. A la larga, sí es verdad, suele ganar el mejor. Es por ello que normalmente las poblaciones están adaptadas al medio. Si volvemos al tema de la domesticación, las vacas lecheras producen mucha más leche que las vacas de carne porque han sido sometidas a un intenso proceso de selección durante mucho tiempo para que así sea.

Quizá el experimento más interesante sobre domesticación es el que realizó el investigador soviético Dmitry Belyaev en plena guerra fría. Belyaev seleccionó una población de zorro plateado *Vulpes vulpes* (especie no domesticada) para disminuir su agresividad. La hipótesis de Belyaev era que los principales cambios que ocurren durante la domesticación están relacionados con el comportamiento, con la docilidad concretamente. El resto de diferencias entre animales salvajes y domésticos ocurrirían como consecuencia indirecta de los cambios en comportamiento. Belyaev comenzó su experimento en 1959 y lo continuó hasta su muerte en 1985, cuando su discípula Trut tomó el testigo. Comenzando con 30 machos y 100 hembras, cada generación se seleccionó el 5% de los machos y el 20% de las hembras más mansos, aproximadamente. Al final de más de 40 generaciones de selección, se obtuvieron unos animales absolutamente distintos de los salvajes: dóciles, buscaban el contacto humano, lamiendo las manos de sus cuidadores. Cuando alguno de los animales escapaba de las jaulas, siempre regresaba, seguramente incapaz de sobrevivir en el medio natural. Además, también se observaron otras características como orejas gachas, cola corta, pelo rizado o cambios de color en el pelo, además de un ciclo reproductivo menos estacional. Todos estos cambios se han observado en muchas otras especies domésticas. Desde un punto de vista fisiológico, la mayoría de estos cambios se pueden explicar por un proceso de *neotenia*, es decir, por un proceso mediante el cual

los adultos conservan rasgos juveniles. Esta observación es muy relevante, querría decir que la domesticación ha producido cambios principalmente en los genes que afectan al desarrollo del animal. El lector interesado en más detalles sobre este fascinante experimento puede consultar el artículo de Lyudmila Trut en *American Scientist* de 1999 (<http://reactor-core.org/taming-foxes.html>).

### 3. DE LA VACA A LA ABEJA, PASANDO POR LA OVEJA

Pero, independientemente de los cambios fisiológicos y de comportamiento en las especies domésticas, nos interesa reconstruir la historia de la domesticación a partir de la información genética. Ésta área de investigación es relativamente reciente y nos queda mucho trabajo por hacer todavía, pero ya empezamos a tener una idea relativamente coherente de los diversos procesos de domesticación.

Una de las especies que ha sido mejor estudiada es la bovina. El ganado bovino actual consta de dos subespecies *Bos taurus taurus* (toro) y *B. taurus indicus* (cebú). Ambas subespecies se originarían a partir del *Bos primigenius* (2). El cebú se localiza principalmente en el subcontinente indio y este de África, mientras que las razas taurinas se encuentran en toda Europa y norte y oeste de África. En América encontramos cebú en las zonas tropicales (centro y norte de Brasil, centroamérica) y taurinas en las templadas (centro norte de Estados Unidos, sur de Brasil y Argentina). Además, hay multitud de razas híbridas cruce de cebú y taurino que se explotan en Brasil y la zona del golfo de Estados Unidos. Aunque inicialmente se pensaba que hubo un solo proceso de domesticación que daría origen a todas las razas de vacuno actuales, tanto cebuinas como taurinas, los primeros estudios que se hicieron de ADN mitocondrial mostraron que las dos subespecies se habían separado hace varios cientos de miles de años, es decir, mucho antes que cualquier domesticación. Por tanto, las dos subespecies se domesticaron de forma independiente. Diversos datos arqueológicos indican que el cebú se domesticó en la región de Baluchistán (hoy Pakistán) hace unos 10,000 años, introduciéndose posteriormente en la India y, más recientemente - hace 3000 años aproximadamente -, en África. En cambio, el taurino se domesticó inicialmente en Oriente Próximo, expandiéndose hacia Europa y también África. Pero este cuadro se hace cada vez más complejo a medida que se amplía con más datos. Por ejemplo, el cebú africano presenta predominantemente ADN mitocondrial taurino, cuando se pensaba que su origen era la India. Sin embargo, el cromosoma Y (presente sólo en machos) es de origen cebuino. Puesto que el ADN mitocondrial se hereda por vía materna exclusivamente, esto indicaría que toros cebuinos se cruzarían repetidamente con vacas africanas con un origen taurino.

En Europa, la evidencia inicial sugería que hubo dos migraciones de ganado vacuno taurino desde el Oriente Próximo. Una ruta siguió hacia el norte de Europa a través de los Balcanes, llamada ruta del Danubio. La otra ruta tomó el Mediterráneo como eje de expansión, desde Grecia hasta España, pero también por el Norte de África. Según esta hipótesis inicial, el único proceso de domesticación se produjo en Oriente Próximo. Sin embargo, estudios más recientes utilizando ADN antiguo, han demostrado que sí hubo diversas

domesticaciones locales en Europa y que los uros locales (*B. primigenius*) se cruzaron con el ganado proveniente del Oriente Próximo. Más aún, también se sabe que el ganado norte africano influyó genéticamente en el de la Península Ibérica. Asimismo, también hubo otra introgersión de cebuino en el vacuno del Próximo Oriente.

No todos los animales domésticos son vertebrados superiores. La abeja, *Apis mellifera*, también fue domesticada hace al menos 7000 años. Este insecto es útil para la polinización de las plantas cultivadas pero también para obtener miel y cera, productos ambos muy importantes desde la antigüedad. El género *Apis* comprende 10 especies, de las que nueve viven sólo en Asia. Por ello se pensaba que la abeja común se había domesticado originalmente en Asia y que, desde allí, se había extendido hacia Europa y al resto del mundo, esto es, África y América. Sin embargo, la secuenciación del genoma, publicado en octubre 2006 en la revista *Science*, y la identificación de polimorfismos permitió determinar que la abeja se originó en África y fue allí domesticada (8). Desde África hubo al menos dos migraciones a Europa, una en el oeste (Península Ibérica, Francia) y otra más al este y norte de Europa. Curiosamente, ambas estirpes europeas son de las más distintas que hay dentro de la especie. Desde Europa, se cree que la especie se introdujo en Asia en una o más oleadas migratorias. A su vez, la abeja se introdujo desde Europa a toda América siguiendo a los colonizadores. Ya en el siglo XX, la abeja africana se introdujo en Brasil. Esta variedad, al ser más agresiva que las europeas, está colonizando el resto de América, tanto hacia el sur (Argentina) como hacia el norte (Estados Unidos). Como vemos, no se puede decir que la domesticación de la abeja haya sido un proceso sencillo.

#### 4. EL PERRO, EL MEJOR AMIGO DE LA GENÓMICA

El perro (*Canis familiaris*) merece un capítulo aparte en la historia de la domesticación. Es con seguridad el vertebrado con mayor variabilidad. Hay más de 800 razas caninas registradas que son extremadamente diversas: pensemos por ejemplo en la diferencia de tamaño que hay entre un chihuahua y un gran danés, lo que ilustra a la perfección la plasticidad de los genes implicados en el desarrollo. Esto confirma por otro lado que la domesticación ha incidido principalmente en los genes del desarrollo, tal como comentábamos más arriba. Pero, además, hoy sabemos que el perro fue la primera especie en ser domesticada, hace unos 14000 años, 3000 años antes que otras especies como el bovino. Se piensa que la domesticación del perro ocurrió en Asia pero, de nuevo, no fue de una sola vez sino que los perros actuales descienden de varias poblaciones de lobos independientes (6, 7).

Uno de los aspectos más curiosos de la historia del perro es que los pobladores originales de América, que entraron en el Nuevo Mundo por el estrecho de Bering procedentes de Asia, no domesticaron el coyote o el lobo americanos, sino que llevaron consigo sus perros ya domesticados. Y esto ocurrió tanto en América del norte como en la del sur, donde estudios de momias de perro antiguas encontradas en los Andes han mostrado que el ADN mitocondrial de estos perros era el mismo de los perros asiáticos, que es distinto del de los coyotes y lobos americanos. Para los hombres primitivos el

perro fue tan valioso que les acompañó en viajes de miles y miles de kilómetros desde hace miles de años.

El perro es la especie doméstica de cuyo genoma tenemos un conocimiento más profundo. La secuencia completa se publicó en 2005 en la revista *Nature* (4). Hay varias razones para estudiar el genoma del perro, una de ellas es que el perro es un modelo excelente para enfermedades en el hombre. No sólo el perro sufre enfermedades que son etiológica y fisiológicamente las mismas que en el hombre (cáncer, osteopatías, etc) sino que, además, hay una gran variabilidad entre las distintas razas. Hay razas que sufren una determinada enfermedad y razas en las que nunca aparece. Por tanto, la comparación entre los genomas de diversas razas sensibles y resistentes, permitirá descubrir cuál es la base genética de la enfermedad en cuestión. Una segunda ventaja del perro es su gran variabilidad fenotípica, preservada en las distintas razas caninas actuales.

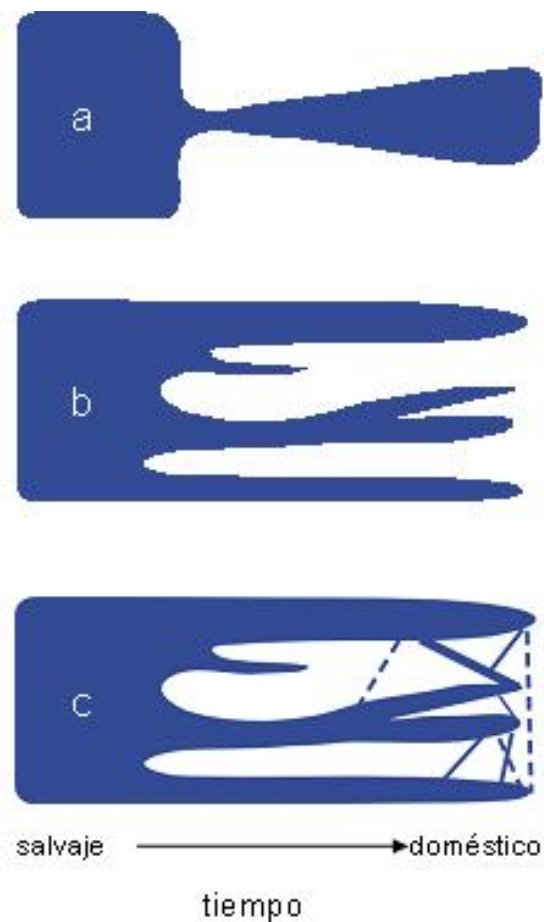
El conocimiento del genoma del perro nos está proporcionando un conocimiento detallado del proceso de domesticación, aunque no exista una interpretación sencilla para todos los datos. Por ejemplo, estudios de ADN mitocondrial (transmitido sólo vía hembra) indican que hay muchos linajes de lobo que fueron domesticados, lo que indica que la domesticación fue un proceso gradual y/o que ocurrió muchas veces. Estudios del cromosoma Y, que se hereda sólo vía paterna, indica que hay muy poca variabilidad dentro de raza pero que ésta es relativamente elevada dentro de razas. Esto es, cada raza estaría caracterizada por un sólo cromosoma Y, sugiriendo que no hay intercambio de machos entre razas. En otras especies, como el caballo, apenas hay variabilidad dentro del cromosoma Y.

## 5. MODELOS EVOLUTIVOS DE DOMESTICACIÓN

La ciencia de la evolución aspira a explicar cómo la variabilidad genética de las especies se ha mantenido y modificado de forma que permita la adaptación de las especies al medio. En nuestro caso, entendemos adaptación como adaptación mediada por el hombre. Un aspecto clave para los estudios evolutivos es el concepto de modelo. Un modelo es, a nuestros efectos, una simplificación de la realidad, una abstracción, que nos permite entender qué es lo que ha ocurrido.

En el caso de la domesticación podemos plantear diversos modelos. El modelo más sencillo es el de  *cuello de botella*  (Figura a). Un cuello de botella es, en sentido evolutivo, una disminución del censo de la población. Consideremos como ejemplo el caso de la población inicial de América, hace varios miles de años. Los primeros pobladores humanos de América provenían de Asia. Lógicamente, no todos los asiáticos se mudaron a América, sino sólo un grupo. Posteriormente, ya en América los pobladores fueron colonizando el conjunto del territorio desde el norte hacia el sur, y expandiéndose, aumentando de población. Éste es un fenómeno de cuello de botella en lo que respecta a la población indígena americana. ¿Qué consecuencias genéticas tiene un cuello de botella? Varias, pero la más relevante es que se produce una pérdida de variabilidad, porque la población actual es sólo una fracción de la anterior. Claramente, las especies domésticas son el resultado de un cuello de botella,

ya que no todos los individuos inicialmente salvajes fueron domesticados. Por tanto, inicialmente, la domesticación produjo una pérdida irreparable de la variación genética total de la especie. Por ejemplo, tal como comentamos, casi todos los caballos actuales presentan el mismo cromosoma Y. Se sabe que los caballos pura sangre son descendientes de muy pocas parejas que vivieron en la Edad Media. En el caso del perro, hemos visto cómo un cuello de botella produce un incremento en el desequilibrio de ligamiento.



**Figura 1: Modelos demográficos de domesticación:** a) cuello de botella, la población doméstica es un subconjunto pequeño de la salvaje; b) cuello de botella múltiple, existen varios procesos de domesticación que resultan en poblaciones discontinuas, aisladas; c) modelo reticulado, como en b pero con poblaciones que intercambian material genético de forma continua o esporádica (líneas discontinuas).

El modelo de cuello de botella sencillo puede aplicarse a algunas plantas como el maíz, pero no parece realista para mayoría de especies doméstica animales. En efecto, el modelo del cuello de botella es demasiado simplista para poder explicar todo lo que observamos. Por ejemplo, sabemos que la mayoría de las especies se domesticaron en diversas ocasiones (6): el cerdo se domesticó en Asia, Europa y el Próximo Oriente, el vacuno y el perro también en diversas localizaciones asiáticas. De la misma forma, en la colonización humana de América, no hubo una sino varias oleadas provenientes de Asia que cruzaron el estrecho de Bering. Por tanto, debemos modificar nuestro modelo inicial para acomodar los diversos eventos de domesticación y proponer un modelo con múltiples cuellos de botella, tal y como representamos en la Figura b. Este modelo, a su vez, predice que la variabilidad total será mucho mayor que en el modelo de un solo cuello de botella, aunque la variabilidad dentro de cada linaje, de cada raza, por ejemplo, será bastante reducida. Este modelo predice, tal como ocurre en perro, un desequilibrio de ligamiento elevado dentro de razas y mucho más débil entre razas.

El modelo de la Figura b sugiere que las diversas líneas domesticadas no intercambian genes entre ellos, que evolucionan como si fueran especies separadas. De nuevo, este modelo parece demasiado *naïve*. Sabemos que ha habido intercambio genético entre poblaciones incluso muy distantes. Por ejemplo, en el caso del porcino las razas asiáticas, domesticadas independientemente en Asia, fueron importadas y cruzadas con cerdos europeos para mejorar la prolificidad, ya que las razas chinas son conocidas por tener tamaños de camada muy elevados. ¡Oh paradoja! también se buscaba aumentar la grasa de los animales, y es que los cerdos chinos son mucho más grasos que los europeos. No es realista pensar que las poblaciones domésticas se han mantenido aisladas unas de otras. Si continuamos con el símil de la población de América, se produjo a partir del S XVI una nueva colonización, esta vez europea y africana (los esclavos). Por tanto, los modernos habitantes de América tienen un origen no sólo indígena, proveniente de Asia, sino también europeo y africano. La diversidad actual es mucho mayor que la que había antes de los viajes de Colón, a pesar del cuello de botella que se produjo como consecuencia de la colonización europea de América. Como los animales domésticos han seguido una historia paralela a la humana, no hay razón para pensar que la estructura demográfica de los animales domésticos sea más sencilla. Una forma de representar esta historia es mediante un modelo reticulado (Figura c). Según este modelo, hay diversos cuellos de botella como consecuencia de la domesticación, pero también migración entre las distintas poblaciones. Una primera consecuencia de este modelo es que la variabilidad genética dentro de razas aumenta con respecto al modelo de cuellos de botella múltiples.

## 6. CONCLUSIONES

En resumen, la domesticación no es sino evolución. No necesitamos invocar ningún mecanismo genético nuevo o distinto para explicar los cambios acaecidos durante y después de la domesticación. Pero dado lo espectacular de algunos de estos cambios, por ejemplo el experimento de Belyaev en zorros,

la domesticación nos recuerda como ningún otro proceso que la evolución puede ocurrir a gran velocidad. No cabe duda de que la domesticación fue un éxito, induciendo cambios de gran repercusión en la historia humana y de las especies domesticadas. Esto fue así porque la domesticación es, desde un punto de vista estrictamente biológico, simbiosis y no parasitismo. Se ha producido una coadaptación entre las especies humanas y domésticas (1). Por tanto, no parece razonable considerar la domesticación, utilizando valores puramente antropocéntricos, como una relación de *subyugación*.

**7. AGRADECIMIENTOS** Agradezco a Julio Rozas por su inestimable ayuda en múltiples conversaciones sobre el tema. La mayor parte de mi trabajo está financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia, ahora MICINN, y es que todo evoluciona, principalmente mediante el proyecto AGL2007-65563-C02-01/GAN.

## 8. REFERENCIAS

1. Beja-Pereira, A., G. Luikart, P. R. England, D. G. Bradley, O. C. Jann *et al.*, 2003 Gene-culture coevolution between cattle milk protein genes and human lactase genes. *Nat Genet* **35**: 311-313.
2. Bruford, M. W., D. G. Bradley and G. Luikart, 2003 DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. *Nat Rev Genet* **4**: 900-910.
3. Driscoll, C. A., M. Menotti-Raymond, A. L. Roca, K. Hupe, W. E. Johnson *et al.*, 2007 The Near Eastern origin of cat domestication. *Science* **317**: 519-523.
4. Lindblad-Toh, K., C. M. Wade, T. S. Mikkelsen, E. K. Karlsson, D. B. Jaffe *et al.*, 2005 Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature* **438**: 803-819.
5. Vila, C., P. Savolainen, J. E. Maldonado, I. R. Amorim, J. E. Rice *et al.*, 1997 Multiple and ancient origins of the domestic dog. *Science* **276**: 1687-1689.
6. Vila, C., J. Seddon and H. Ellegren, 2005 Genes of domestic mammals augmented by backcrossing with wild ancestors. *Trends Genet* **21**: 214-218.
7. Wayne, R. K., and E. A. Ostrander, 2007 Lessons learned from the dog genome. *Trends Genet* **23**: 557-567.
8. Whitfield, C. W., S. K. Behura, S. H. Berlocher, A. G. Clark, J. S. Johnston *et al.*, 2006 Thrice out of Africa: ancient and recent expansions of the honey bee, *Apis mellifera*. *Science* **314**: 642-645.

---

# 6.5

## Competición, Mutualismo y Arquitectura de Redes Ecológicas: Su Papel en la Biodiversidad.

**Alberto Pascual-García**

Unidad de Bioinformática. Centro de Biología Molecular “Severo Ochoa”. Universidad Autónoma de Madrid-CSIC. C/ Nicolás Cabrera 1, 28049. Madrid. España.

### RESUMEN

Tradicionalmente la competición se ha considerado un elemento fundamental en la selección natural que sufre cualquier proceso biológico a lo largo de su evolución. En el trabajo que discutimos en este artículo (1), los autores valoran la importancia de la competición en un ecosistema modelo que contiene no solo interacciones competitivas sino además interacciones mutualistas, las cuales han recibido históricamente mucha menos atención. Veremos cómo relacionan la estabilidad de este tipo de sistemas con el número de especies que pueden coexistir en los mismos, es decir, con la biodiversidad que pueden contener. De este modo demuestran que, en sistemas completamente conectados, el mutualismo permite que más especies puedan coexistir al generar una reducción efectiva de la competición. Analizaremos por último cómo se modifican los resultados si se considera el modo en que las especies están conectadas encontrando que, en este caso, el mutualismo ya no permite siempre aumentar la biodiversidad. Pero al observar patrones de conectividad en redes reales se descubre que una propiedad de las redes previamente estudiada, el “anidamiento”, sí es óptima para facilitar la coexistencia. Este análisis lleva a los autores a conjeturar una explicación evolutiva mediante un proceso de ensamblaje.

### 1. INTRODUCCIÓN

Una de las tareas más importantes a las que se enfrenta la ecología consiste en identificar las distintas interacciones que tienen lugar en los ecosistemas, tanto de los individuos que lo componen entre sí como entre los individuos y el medio en el que viven, con profundas consecuencias en la formación de especies y comunidades. Tras la identificación, hay que enfrentarse además a la difícil tarea de valorar la importancia de cada una de ellas para el problema en consideración.

Un modo de representar las interacciones estudiadas en ecología se basa en clasificarlas en función del resultado neto que supone la interacción para cada uno de los elementos implicados (Tabla1).

Entre estas interacciones el mutualismo ha recibido a lo largo de la historia mucha menos atención que otras, como la competición o la depredación, que han sido consideradas más importantes en el estudio de la evolución. Las causas de este hecho son probablemente diversas (Boucher, 1988) y un estudio exhaustivo excede las pretensiones de este artículo, pero sí



nos gustaría repasar algunas ideas al respecto desde sus orígenes en el pensamiento del siglo XIX, hasta las dificultades encontradas en su formalización en el siglo XX.

Resultado de la interacción (+, -, 0)		Denominación de la interacción
Individuo 1	Individuo 2	
0	0	Neutralismo
-	0	Amensalismo
+	0	Comensalismo
-	-	Competición
+	-	Parasitismo/ Depredación
+	+	Mutualismo

**Tabla 1. Interacciones en ecología.** Se muestra la denominación de la interacción en función del efecto neto (positivo +, negativo -, o neutro 0) para cada individuo.

**1.1. La competición y el mutualismo en sus orígenes.** Herbert Spencer, contemporáneo de Darwin, ya señalaba que la lucha y la competición eran elementos básicos en la biología y la sociedad. Sugería que, a través de la competición, se podía pasar de un escenario inicial violento debido a una competición muy fuerte, a otro en el que progresivamente los roles se fueran diferenciando, dando lugar a una organización más eficiente y estructurada, con una competición suavizada. Éste pasó a ser uno de los estamentos en los que, incluso en la actualidad, se basa el libre mercado. Esta relación entre progreso y lucha fue definitivamente consolidada en el dominio de la biología por Darwin en *El Origen de las Especies*, donde la adaptación y la especiación aparecen como una consecuencia directa de la competición.

Paralelamente a las ideas de Spencer encontramos también las primeras ideas sobre el mutualismo en el ámbito social, y siempre rodeadas de controversia. Fue Proudhon el primero en proponer la creación de un sistema de créditos mutuos entre trabajadores, formando cooperativas. La idea de un intercambio justo que fuera progresivamente reemplazando las diferencias derivadas de la economía capitalista, fueron consideradas muy peligrosas en Francia, lo que le llevó a exiliarse en Bélgica. En el ámbito de la biología se encuentran ya algunas publicaciones relevantes en el siglo XIX. Pierre van Beneden acuña en 1873 por primera vez el término mutualismo en una comunicación a la Real Academia de Bélgica. Trató principalmente el comensalismo y el parasitismo, si bien ya señaló que el mutualismo podía tener lugar más allá del comensalismo. Alfred Espinas amplió los ejemplos de mutualismo en su tesis considerando casos como la domesticación o la relación entre pájaros desparasitadores y rinocerontes, que consideró eran el tipo de relaciones que habría que denominar mutualistas. En este caso fueron las autoridades eclesiásticas las que forzaron a que no se publicara la introducción de su tesis, en la que discutía la filosofía de Comte. En 1893 había suficiente

material alrededor del mutualismo para que Roscoe Pound publicara una revisión sobre el tema en *American Naturalist*.

Un trabajo clave que influiría no solamente en el aspecto biológico sino también en el económico y político es el que, en el año 1902, publica Piotr Kropotkin en su libro: *El Apoyo Mutuo: Un Factor de la Evolución* (Kropotkin, 1989). Esta obra fue la consecución de una serie de artículos publicados por él mismo en *The Nineteen Century* a partir de 1890, como respuesta particular al artículo publicado por T.H. Huxley en esa misma revista: *La Lucha por la Vida*. Tras un extenso análisis, Kropotkin concluye que la cooperación entre individuos, principalmente intraespecífica, es un tipo de interacción tan importante en cuanto al resultado selectivo que puede generar como la competición. La importancia de la competición cree que ha sido exagerada a través de la interpretación que el propio Huxley hace de “la lucha por la vida”, llevándola a un escenario en el que solo existe la lucha sangrienta entre individuos y en el que la cooperación parece no tener cabida. La respuesta de Kropotkin fue también una reacción frente a la corriente denominada darwinismo social, iniciada en la misma época con autores como F.Galton, padre de la eugenesia.

Quizá las asociaciones que se crearon entre el ámbito biológico y el político, económico y social (competición y capitalismo, cooperación y socialismo) impidieron que el mutualismo cobrara mayor importancia a lo largo del siglo XX. Aún hoy se escuchan voces, como la de Lynn Margulis, por la influencia de lo que llama “cultura anglófono-capitalista” en el desarrollo de los marcos teóricos en los que se mueve la corriente neo-darwinista.

**1.2. Del principio de exclusión competitiva al principio de coexistencia.** En las cuatro primeras décadas del siglo veinte solo algunos trabajos como los de Wheeler (*Social life among insects*, 1923) o Allee (*Co-operation among animals*, 1931) consideraron el mutualismo explícitamente. Dentro de las cinco teorías (independientes, como Darwin insistía), del paradigma Darwiniano: la evolución en sí (la “no constancia” de las especies), la ramificación de los organismos desde un ancestro común, la evolución gradual, la multiplicación de las especies y la selección natural, estas tres últimas no fueron universalmente aceptadas hasta la llamada Síntesis Evolutiva alrededor de 1940 (2). Pero llama la atención que la discusión en torno a la selección giró en torno al objeto de selección, el gen para los genetistas, el individuo para los naturalistas. Para ambos grupos, el que las condiciones del medio y la competición eran los mecanismos seleccionadores estaba fuera de discusión, por lo que el mutualismo sólo podía tener un papel secundario.

Así que en este período se sentaron las bases de lo que se ha denominado el *principio de exclusión competitiva*. Si bien se le atribuye a Gause su formulación en 1934 varios trabajos anteriores sentaron las bases intentado formalizarlo matemáticamente, como los de Volterra (*Fluctuations in the abundance of species considered mathematically*, 1926) y Lotka (*The growth of mixed populations: two species competing for a common food supply*, 1932). Una revisión del principio se puede encontrar en el artículo de Garret Hardin (3) quien lo define de la siguiente forma: “Competidores completos no pueden coexistir”, enfatizando de este modo la posible ambigüedad de los términos clave de la definición, principalmente alrededor del adjetivo “completos”.

En el congreso realizado en 1944 por La Sociedad de Ecología Británica fue donde comenzó a ponerse de manifiesto la excesiva simplificación teórica y experimental del principio de exclusión competitiva. Un concepto central en ecología teórica, y en este debate en particular, es el de estabilidad. Si tenemos un conjunto de especies interactuando en un nicho ecológico diremos que forman un sistema estable si todas las especies pueden coexistir a lo largo del tiempo sin que se produzca ninguna extinción. Si tenemos en cuenta el principio de exclusión competitiva, que exista estabilidad implicaría que especies compitiendo (completamente) deberían de ocupar distintos lugares dentro del nicho que comparten.

Cuando en los años cincuenta se empezaron a preguntar qué propiedades de los ecosistemas serían óptimas para su estabilidad, uno de los resultados teóricos más importantes (MacArthur, *Fluctuations of animal populations and a measure of community stability* 1955) fue que una mayor biodiversidad de especies coexistiendo en el mismo permitiría una mayor estabilidad. Su argumento se basaba en que las posibilidades que tiene la energía para fluir verticalmente en una red trófica, desde los eslabones más bajos hasta los depredadores, son mayores cuanto mayor sea la biodiversidad, en aparente contraposición al principio de exclusión. Este trabajo y otros contemporáneos llevaron a Hutchinson en 1959 (4) a reconsiderar la definición de nicho: “es obvio que en comunidades biológicas hay mucho más que el crudo dictado *comer o ser comido*”. Identificó nuevas variables a tener en cuenta a la hora de estimar la biodiversidad que puede contener un nicho, como la eficiencia energética en las interacciones o el tamaño de los organismos (Odum, *Efficiencies, size of organisms and community structure*, 1953). Estimó incluso relaciones entre los valores de las variables asociadas a cada especie que permitirían la coexistencia, lo cual ponía de manifiesto de nuevo la simplificación del concepto de competidores completos.

Hoy sabemos que el principio de exclusión competitiva no tiene validez si alguna de sus condiciones se relaja, lo que sugiere que el principio de exclusión competitiva podría ser reemplazado por un principio de coexistencia.

**1.3. Estabilidad dinámica y estructural.** Pero el resultado teórico de MacArthur sobre la relación entre estabilidad y biodiversidad fue puesta en entredicho cuando, en 1972, May (5) considera de nuevo modelos de dinámica de poblaciones y estudia cómo afecta a la estabilidad el número de especies presentes en el sistema, ya que llega a la conclusión opuesta: una mayor biodiversidad reduce la estabilidad. Este nuevo resultado reforzaba de nuevo la tesis del principio de exclusión.

Pero la diferencia en los resultados reside en el tipo de comportamiento que se estudia en cada caso. May observaba la estabilidad dinámica, que es la capacidad de un sistema modelo de mantener su biodiversidad frente a variaciones en las condiciones iniciales. Pero el sistema a lo largo del tiempo va cambiando debido a fluctuaciones en el medio con escalas de tiempo más largas que las de la dinámica de poblaciones. Por este motivo, hay que evaluar también si sigue siendo estable a pesar de que los valores en los parámetros del modelo van también cambiando. Esto es lo que se conoce como estabilidad estructural, y es éste el tipo de comportamiento hacia el que apuntaba MacArthur.

**1.4. El mutualismo y su formalización.** Tanto el estudio de May como otros posteriores se centraron entonces en comprender qué tipo de interacciones generarían una mayor estabilidad dinámica, dejando a un lado la estructural. El mismo May concluyó que la competencia y el mutualismo son menos compatibles con la estabilidad del sistema que otro tipo de interacciones como la depredación. Su discusión sobre este resultado es un claro ejemplo de sesgo a la hora de valorar la importancia del mutualismo: “el mutualismo es un tema fascinante en biología, pero su importancia en las poblaciones en general es pequeña”, no haciendo en cambio ninguna reflexión al respecto en cuanto a la competencia cuyo resultado cualitativo era el mismo, pero su importancia no se cuestionaba.

Abrió un camino hacia la modelización de sistemas mutualistas el trabajo de Goh (*Stability in models and mutualism*, 1979) en el cual demostró que aumentando la complejidad matemática (introduciendo términos no lineales) se podía demostrar la estabilidad global de los mismos. Sin embargo señaló de nuevo que el número de modelos posibles era menor que el de los modelos de competencia o depredación, lo que llevó nuevamente a pensar que se podría esperar una menor representatividad de los sistemas mutualistas en la naturaleza. Pero él mismo hizo hincapié del peligro de las extrapolaciones biológicas derivadas de la modelización, conocedor de la polémica abierta al respecto. En efecto, veremos cómo el evaluar la estabilidad, no solo dinámica sino estructural, permite reconsiderar la importancia del mutualismo.

**1.5. Reglas de ensamblaje y modelos nulos.** Uno de los últimos retos a los que se enfrenta la ecología teórica (9) consiste en considerar los patrones de conexión que forman las distintas interacciones que se encuentran en el sistema, y buscar posibles explicaciones evolutivas. Por ejemplo, se trabajó alrededor de la estructuración de especies en islas, lo que dio lugar a las reglas de ensamblaje (Diamond, *Assembly of species communities*, 1975). Con ellas se pretendía explicar el patrón observado como un equilibrio que incluyera, tanto la incorporación de nuevas especies en la isla (que debían adaptarse compitiendo con las previamente establecidas), como las extinciones que tuvieran lugar.

Fueron Connor y Simberloff (*The assembly of species communities*, 1979) quienes pusieron en entredicho las reglas de ensamblaje al reproducir algunos patrones a través de procesos aleatorios, creando así una nueva corriente que cuestionaba directamente la importancia de la competencia en la estructuración de las poblaciones. En 1983, Lewin (6) escribía en la revista *Science*: “Los ecólogos se han polarizado. Esta disciplina se ha dividido de tal forma que las reconciliaciones individuales son prácticamente impensables”.

Hoy ambas posturas se han relajado, reconociéndose por un lado algunos patrones como significativos, y la importancia de los modelos nulos al evaluar dicha significatividad por el otro.

## 2. OBJETIVOS

Varios de los puntos tratados en la introducción se han desarrollado en el trabajo publicado por Bastolla et. al. (1). En él, se propone un modelo

matemático de dinámica de poblaciones en el que se consideran tanto interacciones competitivas como mutualistas. Para ello se considera la interacción de  $n$  especies de plantas y  $m$  especies de animales polinizadores (principalmente insectos pero también podrían ser aves, murciélagos o incluso ciertos lagartos en islas). Las plantas compiten con plantas de su misma y de otras especies por un lado, y los animales lo hacen del mismo modo entre sí por el otro. Pero además plantas y animales interactúan entre sí de manera mutualista, ya que las plantas alimentan a los animales y éstos contribuyen a polinizar a las plantas. Los coeficientes que representan la magnitud de las interacciones están relacionados con el proceso biológico que representan. Por ejemplo, en el caso mutualista, la medida es proporcional a la fracción de semillas dispersadas por el animal.

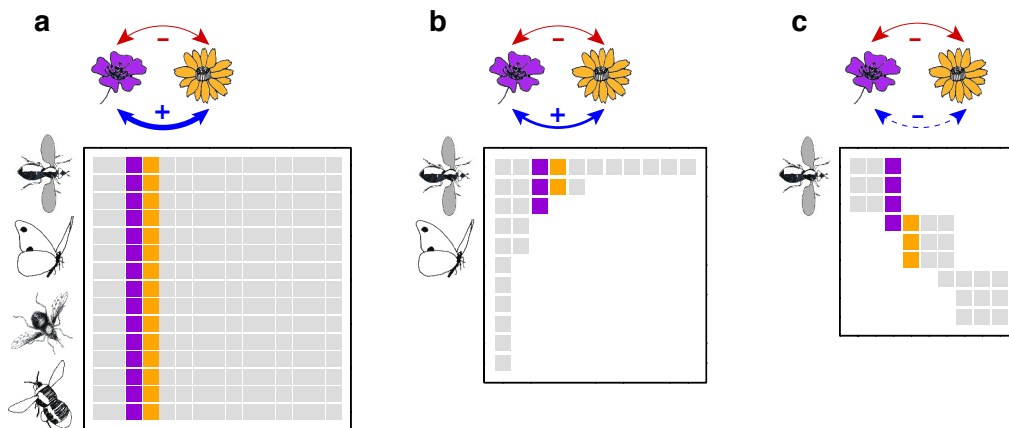
El *primer objetivo* del trabajo es estudiar las soluciones del sistema, es decir, bajo qué condiciones sobreviven todas las especies a lo largo del tiempo de manera estable. El primer resultado para un modelo de este tipo se debe a Gause y Witt (7) para dos especies en simbiosis (1935). Encontraron que existía una única solución estable compatible con la supervivencia de ambas especies. Ésta se encontraba cuando el producto de los coeficientes mutualistas era pequeño ya que, al crecer su valor, se llegaba a una inestabilidad al crecer ambas poblaciones exponencialmente. En el modelo presentado en (1), se considera además la influencia de la competición y se generaliza el resultado a poblaciones de tamaño arbitrario, introduciendo para ello un término no lineal en la parte mutualista que evita la inestabilidad encontrada por Gause y Witt.

El *segundo objetivo* trata de relacionar la estabilidad del sistema con la biodiversidad que puede contener. Éste es uno de los puntos más importantes a los que se enfrenta la ecología teórica, como hemos visto en la introducción, y que han puesto de nuevo de manifiesto Ives y Carpenter en una reciente revisión en la revista *Science* (8).

El *tercer y último objetivo* es intentar comprender el efecto que tiene en el modelo el considerar cómo las especies están conectadas (quién interactúa con quién). Para los dos primeros objetivos mencionados los autores trabajan, en primer lugar, con todas las especies conectadas con todas. Después, se relaja esta condición en la parte mutualista conservando solo algunas interacciones.

En recientes estudios (9) se ha observado que en este tipo de comunidades las interacciones tienen una estructura muy concreta que se ha llamado anidamiento (del inglés *nestedness*). Esta estructura se representa fácilmente mediante matrices (Figura 1).

En esta organización se observa que aquellas especies, por ejemplo insectos, que interactúan solo con una especie de plantas (se les llama insectos especialistas), lo hacen con plantas que interactúan a su vez con muchos insectos (plantas generalistas). Y viceversa, las plantas especialistas serían polinizadas preferentemente por insectos generalistas. En este trabajo se intenta comprender la influencia de la organización de las interacciones en relación a los dos objetivos mencionados anteriormente.



**Figura 1.** En la figura se pueden ver tres tipos de matrices (completamente conectada, anidada y compartimentalizada). Se representa el efecto de su interacción directa (flechas superiores), e indirecta a través del mutualismo (inferiores), junto con su magnitud (grosor de las flechas) en función de la presencia/ausencia de las interacciones con los polinizadores correspondientes y la forma en que están distribuidas. Figura originalmente publicada en Bastolla et. al. (1)

### 3. RESULTADOS

**3.1. Estabilidad dinámica.** En el modelo presentado en (1) los autores encuentran dos soluciones estables que permiten la coexistencia de todas las especies. Estas soluciones son excluyentes, de modo que cuando la primera solución deja de ser estable pasa a serlo la segunda y viceversa. Al igual que en el caso de Gause y Witt, el que el sistema esté en una u otra solución depende del valor de los coeficientes que cuantifican la intensidad de la interacción. Pero en este caso, la expresión que determina el cambio de una solución a la otra viene dada por una relación entre los coeficientes mutualistas y de competición.

Se observa que cuando los coeficientes mutualistas son pequeños, el sistema se halla en un régimen que se ha llamado *mutualismo débil*, en el cual las densidades de las poblaciones crecen respecto al sistema que sólo contiene interacciones competitivas. En cambio cuando los coeficientes mutualistas crecen el sistema pasa a la segunda solución, un régimen que se ha llamado *mutualismo fuerte*, en el cual las densidades crecen muy fuertemente. Pero en este segundo régimen se encuentra además un nuevo resultado adicional importante. Si algún par de especies de animal-planta superaran el régimen de mutualismo fuerte, ninguna otra especie cuyas interacciones no entren también en este régimen puede coexistir con ellas. Éste es un posible mecanismo de generación de extinciones que podría explicar algunos fenómenos interesantes. Por ejemplo la pérdida de biodiversidad producida por la selección, por parte del hombre, de determinadas especies de plantas a través de ciertas prácticas agrícolas.

Hay que destacar que el ingrediente principal para obtener estabilidad dinámica es la competición, por lo que competición y mutualismo no deben ser entendidos como ingredientes excluyentes, sino más bien complementarios.

**3.2. Estabilidad estructural y biodiversidad.** Además de la estabilidad dinámica los autores evalúan la estabilidad estructural. En un modelo de dinámica de poblaciones, la estabilidad estructural la define el rango de parámetros que permite encontrar soluciones estables. La importancia de esta propiedad reside en que se ha demostrado (10) que una mayor estabilidad estructural permite coexistir a un mayor número de especies.

En este caso, el primer resultado se obtiene considerando que todos los elementos están conectados con todos. Se observa entonces que *la introducción del mutualismo permite reducir la competición efectiva entre especies, lo cual incrementa la estabilidad estructural del sistema y, consecuentemente, la biodiversidad máxima que puede contener.* De hecho, si todas las especies se encuentran en el régimen de mutualismo fuerte, el sistema podría admitir un número arbitrario de especies.

**3.3. El anidamiento y las reglas de ensamblaje.** Se pueden relajar las condiciones de conectividad del modelo observando qué ocurriría si pasamos de tener todos los animales conectados con todas las plantas de manera mutualista, a conservar solamente algunas de sus interacciones. La característica a estudiar de las posibles matrices de interacción resultantes es cuánto se parecen al patrón explicado en el apartado 2: el anidamiento. Lo que se observa es que la competición efectiva que las especies soportan es menor cuanto mayor sea el anidamiento de la matriz. De hecho en ciertas configuraciones no anidadas puede suceder que el efecto del mutualismo sea el de aumentar la competición entre las especies, reduciendo la biodiversidad máxima que puede contener el sistema (Figura 1).

En el trabajo se comparan a través del modelo que tratamos los resultados que se obtienen con patrones de redes reales frente a dos modelos nulos de redes aleatorias. El resultado que se obtiene se puede resumir como: 1) *Las redes significativamente más anidadas pueden contener más especies que sus respectivos modelos nulos* y 2) *los ecosistemas reales son más anidados de lo que se esperaría por azar.*

Para entender por qué es óptimo el anidamiento podemos pensar en un ejemplo de proceso ensamblaje. Imaginemos que un insecto llega a la comunidad que estamos estudiando y solo interactúa con una planta. El beneficio que obtenga de esa planta repercutirá en una disminución de la competición con los otros insectos. Y este beneficio (indirecto) será mayor cuantos más insectos contribuyan al beneficio (directo) de la planta. Por tanto, las posibilidades de ensamblarse en la comunidad son tanto mayores para el insecto cuanto más generalista sea la planta con la que comience a interactuar. Este criterio de ensamblaje podría explicar por qué en la naturaleza se encuentra este patrón.

#### 4. CONCLUSIONES

Hemos revisado brevemente el tratamiento que se ha hecho, a lo largo de la historia, de las interacciones competitivas y mutualistas, examinando algunos de los puntos clave que surgieron en la valoración de la competición y el mutualismo en general, y en su desarrollo formal en ecología de poblaciones en particular. Posteriormente hemos visto la contribución a algunos de estos temas de un modelo concreto publicado recientemente (1).

Para este modelo se han encontrado dos soluciones dinámicamente estables, donde el ámbito de validez de cada una de ellas viene definido por la relación entre los valores de los coeficientes mutualistas y de competición (mutualismo débil y mutualismo fuerte). Se ha discutido además la estabilidad estructural, relacionando la misma con la biodiversidad que pueden contener. Si todas las especies interactúan con todas el mutualismo potencia la capacidad del sistema para contener un mayor número de especies a través de la reducción efectiva de la competición. Por otro lado, si solo un par de especies superara el umbral de mutualismo fuerte, provocaría extinciones sobre las especies que no entraran en dicho régimen.

Por último se relajan las condiciones de conectividad, examinando la propiedad de anidamiento observada en la naturaleza, concluyendo que esta característica parece ser óptima para facilitar la coexistencia. Los autores conjeturan además sobre la posibilidad de explicar esta estructura mediante un proceso de ensamblaje, lo cual deberá ser críticamente contrastado con modelos evolutivos apropiados.

**5. AGRADECIMIENTOS** Quisiera agradecer a todos los autores que han contribuido en el artículo (1), el entusiasmo y la dedicación que han mostrado a lo largo (y ancho) de todo el trabajo. Quiero agradecer además a Jorge Ibáñez Gijón (UAM) e Ignacio Amigo (UAM-CSIC) la lectura y discusión de este manuscrito.

#### 6. REFERENCIAS

1. Bastolla, U., Fortuna, M.A., Pascual-García, A., Ferrera, A., Luque, B., Bascompte, J., *The architecture of mutualistic networks minimizes competition and increases biodiversity*. Nature, 2009. **458**: p. 1018-1020.
2. Mayr, E., *Happy birthday: 80 years of watching the evolutionary scenery*. Science, 2004. **305**(5680): p. 46-7.
3. Hardin, G., *The competitive exclusion principle*. Science, 1960. **131**: p. 1292-7.
4. Hutchinson, G.E., *Homage to Santa Rosalia or Why are there kinds of animals?* The American Naturalist, 1959. **XCIII**(870): p. 145-159.
5. May, R.M., *Qualitative stability in model ecosystems*. Ecology, 1972. **54**(3): p. 638-641.
6. Lewin, R., *Santa Rosalia Was a Goat: Ecologists have for two decades made assumptions about the importance of competition in community organization; that idea is now under vigorous attack*. Science, 1983. **221**(4611): p. 636-639.
7. Gause, G.F., and Witt, A.A. *Behavior of Mixed Populations and the Problem of Natural Selection*. The American Naturalist, 1935. **69**(725): p. 596-609.
8. Ives, A.R. and S.R. Carpenter, *Stability and diversity of ecosystems*. Science, 2007. **317**(5834): p. 58-62.



9. Bascompte, J., *Disentangling the Web of Life*. Science, 2009. Vol. 325. no. 5939, pp. 416 - 419
10. Bastolla, U., et al., *Biodiversity in model ecosystems, I: coexistence conditions for competing species*. J Theor Biol, 2005. **235**(4): p. 521-30.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Kropotkin, P., *El Apoyo Mutuo: Un factor de la Evolución*. 1989. Madre Tierra. 3ª Ed. en español.
- Boucher, D.H. (editor), *The biology of mutualism: ecology and evolution*. 1988, New York: Oxford University Press.



# Tema 7

---

## Paleobiología

---

# 7.1

## Poblamiento de América: Más de un Siglo de Debate

Ana L. Tropea<sup>1</sup> y Alicia I. Massarini<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>CONICET y Grupo de Investigación en Biología Evolutiva, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>CONICET y Maestría a en Política y Gestión de la Ciencia y la Tecnología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

### RESUMEN

El poblamiento original del continente americano constituye un apasionante tema de investigación cuyo interés científico, cultural e histórico despierta aún hoy en día debates altamente polarizados. Desde las primeras propuestas -hacia fines del siglo XVI- sobre cómo se habría producido el ingreso del hombre al Nuevo Mundo, hasta la consolidación de modelos hegemónicos como el modelo de Clovis -a mediados del siglo XX-, los principales ejes del debate se alternaron rítmicamente según las evidencias disponibles y los enfoques asumidos en cada momento histórico. Actualmente, las nuevas evidencias provenientes de la Arqueología; la reevaluación de antiguos restos óseos humanos a través de novedosas técnicas morfométricas; al mismo tiempo que los innovadores aportes de disciplinas como la Lingüística Histórica y la Genética de Poblaciones, han puesto de manifiesto ciertas limitaciones del modelo Clovis. Por otra parte, los aportes de estas disciplinas han precisado ciertos aspectos del complejo fenómeno de poblamiento ocurrido en América, principalmente a través de la propuesta de modelos alternativos a Clovis. Sin embargo, muchos de estos estudios priorizan una única línea de evidencias, lo que refleja un insuficiente diálogo entre los campos disciplinares involucrados. Consideramos, por lo tanto, que la implementación de un enfoque integrador en torno al marco teórico de la biología evolutiva contemporánea, junto con una profunda revisión crítica del marco conceptual y metodológico con el que se abordan estas problemáticas, permitirá la formulación de nuevas hipótesis multidisciplinares de poblamiento.

### 1. LAS PRIMERAS IDEAS SOBRE LA LLEGADA DEL HOMBRE AL NUEVO MUNDO.

Desde la llegada de los europeos a América en el siglo XV, las preguntas concernientes al origen de sus pueblos pasaron a constituir uno de los enigmas más intrigantes para los naturalistas de la época. Dentro de la concepción del mundo natural en la que predominaban las ideas bíblicas sobre el carácter inmutable de las especies y una acotada profundidad de la vida en la Tierra, se enmarca una de las primeras ideas sobre cómo habría llegado el hombre al Nuevo Mundo. La misma fue propuesta por el jesuita español José De Acosta (1539-1600) en su obra *Historia Natural y Moral de las Indias* (1590). Luego de más de dieciséis años de experiencias vividas junto a los nativos de América del Sur, De Acosta propuso que ciertos pueblos asiáticos habrían ingresado al Nuevo Mundo desde el norte, en una época pasada en que los continentes habrían estado unidos o apenas separados por una pequeña

porción de mar franqueable. En estas condiciones, el pasaje se habría podido efectuar a pie o mediante el empleo de canoas rústicas semejantes a aquellas que poseían los nativos americanos de la época, alrededor de 2.000 años antes de la llegada de los españoles, según la especulación cronológica de De Acosta (1).

En 1728, el navegante Vitus Bering descubrió el estrecho que porta su nombre. La pequeña separación entre el extremo oriental de Siberia y Alaska constituyó una fuerte evidencia que legitimó la idea de De Acosta sobre la proximidad de los continentes, haciendo probable un poblamiento de América a partir de Asia. Aún así, estas ideas poseían un carácter fuertemente especulativo dado que no se contaba en la época con otro tipo de evidencias que aportaran una mayor precisión y sustento a las mismas. Fue recién a partir de desarrollos provenientes de diversas áreas del conocimiento durante los siglos XVIII y XIX, que el marco de interpretación del origen del hombre en el Nuevo Mundo fue enriquecido y pudo ser reconsiderado.

## **2. LOS PRINCIPALES EJES DEL DEBATE SOBRE EL ORIGEN DE LOS PRIMEROS AMERINDIOS.**

La vertiginosa producción intelectual europea como consecuencia de los cambios sociales, culturales, tecnológicos y económicos de los siglos XVIII y XIX, condujo a una profunda modificación de la mirada naturalista del mundo y, particularmente del lugar de nuestra especie en la naturaleza. Tanto la tesis uniformista<sup>1</sup> propuesta por Charles Lyell en *Principios de Geología* (1830-1833), como las innovadoras ideas de Charles Darwin, publicadas en *Origen de las Especies* (1859) y en *El origen del hombre, y la selección en relación al sexo* (1871) (3)(4), condujeron a la inevitable, aunque tardía, ampliación del rango temporal de la vida en la Tierra y, a su vez, a la incorporación de la noción de cambio a través del tiempo.

Hacia finales del siglo XIX, estos conceptos eran aplicables al mundo natural en general y, en consecuencia, al hombre. Sin embargo, el estudio de la prehistoria humana por parte de anticuaristas y coleccionistas no contemplaba estas dos dimensiones. No sólo no se disponía de métodos formales para realizar investigaciones de sitios antiguos sino que tampoco se contaba con criterios consensuados para evaluar los descubrimientos. A pesar de esto, con la creciente consolidación de la Geología y el desarrollo posterior de la Estratigrafía, una nueva rama de la Antropología comenzó a insinuarse: la Arqueología. En tanto disciplina que estudia los restos materiales producto de la actividad humana en el pasado – registro arqueológico –; las asociaciones entre los mismos y; el contexto de depósito de estos restos en los sitios excavados, los arqueólogos se especializaron en la reconstrucción de los escenarios de vida pasados de diferentes grupos humanos.

En esta época, las posturas en relación a la llegada del hombre al Nuevo Mundo, por parte de los arqueólogos, estuvieron estrechamente vinculadas con la concepción, ya bien establecida en la academia, sobre la existencia de tipos raciales en la especie humana y la pertinencia de su clasificación. Así pues, si bien coexistían y competían diversas hipótesis sobre la región de origen de los pobladores primarios

---

<sup>1</sup> Sintéticamente, Lyell propuso que la Tierra se habría formado lentamente a lo largo de extensos períodos de tiempo y a partir de las mismas fuerzas físicas que hoy rigen los fenómenos geológicos, oponiéndose a la idea catastrofista según la cual la Tierra, y la vida en la misma, habría sido modelada por una serie de grandes catástrofes en un tiempo relativamente corto (2).

de América y su pertenencia racial, subsistían aún interrogantes que ninguna de ellas atinaba a responder. Entre ellos la cantidad de eventos de colonización, las rutas empleadas para poblar todo el vasto continente y la época en que se habrían producido las migraciones.

Hacia 1870, los hallazgos vinculados con la presencia humana antigua en algunas regiones de Alemania y de Francia, impulsaron una serie de avances en la comprensión y sistematización de la cronología referida a la existencia humana en la Tierra. La delimitación de la era Pleistocénica<sup>2</sup>, así como la definición de una cronología relativa a la actividad humana en el pasado -la cual comienza con el Paleolítico y se continua en el Neolítico-, constituyeron nuevos desarrollos que despertaron un renovado interés en los círculos científicos americanos por indagar la existencia del hombre en el continente americano desde épocas tan antiguas como en Europa. Este interrogante condujo a una polarización radical del debate en torno a la edad del hombre en América, encarnada en el enfrentamiento apasionado entre los especialistas defensores de la existencia de una era Paleolítica americana y la consecuente presencia del “Hombre Glaciar”<sup>3</sup> en el Nuevo Mundo hacia fines del Pleistoceno, y aquellos detractores de dicha idea. Entrado el siglo XX, la imposibilidad de resolver esta controversia llevó a las máximas autoridades de la Smithsonian Institution<sup>4</sup> junto con acérrimos detractores de la idea de una edad Paleolítica americana, a instituir una serie de criterios que servirían para juzgar la evidencia arqueológica que se presentara de forma rápida y definitiva, con el objetivo de evitar la continua evaluación de sitios infructuosos. Estos criterios son utilizados aún hoy en día y consisten en la presencia indiscutible de: (1) artefactos o restos óseos humanos; (2) un contexto de depósito detallado (tales como asociación estratigráfica directa con fauna pleistocénica) y; (3) un control válido y confiable de la cronología (en esa época, esto significaba una estratigrafía no distorsionada).

Avanzada la década de 1920, las exigencias de estos criterios no se cumplían en ningún sitio arqueológico, ya que se trataba de requerimientos muy elevados para las técnicas de excavación utilizadas por aquellos años. En particular, la imposibilidad de establecer cronologías exactas dada la ausencia de métodos directos de datación, tornaba muy imprecisa la tarea de asignar una edad confiable a los restos óseos humanos encontrados así como al material lítico de aparente manufactura humana.

El desplazamiento del eje de discusión desde el origen geográfico de los primeros habitantes de América durante el siglo XIX, hacia la indagación de la antigüedad de las primeras poblaciones a comienzos del siglo XX, responde en parte a los resultados de los estudios de morfología craneana comparada llevados a cabo por el antropólogo físico checo Alès Hrdlička (1869-1943) hacia 1914. En efecto, a partir de sus viajes a Asia, Hrdlička señaló la gran similitud existente entre los rasgos

---

<sup>2</sup> Pleistoceno: actualmente se la considera una época geológica la cual se extiende desde los 2.6 millones de años hasta los 11.700 años antes del presente. Sin embargo, hacia fines del siglo XIX y principios del siglo XX, los geólogos y antropólogos sólo estimaban su finalización en algún momento entre los 15.000 y 20.000 años atrás.

<sup>3</sup> En América, este polarizado debate adoptó el nombre de “Hombre de las Glaciaciones” dado el paralelismo cronológico con el Paleolítico europeo que se hallaba caracterizado por la presencia de glaciaciones.

<sup>4</sup> La Smithsonian Institution fue fundada en el año 1846 con el fin de crear “un establecimiento para el incremento y la difusión del conocimiento sobre el hombre”, la cual con el transcurso de los años se erigió como institución de referencia para toda investigación científica referida al ser humano.

faciales y craneanos de los pobladores asiáticos y los de esquimales y nativos mexicanos, considerándola como la evidencia más decisiva existente hasta el momento del posible parentesco entre los pueblos asiáticos y los amerindios. Estas correlaciones sustentaron un cierto consenso entre los antropólogos, que a partir de entonces pasaron a sostener que todos los habitantes originales del continente americano, excepto los esquimales, pertenecían a una misma raza, descendiente a su vez de inmigrantes del noreste asiático, particularmente de los tártaros y mongoles. En adelante, el origen asiático de los primeros migrantes al Nuevo Mundo cesó de ser cuestionado, cristalizándose como el núcleo central de los modelos de poblamiento que se postularon a lo largo de todo el siglo XX. Llamativamente, esta misma propuesta ya constituía la base de la argumentación de De Acosta a fines del siglo XVI.

### **3. LOS SITIOS CLOVIS Y LA CONSOLIDACIÓN DE UN MODELO DE POBLAMIENTO.**

Los tres criterios establecidos para evaluar la presencia del hombre en el Nuevo Mundo hacia fines del Pleistoceno lograron reunirse por primera vez en un sitio arqueológico hacia 1927. Se trata del sitio Arroyo Wild Horse, en Nuevo México, cerca de la localidad de Folsom, en donde el arqueólogo norteamericano Jesse Figgins (1867-1944) descubrió algunas puntas de proyectil talladas en roca, llamadas puntas Folsom, en asociación directa con restos óseos de fauna extinta característica del Pleistoceno. Este hallazgo sin precedentes en el marco del debate sobre “el Hombre Glaciar”, requirió de una minuciosa inspección del sitio por parte de arqueólogos de la Smithsonian Institution quienes evaluaron el cumplimiento de los mencionados criterios. Dado que los restos líticos de manufactura humana y los restos óseos de fauna habían sido depositados simultáneamente sin distorsión posterior del contexto y que, por otro lado, esos estratos pertenecían al menos al Pleistoceno Tardío, este sitio permitió concluir con el debate sobre la existencia del hombre glaciar en América, incrementando considerablemente la antigüedad del rango temporal sostenido durante más de cuatro siglos.

Paralelamente, nuevas excavaciones comenzaron a revelar ocupaciones humanas aun más antiguas en América del Norte. Particularmente, en el sitio Blackwater Draw, cercano a la localidad de Clovis, en Nuevo México, se encontraron diversos utensilios tallados finamente en sílex, entre los cuales las puntas de proyectil a simple acanaladura constituían un importante hallazgo. Dentro de la especulación científica de la década de 1930, caracterizada por su sesgo tipológico en el análisis de la variabilidad del registro arqueológico, se asumió a partir de estos hallazgos la existencia de un pueblo portador de esta cultura, representante de los primeros amerindios, al que se denominó “Clovis”. Dado que estas herramientas fueron halladas junto a restos de mamuts, rápidamente se hipotetizó que los primeros pobladores de América habrían ingresado a través del Estrecho de Bering, siguiendo a las poblaciones de mamuts que habrían sido su principal fuente de alimento. La representación de los primeros americanos como expertos cazadores de mamuts involucrados en la colonización del Nuevo Mundo, fue una imagen que gozó de una inmediata aceptación en los círculos científicos norteamericanos. La idea de un único ingreso desde el norte de ciertos migrantes provenientes de pueblos asiáticos

portadores de la “cultura Clovis”, pasó entonces a constituir la hipótesis más convincente del poblamiento americano.

Aun así, se desconocía el marco cronológico probable para situar la llegada de los primeros hombres a América. Hubo que esperar hasta fines de la segunda Guerra Mundial -momento en el cual fueron desarrollados nuevos métodos de datación basados en el descubrimiento de la radioactividad-, para la asignación de una antigüedad de entre 11.000 y 11.500 años AP<sup>5</sup> a todos los asentamientos Clovis excavados hasta el momento (5).

Por su parte, los estudios paleoambientales apoyaban la hipótesis que proponía que durante ese período, Beringia constituyó un verdadero puente terrestre entre Siberia y Alaska, como consecuencia del descenso del nivel del mar a raíz de la formación de enormes calotas glaciares, permitiendo entonces el pasaje a América, a pie, a partir de Asia. El panorama sobre el origen de los primeros amerindios parecía resultar claro e indiscutible, el modelo “Clovis”, o también llamado “Clovis First”, se consolidaba tanto por su extrema simplicidad como por su enorme poder explicativo.

#### **4. EVIDENCIAS CONTRA EL MODELO: RE-POLARIZACIÓN DEL DEBATE EN TORNO A “CLOVIS FIRST” Y MODELOS ALTERNATIVOS.**

Hacia la década de 1970 comenzaron a describirse nuevas evidencias que resultaban controversiales. Si bien el modelo Clovis se halla sustentado aún hoy en día por el hallazgo de restos humanos de aproximadamente 11.000 años AP en sitios norteamericanos, a medida que las excavaciones avanzaban en otras regiones de América, nuevos sitios tan antiguos como aquellos encontrados en América del Norte eran descubiertos en el hemisferio sur de nuestro continente. Por ejemplo, el sitio de Monte Verde, al sur de Chile, excavado a partir de 1977 por el equipo interdisciplinario dirigido por el arqueólogo estadounidense Tom Dillehay, constituye un importante hallazgo cuya excepcional preservación permitió precisar el escenario tecno-cultural de desarrollo de los habitantes de la región hacia los 11.790 ± 200 años AP (6). La sorprendente edad de Monte Verde junto con el hallazgo de vestigios humanos en México de 10.000 años de antigüedad aproximadamente, comenzaron a poner en duda que los pueblos de Norteamérica portadores de la cultura Clovis, hayan sido realmente los primeros pobladores de América y, en consecuencia, los ancestros de los demás pueblos identificados por los arqueólogos a lo largo de todo el continente. En este punto, la controversia desatada en la comunidad de arqueólogos y paleoantropólogos tomó llamativamente las mismas características que el debate sobre el “Hombre de las Glaciaciones” de fines del siglo XIX. Una vez más la comunidad científica centró la discusión sobre el primer poblamiento americano en la estimación del rango temporal en el que habría ocurrido, polarizando marcadamente las posiciones entre aquellos defensores de “Clovis First” y los detractores de este modelo. De modo similar al debate del siglo XIX, la inercia de la postura hegemónica, obstaculizaba la legitimación de sitios antiguos, principalmente en América del Sur. Es por ello que en 1997, Dillehay aceptó una inspección a Monte Verde de un grupo de reconocidos arqueólogos, entre los cuales había representantes de la Smithsonian Institution que, por otra parte, eran arqueólogos considerados defensores del modelo Clovis First. Dado que Monte Verde constituye un sitio excepcional, minuciosamente

---

<sup>5</sup> AP: años antes del presente, fijado en 1950.

excavado por el equipo de Dillehay, el informe final sobre Monte Verde no sólo confirmaba los descubrimientos, sino que legitimó el sitio como la primera evidencia “pre-Clovis” de Sudamérica (6).

Superada la “barrera Clovis”, otros aspectos del modelo comenzaron a requerir interpretaciones alternativas. Por una parte, a partir del reanálisis de la mayor colección de cráneos humanos datados del Holoceno Temprano de América, provenientes de la región de Lagoa Santa, Brasil, el paleoantropólogo brasileño Walter Neves, utilizando técnicas de morfometría geométrica<sup>6</sup>, pudo reconocer que estos restos humanos antiguos no presentan rasgos mongoloides (neurocráneos cortos y anchos con rostros redondeados y huidizos). Por el contrario, poseen características más cercanas a aquellas presentes en los aborígenes melanesio-australianos y africanos actuales (neurocráneos alargados y estrechos, y rostros prominentes y estrechos). En consecuencia, Neves y colaboradores concluyeron que la variación craneal observada a lo largo del tiempo en Sudamérica apoya sólidamente la idea de que el Nuevo Mundo fue ocupado por dos poblaciones morfológicamente diferentes provenientes de Asia, proponiendo así un nuevo modelo de poblamiento llamado “Modelo de Dos Componentes Biológicas Principales” (7). En el mismo se propone que los primeros americanos, también llamados paleoamericanos, poseían un patrón de morfología craneal que indicaría una ancestralidad común con los aborígenes actuales de Australia y África sub-sahariana. Este primer ingreso habría ocurrido por Bering hacia Alaska hace aproximadamente 14.000 años, ocupando luego el resto del continente. Como argumento adicional, se propone una segunda migración de poblaciones del noreste asiático hacia América hace unos 11.000 años, ya que el patrón de morfología cráneo-facial vincularía a estos nativos americanos más recientes con las poblaciones mongoles actuales. Dado que la transición entre los dos patrones morfológicos parece ser abrupta, este modelo provee una explicación plausible, cuestionando a su vez el modelo Clovis, particularmente en lo que respecta a la propuesta de una única ruta de ingreso y, consecuentemente, a la imposibilidad de explicar la discontinuidad en la variabilidad morfológica observada de forma satisfactoria.

Por otra parte, existen controversias en relación a la interpretación del escenario paleoecológico propuesto por el modelo clásico. Diversas investigaciones han permitido estimar la extensión de las calotas glaciares en América del Norte durante el periodo propuesto para el ingreso de Clovis. Estos estudios concluyen que la calota Lauréntica cubría enteramente la zona norte del continente americano constituyendo, en consecuencia, una barrera infranqueable para toda migración. En relación con este cuestionamiento, los seguidores del modelo Clovis propusieron una modificación a la hipótesis tradicional: la migración de las primeras poblaciones se habría producido a través de la región de Bering, pero por mar, avanzando de isla en isla, siguiendo la costa asiática primeramente y luego la costa americana. En consecuencia, estos pueblos habrían sido más probablemente pescadores/recolectores, siendo la caza de mamuts una actividad derivada, una vez que estos pueblos comenzaron a asentarse en las grandes planicies norteamericanas. A pesar de estas modificaciones, el modelo Clovis con su propuesta de un poblamiento único y tardío no explica satisfactoriamente diversas fuentes de evidencias: la existencia de asentamientos en Sudamérica de edad similar o superior a los asentamientos Clovis

---

<sup>6</sup> Morfometría geométrica: técnica de análisis multivariado que permite disociar estadísticamente componentes conformacionales y de escala, permitiendo discriminar morfotipos en una muestra dada.



de Norteamérica, la variabilidad del registro arqueológico, ni tampoco la variabilidad que se observa en ciertos rasgos biológicos en América a través del tiempo.

## **5. LOS APORTES DE LA LINGÜÍSTICA HISTÓRICA Y DE LA GENÉTICA DE POBLACIONES.**

Frente a las limitaciones del modelo Clovis, entre los antropólogos y arqueólogos de la década de 1980, una nueva y creciente expectativa comenzó a depositarse en los estudios de dos disciplinas que abordaban de forma incipiente la controversia sobre el origen de las poblaciones amerindias actuales: la Lingüística Histórica y la Genética de Poblaciones. Estas disciplinas intentaron esclarecer las cuestiones que aun permanecían sin respuesta sobre la primera llegada del hombre a América, a partir del estudio de la diversidad de lenguas y de los patrones de variabilidad genética. El objetivo de ambos tipos de estudios apuntaba a reconstruir un escenario de poblamiento que permitiera esclarecer tres cuestiones centrales: (i) cuándo se produjo el primer ingreso de humanos en América; (ii) cuántas migraciones se habían producido hacia el Nuevo Mundo durante su etapa de poblamiento original y; (iii) a partir de qué zona geográfica, y por qué rutas, se habrían producido la/s migración/es.

En búsqueda de respuesta a estos interrogantes, la Lingüística Histórica, se enfrentó con problemas de índole metodológico a la hora de reconstruir la historia de la gran diversidad de lenguas actuales en América. Pese a ello, dos corrientes principales expusieron sus hipótesis sobre cómo se habría producido el primer ingreso humano. La escuela representada por el lingüista estadounidense Joseph Greenberg (1915-2001) propuso un modelo tripartito de poblamiento en el que los primeros amerindios habrían ingresado por Bering, portando la lengua ancestral a la actual familia lingüística que este autor denomina 'Amerind', seguidos de dos migraciones posteriores: la que habría aportado las lenguas 'Eskimo-Aleut' y aquella asociada a las lenguas pertenecientes a la familia 'Na-Dene'. La escuela liderada principalmente por Lyle Campbell, lingüista norteamericano contemporáneo, considera, por el contrario, que la inmensa diversidad de lenguas amerindias no puede ser agrupada en sólo tres familias lingüísticas independientes y que, en el caso de que se considere que los datos lingüísticos permiten inferir el proceso de origen y diversificación de las lenguas, su análisis sugiere que dicha diversidad podría haber sido el resultado de numerosas migraciones (8). En cuanto a la estimación de la antigüedad de los primeros asentamientos humanos en América, algunos especialistas asumen que la diversidad lingüística tendería a aumentar con el transcurso del tiempo. En consecuencia, el gran número de lenguas presentes en el Nuevo Mundo constituiría una evidencia de una profunda antigüedad de sus pueblos, lo que entraría en contradicción con el marco temporal asumido por el modelo Clovis. Al mismo tiempo, la mayor amplitud de la diversidad lingüística en Sudamérica con respecto a la observada en Norteamérica implicaría que la parte meridional del continente se habría poblado más tempranamente, lo que resulta consistente con el hallazgo de sitios pre-Clovis en esa región, como es el caso de Monte Verde. Por otra parte, con respecto a las rutas de ingreso, los datos lingüísticos sustentarían aquellos modelos que proponen patrones de migraciones costeras, dado que existe una mayor diversidad de lenguas al oeste del continente lo que se correlacionaría con una mayor profundidad temporal de las ocupaciones humanas de las costas pacíficas respecto a las costas atlánticas.

Por su parte, los estudios de la Genética de Poblaciones dedicados a la investigación sobre el poblamiento americano durante los últimos veinticinco años, basan sus conclusiones en el análisis del ADN mitocondrial (ADNmt)<sup>7</sup> y de la porción no recombinante del cromosoma Y (ADN<sup>Y</sup>)<sup>8</sup> de amerindios actuales. Por diversas razones, ambas moléculas presentan características ventajosas a la hora de inferir relaciones de parentesco entre poblaciones a partir de la variabilidad genética contenida en las mismas. En primer lugar, se trata de secuencias de ADN que son transmitidas por vía uniparental: el ADNmt se hereda por vía materna mientras que el ADN<sup>Y</sup> sólo lo hace por vía paterna. En segundo lugar, no se hallan sujetas a recombinación<sup>9</sup> al momento de la formación de gametas y; finalmente poseen una tasa de mutación elevada. Estas características permiten a los genetistas reconstruir la historia de un linaje genético, materno o paterno, a través de las generaciones.

El protocolo experimental para el estudio de la variabilidad contenida en el genoma mitocondrial humano fue establecido hacia mediados de la década de 1980 y, una década después, se lo adaptó para el estudio del ADN<sup>Y</sup>. Sintéticamente, este protocolo consiste, en la detección de aquellas posiciones en la secuencia del ADN que exhiben mayor variabilidad en nuestra especie, desde entonces llamadas posiciones polimórficas o polimorfismos puntuales. Al mismo tiempo, dado que esta variabilidad es característica de cada población, los genetistas definieron grupos genéticos diferentes tomando como característica distintiva la presencia, en cada uno de ellos, de combinaciones particulares de estos polimorfismos. Específicamente, se observó que todas las poblaciones amerindias actuales poseen alguno de los cinco grupos caracterizados de ADNmt: A, B, C, D ó X; mientras que los grupos del ADN<sup>Y</sup> detectados son cuatro: P, Q, C y R1a1. Dado que se supone que la población que ingresó por primera vez a América poseía representantes de cada uno de estos marcadores genéticos, se los ha denominado haplogrupos fundadores.

Sobre la base de la distribución geográfica de los llamados haplogrupos fundadores y, dada la posibilidad de datar su origen, se integraron los datos obtenidos de ADNmt y de ADN<sup>Y</sup> de distintas poblaciones nativas distribuidas a lo largo del continente americano. De esta manera fue propuesto un modelo genético de poblamiento americano que postula un primer evento migratorio desde Asia central hacia los 18.000 – 15.000 años AP, el cual habría aportado a todo el continente los haplogrupos fundadores A, B, C y D de ADNmt y los haplogrupos fundadores P y Q del cromosoma Y. Una segunda corriente migratoria, hasta América central, habría ingresado hacia los 12.500 años AP aportando el haplogrupo X de ADNmt y los haplogrupos C, R1a1 y nuevas variantes del haplogrupo P del cromosoma Y (9).

Si bien este modelo constituye una explicación alternativa al modelo Clovis a la hora de indagar el origen de los primeros pobladores de América, algunas limitaciones

---

<sup>7</sup> El ADN mitocondrial es un pequeño genoma circular contenido dentro de organelas intracelulares llamadas mitocondrias. Las mismas son responsables de la producción de energía para el metabolismo celular y orgánico.

<sup>8</sup> La porción no recombinante del cromosoma Y es un pequeño fragmento del cromosoma Y el cual no se halla sujeto a recombinación durante la meiosis.

<sup>9</sup> La recombinación es un proceso de intercambio de fragmentos de ADN entre cromosomas homólogos durante la meiosis. En el caso de células humanas, este intercambio se produce entre los cromosomas maternos y paternos. En este sentido, la porción no recombinante del cromosoma Y no halla una secuencia homóloga dentro del set de cromosomas maternos.

de este enfoque han llevado a los investigadores a revisar estos resultados en los últimos cinco años. Estas limitaciones se vinculan, principalmente, con el amplio margen de error de las dataciones de los haplogrupos fundadores -en el orden metodológico-, y; con su estatus de marcadores biológicos discretos capaces de cuantificar la variabilidad genética en poblaciones humanas -en el orden conceptual-. Hacia principios de este siglo, la reflexión incipiente sobre estos problemas llevó a algunos genetistas de poblaciones y antropólogos moleculares a proponer ciertas modificaciones en los protocolos originales para el estudio de la variabilidad genética de las poblaciones nativas. Entre ellas, se cuenta la incorporación del análisis de la secuencia completa de ADNmt y de ADN<sup>Y</sup>, así como el empleo de nuevos algoritmos matemáticos para el tratamiento de la gran cantidad de datos obtenidos a nivel poblacional. Ambas innovaciones permitieron refinar las hipótesis de poblamiento a partir de datos genéticos.

Haciendo uso de estas nuevas herramientas metodológicas, en 2008 un grupo de genetistas brasileños publicaron un nuevo modelo de poblamiento basado en datos de ADNmt de poblaciones nativas de distintas regiones de América (10). En este modelo, Fagundes y colaboradores proponen una primera etapa de poblamiento, en la que ciertos grupos humanos del centro-sur de Asia habrían migrado hacia el noreste asiático hace aproximadamente 30.000 años AP, ocupando el territorio de Beringia al inicio del Último Máximo Glaciar (UMG), datado en aproximadamente 23.000 años AP. Los autores estiman que en una segunda etapa de unos 4.000 – 5.000 años de duración, esta población habría permanecido aislada en Beringia dado que las condiciones climáticas rigurosas asociadas al UMG no le habrían permitido expandirse hacia los territorios del sur de Siberia, ni tampoco migrar hacia América dada la barrera física que constituían los glaciares en Norteamérica. Estas restricciones habrían conducido a una fuerte reducción del tamaño poblacional, modelando así el patrón de diversidad genética de las poblaciones ancestrales a amerindios actuales, es decir, durante esta segunda etapa se habrían originado los haplogrupos fundadores amerindios. Finalmente, la observación por parte de estos investigadores de ciertas huellas en el genoma mitocondrial características de un rápido aumento demográfico hacia los 19.000 años AP –paralelamente con el final del UMG- constituye una evidencia cuya interpretación apunta a situar a este momento como el inicio del movimiento migratorio hacia América. En este escenario, la vía propuesta para la migración es una ruta costera, dada la ausencia de un corredor libre de hielo hacia los 19.000 años AP que permitiera el ingreso al continente americano por tierra. Al mismo tiempo, esta vía de poblamiento constituye la única ruta para una posible migración rápida hacia el sur, el cual es un evento necesario para explicar la presencia de sitios antiguos como Monte Verde en Chile.

Este modelo reciente de poblamiento se halla sustentado por evidencias de presencia humana en el extremo norte de Siberia, datadas en  $27.300 \pm 270$  años AP en el sitio arqueológico Yana RHS, y; por evidencias paleoecológicas sobre la extensión y alcance de las calotas glaciares antes y después del UMG. Sin embargo, la variabilidad genética observada en poblaciones amerindias actuales de América del Norte y de Sudamérica muestra un patrón inconsistente o incluso netamente opuesto, cuando se lo compara con los patrones que exhiben otros parámetros de diversidad poblacional, tales como la diversidad morfológica o la diversidad lingüística. Cabe preguntarse en este punto si estos resultados paradójicos reflejan una historia evolutiva disociada para las dos partes del continente o si, por el contrario, son un

artefacto de una metodología inadecuada para evaluar la diversidad genética, lingüística y/o morfológica.

## 6. CONCLUSIONES

Las preguntas concernientes al origen y evolución de los primeros pobladores de América constituyen un tema de investigación apasionante que parece no conocer fin. Desde el siglo XVI hasta nuestros días, los ejes de debate se alternan rítmicamente según los nuevos enfoques disciplinares asumidos en cada etapa y los datos y metodologías disponibles. En efecto, desde las propuestas especulativas de De Acosta, numerosos aspectos de esta compleja trama han podido ser precisados. Entre ellos la variabilidad morfológica escondida en lo que Alès Hrdlička consideraba una única raza, las ventanas temporales posibles para las migraciones, la caracterización parcial de la diversidad genética y de lenguas típicamente amerindias al igual que sus distribuciones, el desarrollo tecnológico alcanzado por sus pueblos y la caracterización del paleoambiente en el que vivieron, constituyen nuevos datos que arqueólogos, antropólogos, lingüistas y genetistas no pueden ignorar a la hora de formular sus modelos de poblamiento.

Sin embargo, la dificultad para integrar en un modelo consistente los diferentes tipos de datos, así como las controversias aún no resueltas entre distintas hipótesis, ponen de manifiesto la existencia de limitaciones teóricas y metodológicas de las disciplinas involucradas a la hora de reconstruir el pasado de las primeras poblaciones de América. Entre ellas, el estado altamente polarizado de la discusión entre aquellos defensores de un poblamiento temprano y aquellos defensores de un poblamiento tardío, a pesar del cierre aparente del debate "Clovis First", es aun hoy en día un escollo a superar. Los estudios multidisciplinarios parecen encerrar la clave para resolver este prolongado conflicto. Sin embargo, a más de 30 años de estudios exhaustivos sobre el primer poblamiento humano de América en el ámbito de, al menos, cuatro disciplinas científicas diferentes, la fragmentación de los enfoques y los limitados abordajes multidisciplinarios no han permitido profundizar nuestra comprensión de este complejo proceso. En este sentido, puede observarse que aquellos trabajos que apuntan a dar nuevas respuestas continúan centrándose en el análisis de una única línea de evidencias, reflejando un insuficiente diálogo entre los distintos campos disciplinares involucrados en el tratamiento de este tema. Si bien es claro que el poblamiento de América fue un proceso relativamente rápido cuya complejidad es apenas comprendida y muy difícilmente modelizable, consideramos que un enfoque integrador de las diferentes aproximaciones disciplinares cuyo eje conductor sea la biología evolutiva, podría contribuir significativamente a la comprensión de la historia del poblamiento de nuestro continente como un proceso multifactorial de cambio en el tiempo, en el cual el hombre ha sido su actor principal.

## 7. REFERENCIAS

1. De Acosta, J. **1792**. Historia natural y moral de las indias. Aznar, *Ed.* Madrid.
2. Lyell, C. **1830**. Principles of Geology. J. Murray, *Ed.* Londres.
3. Darwin, C. **1859**. On the origin of species by means of natural selection. J. Murray, *Ed.* Londres.
4. Darwin, C. **1871**. The descent of man and selection in relation to sex. J. Murray, *Ed.* Londres.

5. Adovasio, J.M. & Page, J. **2002**. The first Americans: in pursuit of archaeology's greatest mystery. Random House Inc., *Ed.* New York.
6. Meltzer, D.J. et al. **1997**. On the Pleistocene Antiquity of Monte Verde, Southern Chile. ***American Antiquity***, 62, 659-663.
7. Neves, W.A., et al. **2007**. Early Holocene human skeletal remains from Sumidouro Cave, Lagoa Santa, Brazil: History of discoveries, geological and chronological context, and comparative cranial morphology. ***Journal of Human Evolution***, 52, 16-30.
8. Campbell, L. **2000**. American Indian Languages. Oxford University Press, *Ed.*
9. Schurr, T.G. & Sherry, S.T. **2004**. Mitochondrial DNA and Y Chromosome Diversity and the Peopling of the Americas: Evolutionary and Demographic Evidence. ***American Journal of Human Biology*** 16, 420-439.
10. Fagundes, N.J. et al. **2008**. Mitochondrial Population Genomics Supports a Single Pre-Clovis Origin with a Coastal Route for the Peopling of the Americas. ***American Journal of Human Genetics*** 82, 583-592.

---

## 7.2

### **Evolución de la Fauna de Mamíferos de América del Sur: Evidencias, Interrogantes e Interpretaciones**

**Edgardo Ortiz-Jaureguizar**

*Laboratorio de Sistemática y Biología Evolutiva (LASBE) Facultad de Ciencias Naturales y Museo (UNLP) Paseo del Bosque S/Nº B1900FWA La Plata. Argentina.*

#### **RESUMEN**

En este trabajo se pone de manifiesto que el proceso de integración y desarrollo de la fauna de mamíferos de América del Sur está íntimamente vinculado con los eventos geodinámicos que afectaron al continente durante el lapso Jurásico Medio-Superior y la Actualidad. Estos eventos modelaron la geografía del continente y, de este modo, dirigieron los cambios composicionales mayores de su fauna de mamíferos.

Los objetivos de este artículo son: (1) analizar los principales hitos en el proceso de integración y desarrollo (cenogénesis) de la fauna de mamíferos de América del Sur; y (2) señalar las principales líneas de investigación que permitan dar cuenta de los interrogantes aun vigentes, así como de la corroboración o refutación de las hipótesis propuestas. En consecuencia, se analizan los dos principales episodios en que puede dividirse el proceso cenogenético: el Gondwánico (Cretácico Superior) y el Sudamericano (Paleoceno Inferior-Actualidad). Asimismo, se plantean los interrogantes surgidos a partir de los hallazgos aislados de unos pocos taxones en sedimentos patagónicos, unos del Jurásico Medio-Jurásico Superior, y el restante del Cretácico Inferior.

Los mamíferos que integran el Episodio Gondwánico se caracterizan por su acendrado endemismo (a nivel de familias e incluso de categorías mayores) y por el hecho de haber sobrevivido mucho más tiempo que sus congéneres del Hemisferio Norte. Esto habla de la existencia de un prolongado aislamiento de la fauna sudamericana durante la mayor parte del Mesozoico, el cual parece haber sido interrumpido por la aparición de un avanzado multituberculado (¿cimolodonte?) en el Cretácico Superior de Patagonia. La presencia de este potencial inmigrante norteamericano antecede el arribo masivo, a finales del Cretácico Superior y comienzos del Paleoceno Inferior, de los marsupiales y placentarios, provenientes, como el ya mencionado multituberculado, de América del Norte. La llegada de los marsupiales y placentarios ocurre aparentemente en un intervalo de unos 9 Ma., durante el cual el registro de mamíferos es muy escaso. Asimismo, durante este lapso se habría producido la casi completa extinción de los mamíferos del Episodio Gondwánico, persistiendo solamente en los inicios del Episodio Sudamericano una familia de no-tribosfénicos (los gondwanatherios sudamerícidos) y una familia de pre-tribosfénicos (los driolestoideos peligrótidos), a los cuales se suma la presencia única de un monotrema ornitorrínquido, probablemente emigrado de Australia.

Por su parte, el Episodio Sudamericano se caracteriza por el predominio de los placentarios y marsupiales y por el arribo, en oleadas diacrónicas y procedentes de diferentes continentes, de los roedores caviomorfos y los primates platirrininos (ambos de origen africano) y, más tarde, de los placentarios que tomaron parte del Gran Intercambio Biótico Americano. Este Episodio, en el que los cambios composicionales de la fauna de mamíferos están íntimamente ligados a los cambios climático-ambientales vinculados con

la geodinámica de la placa sudamericana, culmina con la extinción de la megafauna a finales del Pleistoceno y comienzos del Holoceno, posiblemente por la combinación de causas intrínsecas y extrínsecas a la biota (e.g., cambios climático-ambientales, presión humana).

Finalmente, puede señalarse que los mayores interrogantes referidos a la cenogénesis de la fauna de mamíferos sudamericanos están planteados en el Jurásico, el Cretácico Inferior y el hiato Cretácico Superior-Paleoceno Inferior, así como en la vinculación de la fauna del Eoceno de la península antártica con las faunas paleógenas de América del Sur austral.

## 1. INTRODUCCIÓN

La distribución de los seres vivos en una determinada región del planeta es la resultante de la acción de numerosos agentes causales. En líneas generales, se han reconocido tres grandes grupos de factores que interactúan entre sí: abióticos (e.g., clima, geografía), bióticos (e.g., capacidad dispersiva, tolerancia ecológica) y temporales. Es por esta razón que la biogeografía posee dos componentes, uno horizontal (o ecológico) que incluye todas aquellas causas que hacen que los organismos ocupen un área determinada en un momento dado, y otro vertical (o temporal o histórico) que hace referencia a los cambios corológicos que, a través del tiempo, sufren los seres vivos como consecuencia de la variación de los restantes factores.

La actual fauna de mamíferos de América del Sur es, como la de los restantes continentes, la resultante de un largo y dinámico proceso histórico durante el cual distintos elencos de mamíferos interactuaron entre sí y con su entorno. El registro fósil permite reconstruir (con distinto grado de certeza, como se verá más adelante) este proceso, que de acuerdo con las evidencias disponibles se extiende desde la parte más tardía del Jurásico Medio (o la más temprana del Jurásico Superior) hasta la Actualidad, abarcando un intervalo temporal que supera ligeramente los últimos 160 millones de años (Ma) de la historia de nuestro planeta.

Antes de proseguir con este ensayo, debe destacarse que, al igual que al estudiar cualquier patrón faunístico, los paleontólogos se enfrentan con el hecho de que la información no está homogéneamente distribuida ni en el espacio ni en el tiempo. Así, no todos los continentes poseen un registro fósil igualmente abundante, existiendo incluso variaciones dentro de cada uno de ellos. En el caso de América del Sur, el registro de los mamíferos (tanto del Mesozoico como del Cenozoico) se halla mayoritariamente restringido al actual territorio continental argentino. No obstante esta aparente deficiencia, el registro argentino ha permitido edificar el más acabado esquema de zonaciones faunísticas para el lapso Cretácico Superior-Cenozoico. Una evidencia de su fortaleza y valor predictivo es que toda vez que se ha registrado una secuencia mamalífera fuera del territorio argentino, la misma ha podido ser referida al (o acomodada en el) esquema de zonaciones faunísticas derivado del registro argentino. Consecuentemente, este registro es lo suficientemente sólido como para permitir a los paleontólogos comprender los grandes lineamientos del proceso de origen y desarrollo de la fauna de mamíferos de América del Sur y formular hipótesis que puedan ser confrontadas con las evidencias que en el futuro se obtengan de las nuevas secuencias mamalíferas provenientes del

resto del continente (para una mejor comprensión de esta problemática, véanse los artículos listados en el apartado 7. Lecturas recomendadas).

La composición y variación del elenco de mamíferos sudamericanos a lo largo del tiempo, así como sus interacciones, están fuertemente signadas por los fenómenos geodinámicos, responsables de los prolongados períodos de aislamiento geográfico del continente (y de los cortos intervalos de ruptura del mismo) así como de los eventos diastróficos causantes, por ejemplo, del levantamiento de la Cordillera de los Andes y de los diversos períodos de ascenso y descenso del nivel del mar, como el del “Mar Salamanquense” durante el Cretácico Superior-Paleoceno Inferior o el del “Mar Paranense” durante el Mioceno Medio, ocupando prácticamente los mismos territorios sobre los que se extendió previamente el “Mar Salamanquense” (véase más adelante).

Es importante destacar que hasta mediados de la década de 1980 el registro de los mamíferos sudamericanos estaba casi exclusivamente restringido al Cenozoico. Es entonces cuando este registro se ve inesperadamente enriquecido por los hallazgos de mamíferos cretácicos no-tribosfénicos y pre-tribosfénicos que realizaron José F. Bonaparte y su equipo del Museo Nacional de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia” en Patagonia. Estos descubrimientos son seguidos luego por los hallazgos, también en Patagonia, de novedosos mamíferos paleocenos (no-tribosfénicos, pre-tribosfénicos y tribosfénicos) realizados por Rosendo Pascual y sus colaboradores de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo (MLP) de la Universidad Nacional de La Plata. A estas sorprendentes novedades se suman ya en el siglo XXI, los descubrimientos de mamíferos jurásicos [(no-tribosfénicos y ¿tribosfénicos?)] patagónicos realizados por un equipo de investigadores del Museo Paleontológico “Egidio Feruglio” de Trelew y la Universidad de Louisville (EEUU), así como los hallazgos realizados por los paleontólogos del MLP, quienes dieron a conocer un nuevo mamífero no-tribosfénico en el Cretácico Superior patagónico, y novedosos mamíferos no-tribosfénicos y tribosfénicos en el Eoceno de la península antártica, por ese entonces vinculada geológicamente con el extremo austral de América del Sur (1,2).

El descubrimiento de los nuevos mamíferos sudamericanos, particularmente los no y pre-tribosfénicos (e.g., gondwanaterios, monotremas, eutriconodontes, driolestoides) del Mesozoico y el Paleógeno, ha obligado a reinterpretar las hipótesis que daban cuenta de la cenogénesis de la fauna de mamíferos de Sudamérica, ninguna de las cuales contaba con la singular composición taxonómica jurásica y cretácica(3,4). Estas reinterpretaciones, basadas en un registro novedoso, sorprendente pero aun incompleto, han permitido, por un lado refutar muchas de las hipótesis previas y, por el otro, elaborar otras nuevas que colocan a los nuevos hallazgos en el contexto de la evolución geológica y biogeográfica del continente, al tiempo que abren nuevos interrogantes y orientan la exploración paleontológica hacia la búsqueda de nuevas evidencias que permitan su corroboración o refutación futura.



## 2. OBJETIVOS

Sobre la base de lo señalado en la introducción, los objetivos de este artículo son: (1) analizar los principales hitos en el proceso de integración y desarrollo de la fauna de mamíferos de América del Sur; y (2) señalar las principales líneas de investigación que permitan dar cuenta de los interrogantes aun vigentes, así como la corroboración o refutación de las hipótesis propuestas.

## 3. LOS PRINCIPALES HITOS EN LA CENOGENESIS DE LOS MAMÍFEROS SUDAMERICANOS.

De acuerdo con las evidencias disponibles, la historia de los mamíferos sudamericanos puede ser dividida en dos episodios principales, el Episodio Gondwánico (EG) y el Episodio Sudamericano (ES), acaecidos en dos escenarios geológico-geográficos diferentes. Ambos episodios se hallan separados por un hiato en el registro de aproximadamente 9 Ma. (*i.e.*, entre el Cretácico más tardío y el Paleoceno más temprano) y los mamíferos que los integran prácticamente no guardan relación entre sí (1).

El EG está representado en el registro por los mamíferos del Cretácico Tardío patagónico. Estos mamíferos son conocidos principalmente por molares y mandíbulas pertenecientes a una relativamente diversa fauna compuesta exclusivamente por grupos no-tribosfénicos (*e.g.*, eutriconodontes, multituberculados, gondwanaterios) y pre-tribosfénicos (*i.e.*, simetrodotes y driolestoides). Las características más distintivas de los mamíferos que integran el EG son dos: (a) un elevado grado de endemismo (a nivel de familias e incluso de categorías mayores); y (b) su presencia en el Cretácico Superior, ya que con la excepción de los gondwanaterios (hasta el momento desconocidos en el Hemisferio Norte) y los multituberculados (ampliamente distribuidos por entonces en dicho Hemisferio) todos los grupos estaban ya extinguidos en los sedimentos coetáneos del Hemisferio Norte, donde sólo se registran mamíferos tribosfénicos (marsupiales y placentarios) además de los ya mencionados multituberculados (5).

La marcada diferencia composicional existente entre las faunas de América del Norte y del Sur ha sido explicada como la resultante del aislamiento entre ambos continentes durante el Cretácico (1), el cual aparentemente fue interrumpido brevemente durante el Cretácico Superior por la emergencia de una cadena de islas producto de la tectónica caribeña (6). Esta misma tectónica iba a culminar, muchos millones de años más tarde (en el Plioceno Superior-Pleistoceno Inferior) con la emergencia final del istmo de Panamá, causante del denominado "Gran Intercambio Biótico Americano", que permitió un gran flujo migratorio bidireccional entre ambos continentes y el delineamiento básico de sus actuales faunas de vertebrados (3,7).

La existencia de un archipiélago transitorio que acortó las distancias entre ambas Américas, ha sido propuesta como la causante de un intercambio reducido y selectivo de vertebrados durante el Cretácico Superior (1,6). En el caso de los mamíferos, la presencia de un multituberculado ¿cimolodonte? en el Cretácico Superior de Patagonia (5) anticipa el arribo de los marsupiales y placentarios, que están ausentes en los sedimentos Cretácicos de Patagonia

pero que se registran unos pocos millones de años más tarde, en los sedimentos cretácicos tardíos de Bolivia (8) y en los paleocenos de Patagonia, Bolivia y Perú (1) y que monopolizarán la fauna sudamericana durante el ES (véase más adelante).

El hallazgo y descripción de los mamíferos del EG dio por tierra con las hipótesis biogeográficas vigentes a finales del siglo XX. En efecto, en las hipótesis simpsonianas se indicaba explícitamente que los mamíferos tribosfénicos habían arribado al continente sudamericano a finales del Cretácico y comienzos del Paleoceno. Sin embargo, estaba implícito que dichos inmigrantes (los "Old Island Hoppers" o antiguos saltadores de islas) habían legado a un continente que se hallaba huérfano de mamíferos. Las hipótesis de Simpson estaban sustentadas en sus profundos conocimientos de la fauna de mamíferos cenozoicos sudamericanos, así como de su no menos detallado conocimiento de los mamíferos mesozoicos del Hemisferio Norte. Esto le permitió conectar a los primitivos mamíferos terios hallados en el Paleoceno Superior sudamericano con sus congéneres norteamericanos del Cretácico Superior- Paleoceno y postular su arribo a Sudamérica a través de una cadena de islas más tarde hundidas. Sin embargo, no sospechó siquiera que en América del Sur persistirían durante el Cretácico Superior y el Paleoceno más inferior (períodos en cuyos sedimentos continentales no habían sido hallados aun mamíferos) grupos como los eutriconodontes (Cretácico Superior) o los drioletosteoideos (Cretácico Superior-Paleoceno Inferior), así como tampoco los monotremas (Paleoceno Inferior), para ese entonces solo registrados en Australia, o los gondwanaterios (Cretácico Superior-Paleoceno Inferior en Sudamérica y Eoceno Medio de la península antártica) en esos tiempos no descubiertos aun. Por otra parte, esta composición tampoco pudo ser prevista por Reig(4) quien basado en los registros de la época y su conocimiento sobre los terápsidos avanzados del Triásico sudamericano, postuló que durante el Cretácico Sudamérica estuvo habitada por linajes de estirpe sudamericana autóctona (en su esquema, marsupiales y xenartros) conjuntamente con placentarios provenientes de Laurasia, todos los cuales integraban su "Protohorofauna Gondwánica". Como se ha visto, los registros patagónicos tampoco sustentan estas dos hipótesis. Una consideración especial merecen los xenartros (actualmente representados por las mulitas, los perezosos y los osos hormigueros) cuyo registro más antiguo data del Paleoceno Superior sudamericano, pero que plausiblemente pueden haberse diferenciado en el Cretácico, ya sea en Sudamérica o en alguno de los restantes continentes gondwánicos, como África o la Antártida (1).

Antes de finalizar con el EG, es necesario destacar que con posterioridad al hallazgo de los mamíferos del Cretácico Superior patagónico que le dieron sustento, se descubrieron y describieron restos aislados de mamíferos en sedimentos patagónicos del Cretácico Inferior y del Jurásico Medio-Superior. En ausencia de otros mamíferos acompañantes, estos registros, que a continuación serán comentados brevemente, sugieren la existencia de otros dos episodios faunísticos mesozoicos (cuyas vinculaciones con el EG no están resueltas) o la extensión del EG hasta el Jurásico Medio-Superior, dependiendo de las relaciones filogenéticas de los nuevos taxones con aquellos del Cretácico Superior y el Paleoceno Inferior.

Los primeros indicios de la presencia de mamíferos en Sudamérica provienen del Jurásico Medio-Superior de Patagonia. Allí, a comienzos de la década de 1960 Casamiquela describió unas huellas que asignó a un mamífero desconocido. Posteriormente, ya en la década actual, Rauhut y colaboradores, y Rougier y colaboradores describieron, en sedimentos patagónicos de la misma edad, los restos de dos especies de australosfénidos y una especie de triconodonte (1,9,10). La ausencia de otros mamíferos en los mismos sedimentos hace que estos registros aislados, pese a su innegable trascendencia sistemática y evolutiva, no brinden suficiente información como para vincularlos con las faunas de el EG y el EP.

En el caso del triconodonte, se trata de una forma generalizada carente de caracteres derivados comunes con los triconodontes del Cretácico Superior sudamericano y con los del Cretácico Inferior de los restantes continentes (10). En el caso de los australosfénidos, si resultase corroborada su disputada pertenencia al mismo clado al que pertenecen los monotremas, ello indicaría que existe una raíz común entre los mamíferos mesozoicos y los del Paleoceno Inferior de Sudamérica. En cualquier caso, es notable que los molares de los australosfénidos alcanzaron una morfología similar a la observada en los típicos mamíferos tribosfénicos del Hemisferio Norte, pese a lo cual no han sido registrados más allá del Jurásico (con la probable excepción de los muy derivados monotremas si, como ya se mencionó, integrasen un mismo clado). Esto es llamativo, ya que clásicamente se ha considerado que la tribosfenia es una característica clave que permitió a los mamíferos que la poseían perfeccionar su mecánica masticatoria y adquirir una ventaja competitiva frente a los no-tribosfénicos y los pre-tribosfénicos, a quienes reemplazaron como los tipos dominantes en las faunas del planeta.

El siguiente registro de un mamífero mesozoico sudamericano proviene de sedimentos patagónicos del Cretácico Inferior. Este registro aislado, separado de los jurásicos por unos 30 Ma, y de aquellos del Cretácico Superior por unos 50 Ma, corresponde a un esqueleto parcialmente completo de un avanzado mamífero pre-tribosfénico (1). Esta especie no guarda relación alguna con aquellas del Jurásico y tampoco pertenece a los mismos clados pre-tribosfénicos hallados en el Cretácico Superior. Por el contrario, su morfología la vincula con grupos holárticos más relacionados con los tribosfénicos basales, ninguno de los cuales ha sido hallado aun en América del Sur. Como en el caso de los australosfénidos, el carácter avanzado de algunas de sus características esqueléticas y su ausencia (o la de sus potenciales descendientes directos) en los sedimentos sudamericanos del Cretácico Superior y el Cenozoico, plantea serios interrogantes acerca de su origen biogeográfico y las razones de la aparente esterilidad de su linaje, hecho curioso si se considera que esta especie es parte de un clado en el cual también se hallan los marsupiales y placentarios, aunque dentro de este ocupa una posición basal respecto al clado que reúne a los marsupiales y placentarios (1,5).

Regresando en el tiempo hasta el Cretácico Superior, los Episodios Gondwánico y Sudamericano se hallan separados, como se mencionó en párrafos anteriores, por un hiato de unos 9 Ma. Durante este intervalo casi sin registro de mamíferos, debió producirse el arribo a Sudamérica de los marsupiales y placentarios provenientes de América del Norte, y tuvo lugar la casi total extinción de los mamíferos que caracterizaron al EG. La llegada de los

marsupiales ha sido corroborada por la presencia de un polidolopimorfio en sedimentos patagónicos del Paleoceno más inferior (1). Asimismo, durante este lapso se habría producido la cladogénesis basal de los marsupiales sudamericanos, la emigración de algunos de estos marsupiales hacia Australia, y los primeros pasos de la cladogénesis de los placentarios que van a caracterizar a la fauna sudamericana durante la mayor parte del Cenozoico (e.g., notoungulados, litopternos) (1). También durante este lapso ocurrió la masiva extinción del límite K/T, de modo que la casi total extinción de los mamíferos del EG puede haber sido una manifestación local de dicha extinción masiva (1). Sin embargo, otros eventos pueden haber tenido influencia en esta extinción, como por ejemplo la regresión del “Mar Salamanquense” (que durante la parte final del Cretácico Superior y el Paleoceno Inferior cubrió gran parte de los territorios continentales de Argentina, Paraguay, Bolivia y Perú) o la presión competitiva de los marsupiales y placentarios (1). Es precisamente sobre las probables causas de la extinción de los mamíferos gondwánicos que el autor de este capítulo, conjuntamente con R. Pascual, se halla escribiendo actualmente un manuscrito que esperamos vea la luz en el transcurso del año próximo.

Finalmente, el ES se extiende desde la parte final del Paleoceno Inferior hasta la Actualidad (1). Durante este período la fauna de mamíferos de Sudamérica se halla dominada por los descendientes de los marsupiales y placentarios arribados al continente durante el hiato Cretácico Superior-Paleoceno Inferior, a los que se suman durante el Eoceno Superior-Oligoceno los roedores caviomorfos y los primates platirinos provenientes de África y, a partir del Mioceno Superior, los mamíferos norteamericanos que participan del Gran Intercambio Biótico Americano (e.g., prociónidos, félidos, tayasúidos, camélidos, équidos, cricétidos) (1,3,4,7).

Sobre el EP, el mejor conocido de la cenogénesis de la fauna de mamíferos de América del Sur, se han escrito numerosos trabajos de revisión, algunos de los cuales fueron mencionados en el párrafo anterior y otros se mencionan más adelante en el apartado 7 (Lecturas recomendadas). A modo de síntesis, puede señalarse que durante todo el EP los cambios composicionales de la biota están fuertemente signados por la deriva hacia el Oeste y el Norte de la placa sudamericana, que la aleja progresivamente del África y la Antártida y la acerca paulatinamente hacia América del Norte. Esta deriva de la placa sudamericana produce pulsos de actividad orogénica en su margen occidental (más activo en la zona austral durante el Paleógeno y más activo en la zona centro-norte durante el Neógeno). La deriva, sumada al movimiento de rotación hacia el este de la península antártica, desconectan al extremo austral de Sudamérica de esta última hace unos 30 Ma. Esto produce la profundización del Pasaje de Drake y el establecimiento de la corriente fría circumpolar, causante del inicio del englazamiento final de la Antártida (2).

Por otra parte, las fases Quechua (Mioceno Medio) y Diaguíta (Plioceno) de la orogenia andina (producto del choque de la placa Sudamericana con la de Nazca) son las principales responsables de la aridización de la porción austral de Sudamérica a partir del Mioceno Superior. Esta aridización, sumada al influjo de los vientos fríos provenientes de la Antártida, produce un cambio en las condiciones climático-ambientales, retrayéndose hacia la zona intertropical los ambientes más húmedos y cerrados (e.g., bosques húmedos, selvas) y

expandiéndose hacia el sur los ambientes más fríos y abiertos (e.g., pastizales, estepas). Los mamíferos acompañan este proceso, reduciéndose la importancia de los tipos ramoneadores, escansoriales y arborícolas, e incrementándose aquella de los tipos pastadores y cursoriales. De este modo, en Sudamérica los mamíferos siguen, al igual que sucede con aquellos de los continentes del Hemisferio Norte, las principales tendencias climático-ambientales del Cenozoico.

El arribo y la diversificación de los inmigrantes norteamericanos antes y después del establecimiento del istmo de Panamá hace unos 3 Ma, no es la causa de la extinción de los mamíferos sudamericanos, tal como había sido planteado en estudios previos (3,6). La mejor calidad de los registros fósiles, la mayor precisión en las dataciones de las formaciones portadoras y la determinación de los requerimientos ecológicos de los diferentes grupos, han mostrado que no es posible reconocer un desplazamiento competitivo (porque las equivalencias ecológicas no son tales o porque los supuestos competidores arriban a Sudamérica luego de la extinción de sus supuestos pares ecológicos) sino, en el mejor de los casos, un reemplazo oportunista.

Por último, la extinción de la megafauna a finales del Pleistoceno y comienzos del Holoceno es un fenómeno complejo, que puede responder a causas tan diversas como los cambios climático-ambientales, la presión de caza de los paleoindios, la combinación de ambas, la alteración y/o destrucción de los ambientes producida por los paleoindios, o las respuestas homeostáticas a las altas tasas de originación registradas en el Pleistoceno Inferior.

#### 4. CONCLUSIONES

De acuerdo con lo visto en los apartados previos, el proceso de integración y desarrollo de la fauna de mamíferos de América del Sur está íntimamente vinculado con los eventos geodinámicos que afectaron al continente durante el lapso que media entre el Jurásico Medio-Superior y la Actualidad. Estos eventos modelaron la geografía del continente y, de este modo, dirigieron los principales cambios composicionales de la fauna de mamíferos. Los hallazgos de mamíferos en el Jurásico Medio-Superior y en el Cretácico Inferior de Patagonia demandan nuevos trabajos de campo, tendientes a encontrar los taxones que permitan inferir, aunque más no sea de un modo muy general, la composición taxonómica de las faunas de las que formaran parte, a fin de insertarlas en el conjunto de Episodios que han sido reconocidos en la cenogenia de la fauna de mamíferos de Sudamérica (EG y EP). Deben redoblarse los trabajos de campo en los sedimentos continentales que representan el hiato Cretácico Superior-Paleoceno Inferior, a fin de poder interpretar más detalladamente las causas de la casi completa extinción de los mamíferos del EG y establecer su relación con la masiva extinción del límite K/T y con procesos geodinámicos tales como la regresión del "Mar Salamanquense" o la influencia de la tectónica caribe. Lo mismo debe hacerse con la fauna del Eoceno Medio de la Antártida, a fin de permitir su incorporación a la cenogénesis de la fauna de mamíferos de América del Sur. Finalmente, deben incrementarse los trabajos de campo en las secuencias mamalíferas mesozoicas y cenozicas extra-argentinas, a fin de acrecentar no solo el listado

taxonómico sino también la información corológica. De este modo, las interpretaciones derivadas del rico registro austral del continente podrán ser contrastadas con nuevas evidencias, lo cual derivará en un mejor y más sólido conocimiento sobre el proceso de origen y el desarrollo de la fauna de mamíferos de América del Sur.

**5. AGRADECIMIENTOS** El autor agradece a Paula Posadas la lectura crítica del manuscrito original. Asimismo, desea expresar su reconocimiento a Rosendo Pascual, su maestro y mentor, quien a lo largo de más de veinticinco años de estudio y discusiones compartidas lo ha guiado en el análisis del proceso de integración y desarrollo de la fauna de mamíferos de América del Sur. Este artículo ha sido desarrollado en el marco de los proyectos financiados por la ANPCyT (PICT 26298) y el CONICET (PIP 5604) de Argentina. El autor es miembro de la Carrera del Investigador Científico y Tecnológico del CONICET, cuyo continuo apoyo agradece especialmente.

## 6. REFERENCIAS

1. Pascual, R. and Ortiz-Jaureguizar, E. **2007**. The Gondwanan and South American Episodes: Two major and unrelated moments in the history of the South American mammals. *Journal of Mammalian Evolution*, 14: 75-137.
2. Kielan-Jaworowska et al. **2007**. First? cimolodontan multituberculate mammal from South America. *Acta Palaeontologica Polonica*, 52: 257–262.
3. Simpson, G.G. **1980**. Splendid Isolation. The curious history of South American mammals. Yale University Press.
4. Reig, O.A. 1981. Teoría del origen y desarrollo de la fauna de mamíferos de América del Sur. *Monographiae Naturae*, 1: 1-162.
5. Kielan-Jaworowska et al. **2004**. Mammals from the age of Dinosaurs. Origins, evolution, and structure. Columbia University Press.
6. Ortiz-Jaureguizar, E. and Pascual, R. **2007**. The tectonic setting of the Caribbean Region: Key in the radical Late Cretaceous-Early Paleocene South American land-mammal turnover. *Cuadernos del Museo Geominero*, 8: 301-307.
7. Stehli, F.G. and Webb, S.D. (Eds.) **1985**. The Great American Biotic Interchange. Plenum Press.
8. Gayet, M. et al. **2001**. Middle Maastrichtian vertebrates (fishes, amphibians, dinosaurs and other reptiles, mammals) from Pajcha Pata (Bolivia). Biostratigraphic, palaeoecologic and palaeobiogeographic implications. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 169: 39–68.
9. Rougier, G.W. et al., **2007**. New Jurassic mammals from Patagonia, Argentina: a reappraisal of Australosphenidan morphology and interrelationships. *American Museum Novitates*, 3566: 1–54.
10. Rougier, G.W. et al. **2007**. First Jurassic triconodont from South America. *American Museum Novitates*, 3580: 1-20.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Pascual, R. 1996. Late Cretaceous-Recent land mammals. An approach to South American geobiotic evolution. *Mastozoología Neotropical*, 3 (2): 133-152.

- Arratia, G. (Edit.) 1996. Contributions of Southern South America to Vertebrate Paleontology. **Münchner Geowissenschaftliche Abhandlungen**, Reihe A: Geologie und Paläontologie, Band 30: 1-340.
- Ortiz-Jaureguizar, E. and Cladera, G.A. 2006. Paleoenvironmental evolution of southern South America during the Cenozoic. **Journal of Arid Environments**, 66: 498–532.

---

# 7.3

## Historia Evolutiva de los Dinosaurios Titanosaurios Europeos

Verónica Díez Díaz<sup>1</sup>, Xabier Pereda Suberbiola<sup>1</sup> y José Luis Sanz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, Facultad de Ciencia y Tecnología, Dpto. Estratigrafía y Paleontología, Apartado 644, 48080 Bilbao, España. <sup>2</sup>Universidad Autónoma de Madrid, Facultad de Ciencias, Dpto. Biología, Ud. Paleontología, 28049 Cantoblanco, Madrid, España.

### RESUMEN

Los titanosaurios han sido objeto de estudio desde la segunda mitad del siglo XIX, cuando se descubrieron sus primeros restos fósiles. Sin embargo, tal y como ocurre con otros grupos de dinosaurios saurópodos, sólo en los últimos 25 años se ha progresado notablemente en el estudio de sus relaciones filogenéticas. El clado Titanosauria se compone de más de 30 especies, lo que representa cerca de un tercio de la diversidad total de saurópodos actualmente conocida. En Europa, se ha descrito material de titanosaurio de edad Cretácico Inferior, pero los únicos taxones válidos proceden del Cretácico final (Campaniense-Maastrichtiense). La revisión de *Lirainosaurus*, *Ampelosaurus* y *Magyarosaurus*, el primero de ellos descubierto en la Península Ibérica, y el estudio de nuevos ejemplares de titanosaurios europeos son claves para una mejor comprensión de la filogenia e historia evolutiva de este singular grupo de saurópodos.

### 1. INTRODUCCIÓN

Los titanosaurios son dinosaurios saurópodos, es decir, formas cuadrúpedas vegetarianas, que pudieron alcanzar grandes dimensiones. De hecho, entre los titanosaurios se incluyen los vertebrados terrestres de mayor tamaño que han pisado la tierra firme, con formas como *Argentinosaurus*, que pudieron superar los 30 metros de longitud y alcanzar una masa corporal de más de 60 toneladas.

Se han recuperado restos fósiles de titanosaurios en todos los continentes menos en la Antártida (1). Se encuentran presentes en el registro fósil desde el Jurásico Superior hasta el Cretácico Superior, aunque se conocen huellas del Jurásico Medio (2). Es el único clado de Sauropoda que sobrevivió hasta el final del Cretácico.

El clado Titanosauria está representado por más de 30 especies aceptadas actualmente (tras multitud de revisiones), lo que representa aproximadamente cerca de un tercio de la diversidad total de los saurópodos (3).

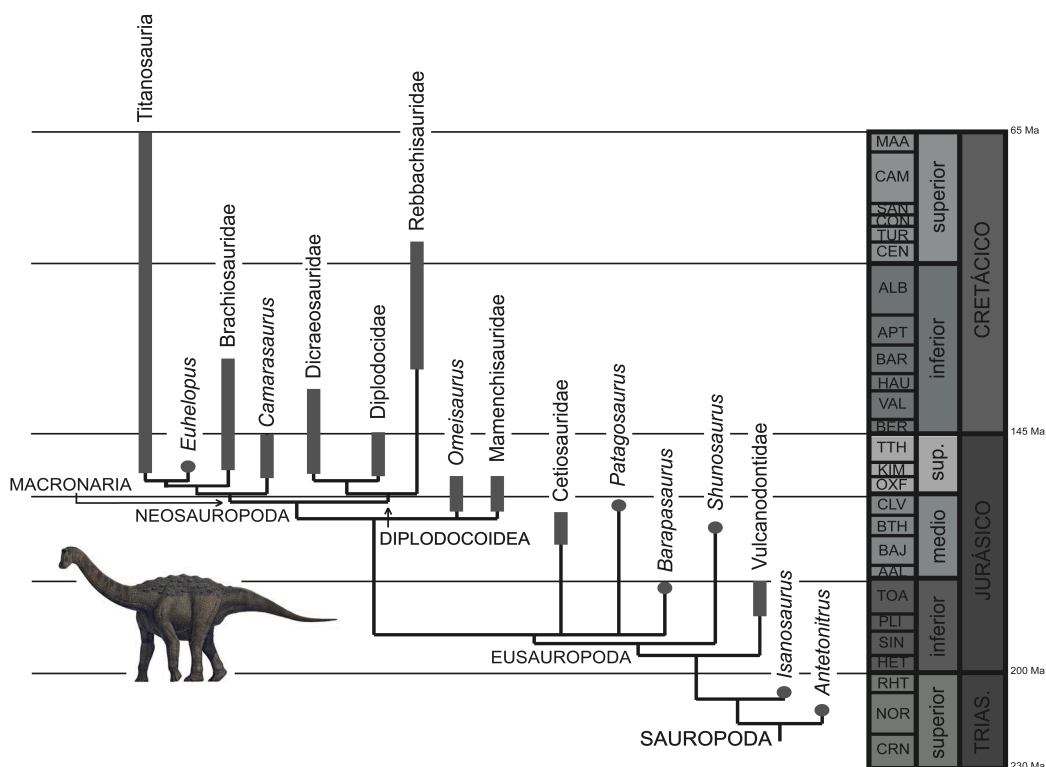
Se han descrito fósiles de titanosaurios desde que Lydekker publicó *Titanosaurus* en 1877. Sin embargo, el estudio de su historia filogenética no



empieza hasta finales del siglo XX (1, 3). A pesar de su amplia distribución y su diversidad morfológica, es un grupo en el que persisten diversos problemas filogenéticos.

## 2. UN GRUPO PROBLEMÁTICO DE SAURÓPODOS

Los primeros análisis cladísticos de saurópodos a gran escala (1, 3, 4 y referencias) coincidieron en identificar un clado denominado Neosauropoda, constituido por dos linajes mayores: Diplodocoidea y Macronaria (Fig. 1).



**Figura 1. Hipótesis de relaciones filogenéticas dentro de Sauropoda.** Modificado de Allain & Läng (2009: *C. R. Palevol* 8: 243-256). Reconstrucción de un titanosaurio obra de Raúl Martín.

Los titanosaurios son macronarios evolucionados. El clado Macronaria incluye a todos los neosaurópodos más relacionados con *Saltasaurus* que con *Diplodocus*. Los macronarios incluyen géneros como *Camarasaurus*, *Brachiosaurus*, *Euhelopus* y Titanosauria (Fig. 1).

En los últimos años han surgido diversas controversias a la hora de estudiar las relaciones filogenéticas entre titanosauriformes (Fig. 2), algunas de las cuales parecen actualmente consensuadas o en vías de serlo. En primer lugar, se ha debatido sobre las afinidades de *Euhelopus* del Jurásico superior de China. Aunque autores como Paul Upchurch (3) han considerado que *Euhelopus* no

forma parte de Neosauropoda (Fig. 1), hoy en día parece ampliamente aceptado que *Euhelopus* es un miembro basal de Titanosauriformes. En segundo lugar, las relaciones de Nemegtosauridae, un clado de saurópodos (*Nemegtosaurus*, *Quaesitosaurus*) del Cretácico terminal de Mongolia son controvertidas. En varios de sus trabajos, Upchurch ha defendido que los nemegtosáuridos son diplodocoideos (3). Aunque el peso de la evidencia actual está a favor de las afinidades titanosaurianas de *Nemegtosaurus* y *Quaesitosaurus*, son significativas las convergencias con los diplodocoideos (1). Otros aspectos problemáticos, como son el origen de los saurópodos o la diversificación de los titanosaurios, están todavía sin resolver.

Titanosauria es un taxón que ha sido definido como “stem-based” (basado en la rama) tanto como “node-based” (basado en el nodo). Sereno (en <http://www.taxonsearch.org/>) considera que la definición activa es una revisión de primer orden de la definición de Wilson y Sereno (1998): “el clado más inclusivo que contiene a *Saltasaurus* pero no a *Euhelopus* y *Brachiosaurus*” (1).

La historia filogenética de Titanosauria es objeto de debate. Esto es principalmente debido al carácter incompleto del registro fósil, la naturaleza fragmentaria y/o disociada de los restos postcraneales (1) y al alto índice de ausencia de cráneos, de gran importancia morfológica y comparativa.

Hasta la fecha, se han publicado más de 20 análisis filogenéticos estudiando las interrelaciones de las especies más conocidas dentro de Titanosauria y de Titanosauria con otros saurópodos (1-5). Las relaciones de parentesco entre titanosaurios son problemáticas y no están actualmente consensuadas.

Otro problema dentro de Titanosauria precisamente proviene de su diagnosis taxonómica. Se ha estudiado la validez del género *Titanosaurus* (4), que dio nombre a taxones de rango más alto, Lydekker acuñó el nombre de *Titanosaurus* (especie tipo: *T. indicus*) para referirse a dos vértebras caudales procélicas y parte de un fémur. Sin embargo, es un género fundado a partir de material fragmentario y no diagnóstico, ya que la procelia en las vértebras caudales se define, según ciertos autores (3), como sinapomorfía de un taxón de rango más alto, y no como autapomorfía del género *Titanosaurus*. Por lo tanto, se considera que la especie tipo *Titanosaurus indicus* es un *nomen dubium* (4).

En su momento se describieron 14 especies del género *Titanosaurus*, de las cuáles sólo 5 son reconocidas como válidas (4). Se propuso abandonar todos los taxones con rango referidos a *Titanosaurus*, al igual que el género. Sin embargo, Titanosauria permanece válido al ser un taxon sin rango y se propone un nuevo esquema taxonómico unificado (6).

Aunque no existe un consenso al respecto, las principales sinapomorfías propuestas para definir a Titanosauria (o grupos inclusivos) son las siguientes: vértebras con una estructura interna esponjosa en forma de panal de abeja, ausencia de articulaciones hiposfeno-hipantro en las vértebras dorsales, vértebras caudales anteriores procélicas, placa esternal de perfil reniforme, radio y ulna robustos, isquion más corto que el pubis, y presencia de osteodermos (1-6).

### 3. LOS TITANOSAURIOS EUROPEOS

A pesar de que los primeros restos fósiles se descubrieron en Europa hace más de un siglo, a los titanosaurios europeos no se les ha dedicado el tiempo suficiente de estudio, debido principalmente a la escasez de material y a su pobre preservación. Se conocen restos desde el Cretácico Inferior (“facies Weald”) hasta el final del Maastrichtiense. *Iuticosaurus* (“*Titanosaurus*”) *valdensis* es el titanosaurio europeo más antiguo que se conoce, procedente del Barremiense de la Isla de Wight, en Inglaterra. No obstante, las últimas revisiones consideran que este taxón es un *nomen dubium* (3, 4). Asimismo, se ha sugerido la presencia de titanosaurios indeterminados en el Barremiense de Teruel, pero se trata de material muy incompleto. La mayor parte del material de titanosaurio europeo ha sido descubierto en depósitos del Campaniense-Maastrichtiense.

Varias publicaciones recopilan estudios y descripciones de los principales restos fósiles de titanosaurios europeos. En este trabajo sólo se mencionarán las especies que se consideran válidas a día de hoy (3):

- *Lirainosaurus astibiae* Sanz, Powell, Le Loeuff, Martínez & Pereda Suberbiola, 1999. Procede de niveles continentales de una unidad indeterminada del Sinclinorio Sudcantábrico en la cantera de Laño (Condado de Treviño, España). Edad: Campaniense superior a Maastrichtiense inferior (5).

- *Ampelosaurus atacis* Le Loeuff, 1995. Proviene de la Formación Marnes rouges inférieures de Campagne-sur-Aude en el Departamento del Aude en Languedoc (Francia). Edad: Campaniense superior a Maastrichtiense inferior (7, 8).

- *Magyarosaurus dacus* (Nopcsa, 1915). Hallado en las Formaciones Sânpetru y Densuş Ciula de la Cuenca de Haţeg en el Condado de Hunedoara, Transilvania (Rumania). Edad: Maastrichtiense inferior (3).

El taxón *Hypselosaurus priscus* Matheron, 1869, definido a partir de material postcraneal de varios individuos descubierto en Provenza, es considerado un *nomen dubium* (3).

***Lirainosaurus astibiae*.** *Lirainosaurus astibiae* se ha descrito en el yacimiento de Laño, en el Condado de Treviño (centro norte de España), pero este taxón podría estar representado en otras localidades de la geografía peninsular. Su estudio es importante ya que está representado tanto por restos craneales (basicráneo, dientes aislados) como postcraneales. El material craneal no ha sido descrito en detalle hasta la fecha.

Los restos que se conservan son, en concreto, un basicráneo, más de un centenar de dientes aislados más o menos fragmentarios (de varios tamaños, y que presentan diferentes morfologías apicales), vértebras de la región cervico-dorsal, dorsales y caudales, elementos apendiculares (húmeros, fémures, tibia, fibula) y de las cinturas (escapulas, coracoides, placa esternal, ilion, pubis), y escudos dérmicos. El holotipo es una vértebra caudal anterior (5).

*Lirainosaurus* es un titanosaurio grácil de porte pequeño (unos 8-10 m de longitud). Según Sanz *et al.* (5), las autapomorfías de *Lirainosaurus astibiae* son: vértebras caudales anteriores con una lámina en la fosa interzigapofisial, vértebras caudales posteriores con la estructura espinopostzigapofisial no proyectada posteriormente, vértebras caudales posteriores con el cóndilo articular restringido y un surco sagital en el cóndilo de la superficie articular posterior, placa esternal con proceso anterolateral, y hoja escapular con una cresta en el margen medial. Hay autores (3) que cuestionan la validez de alguna de estas autapomorfías, ya que se pueden encontrar en otros titanosaurios.

*Lirainosaurus astibiae* ha sido incluido en una decena de análisis filogenéticos, en los que no se ha llegado a una resolución consensuada sobre su posición filogenética. Aún así, todos los autores están de acuerdo en que *Lirainosaurus* es un miembro de Lithostrotia. Lithostrotia ha sido definido como un grupo “node-based” que incluye a *Malawisaurus*, *Saltasaurus*, su ancestro más reciente y todos sus descendientes (3) (Fig. 2). Según el análisis filogenético de Sanz *et al.* (5), *L. astibiae* quedó definido como un eutitanosaurio derivado. La definición de Eutitanosauria, igualmente un grupo “node-based”, es la siguiente: “*Saltasaurus*, *Argyrosaurus*, *Lirainosaurus*, el titanosaurio de Peirópolis (= *Trigonosaurus*), su ancestro común más reciente y todos sus descendientes” (5). Aunque algunos autores han asignado *Lirainosaurus* a Saltosauridae (los titanosaurios más derivados), no hay evidencias sólidas que demuestren su pertenencia a este clado.

Actualmente se está realizando una revisión de los especímenes de *Lirainosaurus astibiae* en el marco de la tesis doctoral del primer firmante de este trabajo, con objeto de mejorar su comprensión morfológica y sistemática dentro de Titanosauria.

***Ampelosaurus atacis*.** *Ampelosaurus atacis* es el titanosaurio europeo mejor conocido (8). Fue definido a partir de restos postcraneales, incluyendo tres vértebras dorsales articuladas (holotipo) y varias otras desarticuladas, costillas dorsales, vértebras caudales, arcos hemales, placas esternales, escápula, coracoides, húmero, ulnas, radio, ilion, pubis, isquion, fémures, tibias, fíbulas, falanges, osteodermos y un diente (7, 8). Recientemente se han descubierto restos craneales y material postcraneal articulado, aún sin describir.

*Ampelosaurus* es un titanosaurio robusto de porte medio a grande (hasta 15 m de longitud). Está caracterizado por presentar los arcos y espinas neurales de las vértebras dorsales orientados posterodorsalmente, formando un ángulo de unos 45° con respecto a la vertical (8). Algunos caracteres descritos en la diagnosis original (por ejemplo, la presencia de osteodermos o una cresta ventral en la superficie medial de la escápula) no parecen adecuados ya que están igualmente presentes en otros titanosaurios (3).

*Ampelosaurus* ha sido incluido en pocos análisis cladísticos. Parece claro que es un miembro de Titanosauria y podría tratarse de un eutitanosaurio derivado (1).

***Magyarosaurus dacus*.** *Magyarosaurus dacus* fue el primer titanosaurio descrito en Europa y asignado por Nopcsa en 1915 al género *Titanosaurus*. En 1932, Huene revisó el material y erigió *Magyarosaurus*, distinguiendo tres especies:

*M. dacus*, *M. hungaricus* y *M. transsylvanicus*. Autores más recientes han asignado todo el material transilvano a *M. dacus* (7), pero los últimos trabajos no descartan la presencia de dos especies (o géneros) de diferente tamaño: *M. dacus* ha sido considerado un titanosaurio enano, cuyo tamaño adulto no superaría los 6 m de longitud.

El material consiste en un fragmento de basicráneo y elementos postcraneales, tanto del esqueleto axial (vértebras y costillas dorsales, vértebras sacras y caudales) como apendicular (escápula, coracoides, placa esternal, húmero, ulna, radio, metacarpianos, pubis, fémur, tibia, fíbula), pertenecientes a varios individuos. Estos restos están diseminados en varios museos e instituciones europeas (Londres, Budapest, Deva y Bucarest). *Magyarosaurus* necesita ser revisado en profundidad.

La diagnosis provisional de *Magyarosaurus* es la siguiente: vértebras caudales anteriores con una fosa ("pit") a cada lado de la línea media entre las bases de las prezigapófisis, y una depresión profunda en las superficies laterales de los arcos neurales (3).

*Magyarosaurus* sólo ha sido incluido en un análisis filogenético, el de Curry Rogers (véase 1), quien considera que es un miembro de Lithostrotia situado dentro del clado de *Rapetosaurus*, junto con este último, *Malawisaurus* y *Nemegtosaurus*.

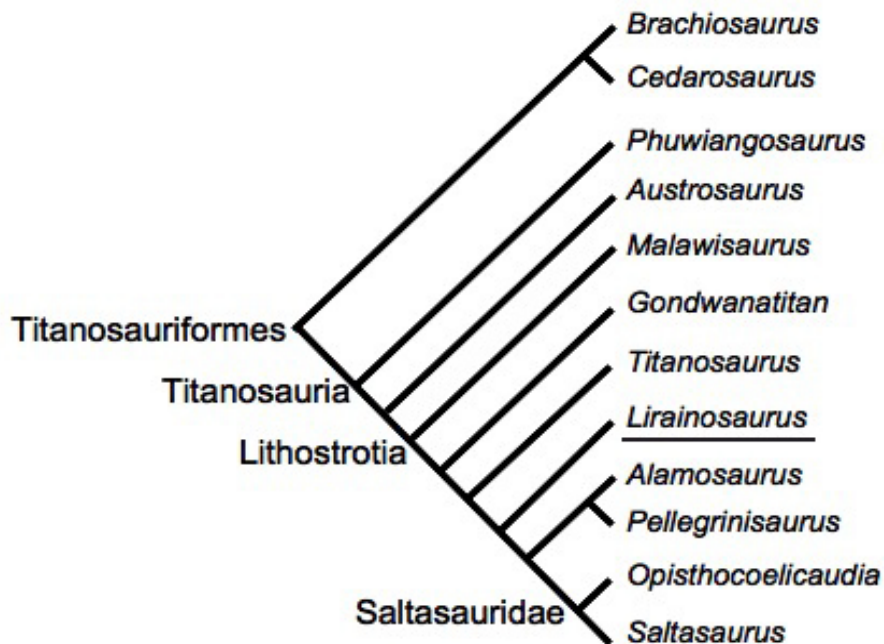


Figura 2. Hipótesis de relaciones filogenéticas de los saurópodos titanosaurios (3).

## 5. IMPLICACIONES BIOGEOGRÁFICAS

Al igual que sucede en otros continentes laurasiáticos, las faunas de saurópodos del Cretácico Inferior de Europa están dominadas por los

macronarios. En la Península Ibérica se han descrito hasta la fecha dos titanosauriformes basales, *Aragosaurus* y *Tastavinsaurus*, ambos definidos en Teruel, y se ha identificado material perteneciente a braquiosáuridos y posibles euhelópodos y camarasáuridos (9). La presencia de Titanosauria en el Cretácico Inferior de Iberia y Europa está basada en material escaso e incompleto.

Como ya se ha comentado, las faunas de saurópodos del Cretácico final (Campaniense-Maastrichtiense) de Europa se componen exclusivamente de titanosaurios.

Existe un intervalo temporal cercano a los 20 millones de años (entre el Cenomaniense y el Campaniense medio-superior) en el que no se han encontrado restos fósiles de titanosaurios en Europa. Según algunos autores, su ausencia en el registro fósil europeo podría explicarse como consecuencia de una extinción regional durante el Cenomaniense seguida de una reinvasión desde los continentes gondwánicos vía África durante el Campaniense (7). No obstante, esta hipótesis no está apoyada en datos filogenéticos, por lo que otras alternativas son posibles. Sesgos tafonómicos o de recogida podrían igualmente explicar la ausencia de fósiles de titanosaurios en las formaciones europeas entre el Cenomaniense y el Campaniense (4). De hecho, se conocen icnitas “de tipo titanosaurio” en estratos del Turoniense-Santoniense de la Región Periadriática. Es necesario mejorar la resolución de la filogenia de los titanosaurios para una mejor valoración y comprensión de su historia paleobiogeográfica (2).

La interpretación de *Lirainosaurus*, *Ampelosaurus* y posiblemente *Magyarosaurus* como miembros de Eutitanosauria es coherente con la distribución geográfica cuasi-cosmopolita de este grupo de Lithostrotia durante el Cretácico.

## 6. CONCLUSIONES

Al menos tres géneros y especies de titanosaurios (*Lirainosaurus astibiae* en la Península Ibérica, *Ampelosaurus atacis* en el Sur de Francia y *Magyarosaurus dacus* en Rumania) están bien representadas en el Campaniense-Maastrichtiense de Europa. Los tres se consideran miembros del clado Lithostrotia pero no pertenecen a Saltasauridae.

La diversidad de titanosaurios en el archipiélago europeo fue probablemente mayor, pudiendo haber coexistido al menos cuatro o cinco especies a finales del Cretácico (8).

En 2007 se descubrió un yacimiento de calidad excepcional en Fuentes (Cuenca, España) (10). El yacimiento de “Lo Hueco” tiene una datación Campaniense superior-Maastrichtiense inferior y presenta un registro fósil importante, con numerosos restos fósiles pertenecientes a varios grupos de vertebrados. Los dinosaurios saurópodos, y más concretamente los titanosaurios, son muy abundantes. Se han encontrado restos aislados y en conexión anatómica de más de una veintena de individuos, pertenecientes a tres taxones diferentes. También se han encontrado fragmentos craneales. El material conguense está actualmente en curso de preparación y estudio.

La revisión de *Lirainosaurus*, *Ampelosaurus* y *Magyarosaurus*, así como el estudio de los ejemplares del yacimiento de “Lo Hueco” son el trampolín

necesario para ayudar a mejorar la comprensión de la filogenia de Titanosauria y la historia evolutiva y paleobiogeográfica de este clado en Europa durante el Cretácico Superior.

**7. AGRADECIMIENTOS** Los autores agradecen las sugerencias y comentarios realizados por un revisor anónimo. V. Díez es beneficiaria de la ayuda predoctoral BES-2008-006370 del Ministerio de Ciencia e Innovación asociada al proyecto de investigación CGL2007-64061/BTE. Asimismo, X. Pereda agradece la ayuda proporcionada por el Gobierno Vasco/EJ (GIC07/14-361).

## 8. REFERENCIAS

1. Curry Rogers, K. & Wilson, J.A., Eds. **2005**. *The Sauropods. Evolution and Paleobiology*. University of California Press, Berkeley. Pp: 15-49, 50-103.
2. Wilson, J.A. **2006**. An Overview of Titanosaur Evolution and Phylogeny. En: *Colectivo Arqueológico-Paleontológico Salense, Ed. Actas de las III Jornadas sobre Dinosaurios y su Entorno*, Salas de los Infantes, Burgos. Pp: 169–190.
3. Upchurch, P., Barrett, P. & Dodson, P. **2004**. Sauropoda. En: *Weishampel, D.B., Dodson, P. & Osmólska, H., Eds., The Dinosauria, 2nd edition*. University of California Press, Berkeley. Pp: 259–324.
4. Wilson, J.A. & Upchurch, P. **2003**. A revision of *Titanosaurus* Lydekker (Dinosauria – Sauropoda), the first dinosaur genus with a ‘Gondwanan’ distribution. **Journal of Systematic Palaeontology**, 1(3). Pp: 125–160.
5. Sanz, J.L. *et al.* **1999**. Sauropod remains from the Upper Cretaceous of Laño (Northcentral Spain). Titanosaur phylogenetic relationships. **Estudios del Museo de Ciencias Naturales de Álava**, 14 (Num. Especial 1). Pp: 235–255.
6. Salgado, L. *et al.* **1997**. Evolution of titanosaurid sauropods I: phylogenetic analysis based on the postcranial evidence. **Ameghiniana**, 34(1). Pp: 3–32.
7. Le Loeuff, J. **1993**. European titanosaurids. **Revue de Paléobiologie**, 7. Pp: 105–117.
8. Le Loeuff, J. **2005**. Osteology of *Ampelosaurus atacis* (Titanosauria) from Southern France. Chapter 4. En: *Thunder-Lizards. The Sauropodomorph Dinosaurs*. Indiana University Press. Pp: 115–137.
9. Royo-Torres, R. & Canudo, J.L. **2003**. Restos directos de dinosaurios saurópodos en España (Jurásico Superior-Cretácico Superior). En: Pérez-Lorente, F., Coord. *Dinosaurios y otros reptiles mesozoicos en España*. Instituto de Estudios Riojanos (IER, Ciencias de la Tierra, 26). Pp: 313–334.
10. Ortega, F. *et al.* **2008**. El yacimiento de macrovertebrados fósiles del Cretácico Superior de “Lo Hueco” (Fuentes, Cuenca). En: *Paleontologica Nova* (VI EJIP). Pub. del Seminario de Paleontología de Zaragoza, 8. Pp: 119–131.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Salgado, L. & Calvo, J.O. **1997**. Evolution of titanosaurid sauropods II: the cranial evidence. **Ameghiniana**, 34(1). Pp: 33–48.
- Wilson, J.A. & Sereno, P.C. **1998**. Early evolution and higher-level phylogeny of sauropod dinosaurs. **Journal of Vertebrate Palaeontology**, 18, supplement 2 (Society of Vertebrate Paleontology, Memoir 5). Pp: 1–68.
- Wilson, J.A. **2002**. Sauropod dinosaur phylogeny: critique and cladistic analysis. **Zoological Journal of the Linnean Society**, 136. Pp: 217–276.

---

## 7.4

### **Adaptación en Cocodrilos Mesozoicos: Un Ensayo de Interacción entre las Jerarquías Ecológica y Genealógica**

**Angela D. Buscalioni y Beatriz Chamero**

*Departamento de Biología, Paleontología. Fac. Ciencias. Calle Darwin, 2. Universidad Autónoma de Madrid. Cantoblanco 28049 Madrid*

#### **RESUMEN**

En este ensayo contrastamos la hipótesis de “partición filogenética de nichos” para comprender los potenciales mecanismos que subyacen a las adaptaciones de los cocodrilos mesozoicos atopusáuridos bajo el modelo de la estasis coordinada. Para ello exploramos factores evolutivos (filogenéticos y de diversidad) y funcionales (masa corporal y especialización trófica), concluyendo que la evolución de este clado para el intervalo entre el Jurásico Superior y Cretácico Inferior se ha caracterizado por: a) drástica reducción en talla, b) alta especialización ecológica. Proponemos la siguiente hipótesis: estos cocodrilos pequeños y potencialmente insectívoros ocuparon un nicho ecológico en un momento de máxima diversificación de insectos y en ausencia de mamíferos. Los miembros del clado de los atopusáuridos se diversificaron ocuparon la misma categoría ecomorfológica al diversificarse, lo cual retroalimentó la estabilidad del ecosistema. La pervivencia del grupo está asociada a la del ecosistema; esto sugiere que debió darse un fuerte acoplamiento entre los ritmos de ambos.

#### **1. INTRODUCCIÓN**

Los ecosistemas están integrados, dentro de la jerarquía de organización biológica, constituyendo una unidad que contiene a las comunidades como elementos de rango inferior. Eldredge (1) exploró las propiedades formales de las jerarquías en biología, sugiriendo la existencia de dos grandes dominios: el genealógico (o la jerarquía evolutiva) y el ecológico (o la jerarquía funcional o económica), haciendo notar que una nunca podría incluirse en la otra.

Del reconocimiento de estas dos jerarquías se pueden extraer dos aspectos relevantes de la organización biológica: 1) la existencia de sistemas jerarquizados, donde el nivel superior contiene a los subsistemas inferiores, y 2) la búsqueda de relaciones entre ambas jerarquías, que tratándose de procesos macroevolutivos algunos autores las enmarcarían dentro de la ecología evolutiva. De este modo, son temas apropiados en ecología evolutiva el reconocer la deriva espacial que tienen las especies, su origen y extinción en la escala temporal, la caracterización y la dinámica de su tamaño corporal a lo largo del espacio y del tiempo, cómo se empaquetan las especies en regiones y



provincias, así como las respuestas ecológicas a los cambios geofísicos en relación con los nutrientes o con las interacciones bióticas (2).

Los sistemas jerárquicos complejos, como los sistemas naturales, tienen la capacidad de estar al borde de la descomposición, por lo que la economía del sistema no se puede basar en la dependencia de cada uno de los subsistemas que lo constituyen, pues si así fuese, la probabilidad de que actuasen de un modo coordinado decrecería siempre que el grado de interdependencia de las partes fuera mayor o se incrementaría a medida que el sistema se hiciese jerárquicamente más grande. Por lo tanto, existe un cierto grado de independencia entre cada subsistema, y la pervivencia de un subsistema determinado no depende de la pervivencia y de la composición de cada uno de los elementos del subsistema subyacente, sino, más bien, de la pervivencia de las relaciones (dinámicas) que establezcan entre ambos y que influyen en su capacidad de autoorganización.

En este sentido, el debate sobre los estudios de las propiedades de las comunidades señala que muchos de los cambios de los ecosistemas no se pueden explicar a escala de especie. Por ejemplo, la recurrencia de las comunidades a escala geológica no va a depender de la duración de las especies, o los cambios morfológicos de un conjunto de especies no están vinculados a los factores exógenos que gobiernan un ecosistema y se reconocen en ellas respuestas individuales, o el incremento en la diversidad de especies no tiene por qué dar lugar a nuevos fenotipos que resulten mejor adaptados a las nuevas condiciones de un ecosistema cambiante, etc. De hecho, en ecología podemos reconocer comunidades provinciales o regionales de ecosistemas equivalentes distribuidos en distintos puntos del planeta (acuáticos, marinos, de estuario o terrestres) sin necesidad de mantener la identidad entre sus componentes. Es decir, que podemos hablar de unidades funcionales jerárquicamente superiores caracterizadas por su organización independientemente de la igualdad de sus componentes.

Varias aproximaciones se han realizado en esta dirección en paleoecología: el reconocimiento de unidades ecológicas evolutivas de Boucot, las faunas evolutivas de Sepkoski y la caracterización de los ecoespacios en cada una de estas faunas de Bambach, así como en el modo de contrastar hipótesis acerca de las transformaciones de las biotas en el tiempo (3). De hecho, actualmente la macroecología pretende desarrollar los mecanismos idóneos para comprender los sistemas ecológicos mediante el estudio de las propiedades de dichos sistemas (2). Esto introduce, sin duda, un modo diferente de comprender el problema, y permite al escalarlo explicar propiedades emergentes diferentes a las que surgen a escala microevolutiva. El análisis de las propiedades supone la visión del sistema desde arriba hacia abajo (*top-down*), caracterizando posibles modelos donde se pongan de manifiesto las interacciones más relevantes y significativas que permitan comprender las propiedades del sistema.

Desde Darwin la relación entre el sistema “de interacción” (funcional) y “de replicantes” (genealógico) se ha explorado exclusivamente bajo el paradigma de la selección natural. Los procesos ecológicos han sido los que han controlado el cambio evolutivo a través de la adaptación de la especie. Así pues, la ecología evolutiva ha tenido como objetivo reconocer pautas paleoecológicas que estén asociadas a eventos significativos en la historia de

las especies, o bien, explorar y realizar modelos de factores exógenos (derivados de las condiciones ambientales o del flujo de nutrientes) que hayan podido canalizar el funcionamiento de un ecosistema afectando a los mecanismos evolutivos, la destrucción o extinción de las especies que lo constituyen. En cambio, el presente ensayo, incide en las relaciones dinámicas entre ambas jerarquías como vía para poder explicar los mecanismos adaptativos que subyacen a la evolución de los cocodrilos para un intervalo de tiempo de unos 30 millones de años.

## 2. OBJETIVO: RELACIÓN ENTRE JERARQUÍAS: LA ESTASIS COORDINADA

Para comprender la evolución de las biotas a gran escala temporal, las representaciones que se han realizado en torno a la interacción entre las dos jerarquías se han basado en la dinámica que articula el paisaje adaptativo de Wright, y de un modo más integrador en la propuesta de Vrba (4) sobre la hipótesis del “*turnover-pulse*”. La primera de las representaciones se ha utilizado para justificar la “estasis”, o la recurrencia en el tiempo de las comunidades. La segunda, por su parte, se ha utilizado para comprender los mecanismos que subyacen al cambio evolutivo de las comunidades y clados en el tiempo entre lapsos de estabilidad. En el “*turnover-pulse*” se relacionan variables físicas del hábitat con variables bióticas (fisiológicas, funcionales e incluso genealógicas), buscando pulsos sincrónicos en las respuestas evolutivas de los clados. Algunos autores han debatido si son los mecanismos derivados de la estasis los que promueven los cambios de comunidades, o viceversa (3).

En cierto modo se ha considerado que la estasis o recurrencia de las comunidades en el tiempo geológico es el patrón más frecuente del registro fósil cuando los ambientes fluctúan hasta alcanzar un umbral determinado (modelo “*Plus ça change*” (3)). La estasis resulta también la respuesta biológica más frecuente en las faunas del cuaternario, a pesar de los fuertes cambios climáticos (3).

Ivany (3) define la estasis ecológica (*coordinated stasis*, de Brett y Braid (5)) como un patrón que se caracteriza por su alto grado de persistencia en la composición taxonómica, morfológica y de la estructura del ecosistema. Ello supone la existencia de linajes (clados) de larga duración, *guilds* tróficos estables, rangos semejantes de abundancia en la estructura del ecosistema, con bajas tasas de especiación, disparidad morfológica, extinciones y migración.

Prácticamente el conjunto de patrones se desarrollan en el marco de las explicaciones y predicciones del paisaje adaptativo de Sewald Wright. Cada pico adaptativo es un pico funcional que vendría a estar ocupado por una especie (modelos en 1), o por un conjunto de especies que cumplen de modo convergente la misma función (avatares) (modelos en 2), o por un linaje de taxones emparentados (modelos en 3). Según el paradigma, se predice para un ecosistema estable o en estasis que:

1. Si los patrones ambientales del paisaje no cambian, tampoco lo harán las especies, y si hubiese especiación, entonces se esperaría que surgiesen especies morfológicamente semejantes (modelo de *stabilizing selection* (6)). Los taxones migrarán desplazándose con sus ambientes más óptimos (modelo

de *faunal tracking*), de modo que los taxones con tolerancias semejantes tenderán a permanecer juntos en el mismo hábitat, estabilizando el ecosistema.

2. La selección actúa sobre las propiedades ecológicas de las especies, de modo que se estabilizan los *guilds* ecológicos del sistema, independientemente de los ambientes (modelo de *functional groups*, de Lieberman y Dudgeon (3)). Otros modelos donde se prima la selección de las propiedades de las especies suponen la organización en subsistemas cada vez más inclusivos de asociaciones morfológicas (independientemente de los taxones que las constituyan), que interactúan entre sí configurando un papel funcional en el ecosistema (*hubs* morfológicos, y el modelo de *Ecological locking* de Miller (3)).

3. En esta representación también podemos sustituir las especies por linajes (o clados), que cumplirían los mismos papeles dentro del ecosistema, diversificándose y dando lugar a formas morfológicamente semejantes y taxonómicamente emparentadas dentro del mismo pico adaptativo para el cual ha actuado la selección natural. De esta manera, el modelo del paisaje adaptativo para un ecosistema estable vendría definido como que “el hijo del lechero será lechero”, es decir, que cada pico adaptativo estaría dominado por un clado y los nichos ecológicos del ecosistema se fragmentan filogenéticamente (modelo de *Phylogenetic partitioning*, de DiMichele y Phillips (3)).

En este ensayo nos centraremos en la estasis evolutiva considerando la relación que hay entre la ocupación de un nicho y la diversificación filogenética.

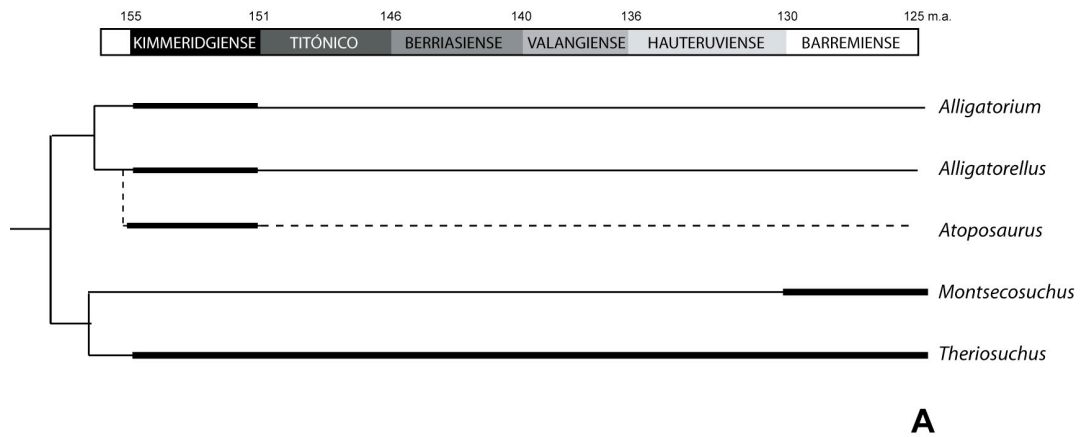
### 3. RESULTADOS

**3.1. Modelo de partición filogenética en cocodrilos atoposáuridos.** Una de las características de los ecosistemas continentales que se desarrollaron geográficamente a lo largo de las áreas emergidas de Europa occidental durante el Mesozoico medio radica en que la diversidad que encontramos en las asociaciones de cocodrilos corresponde con la diferenciación en géneros de la familia Atoposauridae. Dicha familia se encuentra vinculada a un hábitat de tipo léntico (lagos, estanques, pantanos, charcos) con fuerte influencia de medios de agua dulce que se desarrollaron en latitudes entre 20 y 60° norte, en una franja de clima húmedo-cálido. La preponderancia de estos ecosistemas para un intervalo de tiempo entre Kimmeridgiense y el Aptiense incide positivamente en la amplia distribución geográfica de ambas familias a lo largo de Europa occidental. Su abundante registro fósil se extiende desde el suroeste (Formación Alcobaça en Portugal) hasta el noreste (Formación Rabekke en la cuencas Bálticas) siendo su área de distribución ubicua a lo largo de Anglia, Rheno-Bohemia, Armórica y los Macizos de Iberia que circundaron los dominios marinos del Tethys y del Mar del Norte. La supervivencia de estos linajes, además, está condicionada a la del ecosistema, pues su registro (primera y última aparición) coincide con la historia de dichos ecosistemas. El Albiense representa el comienzo de la gran transgresión que va a acontecer durante el Cretácico medio-Superior. Prácticamente toda la línea de costa europea se

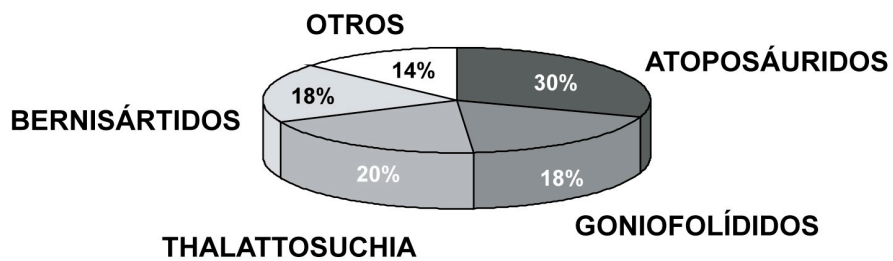
sumerge en el Albiense terminal. La evidencia que proporciona el registro fósil de los cocodrilos cenomanienses indica claramente un cambio en la composición de las asociaciones que comienzan a estar dominadas por otros taxones más próximos a los cocodrilos modernos. El contexto paleogeográfico así como la amplia distribución espacial y temporal de esta familia de cocodrilos sugieren que se dieron las condiciones propicias para considerar la hipótesis de que hubo una recurrencia de estas comunidades para el intervalo de tiempo considerado (unos 30 millones de años). Exploramos la estasis bajo el modelo de “partición filogenética” tomando como caso la familia Atoposauridae

La familia Atoposauridae forma un clado menor dentro de Neosuchia (Figura 1A). Atoposauridae se define por los géneros *Atoposarus* (conflictivo, posiblemente juvenil), *Alligatorellus*, *Alligatorium*, *Theriosuchus* y *Montsecosuchus*, y contiene las especies: *At. oberdorferi*, *Alligatorellus beaumonti*, *Alligatorium meyeri*, *A. franconicum* (conflictivo), *A. paintenense*, *Theriosuchus guimarotae*, *Th. pusillus*, *Th. ibericus*, y *Montsecosuchus depereti*. La singularidad de los atoposáuridos se contrapone con la de otros clados de cocodrilos también neosuquianos sincrónicos. Por ejemplo, la especie de la familia Goniopholididae muestran historias evolutivas muy diferentes. El clado Goniopholididae, es igualmente muy diverso pero está configurado por especies de gran espectro en tallas (tamaño medio como es el caso de *Nannosuchus* a tallas de formas equivalentes a la de los cocodrilos actuales como sucede con *Goniopholis*, o incluso más grandes como en *Sunnosuchus*). Las distintas especies de goniofolídidos se hallan además vinculadas a diferentes tipos de medios incluso de aguas más salobres.

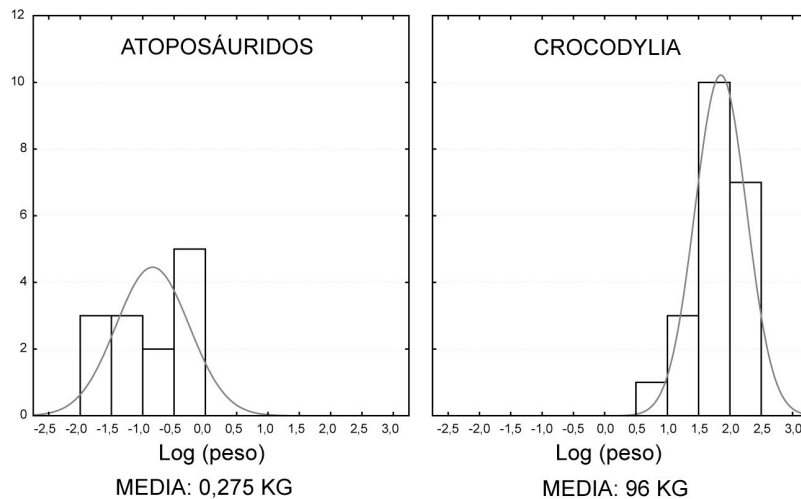
A partir del cladograma calibrado de la Figura 1A se puede estimar la completitud del registro fósil, así como la tasa de especiación de Atoposauridae (véase pie de figura). La diversidad que alcanzó dicha familia respecto a las demás especies de cocodrilos sincrónicas es notable. Cuando se estima el número de incidencias de alguno de sus géneros respecto al conjunto de cocodrilos sincrónicos para su área de distribución en Europa, los Atoposauridae representan el 30% del total (Figura 1B), resultando el grupo dominante del conjunto de las asociaciones, seguido por los goniofolídidos y bernisáridos con un 18%. Ecomorfológicamente el conjunto de miembros de la familia Atoposauridae se caracteriza por tener una talla excepcionalmente reducida si la comparamos, por ejemplo, con las especies vivas de cocodrilos (Crocodylia). Una estimación de sus masas corporales siguiendo la ecuación que correlaciona el peso con la longitud del fémur, indica que estos arcosaurios crurotarsos tendrían un peso estimado entre 150 gr y 1kg. Si comparamos la distribución de sus pesos con la de los cocodrilos actuales, se aprecia que está fuertemente desplazada hacia la izquierda (Figura 1C). Esta limitante alométrica tiene consecuencias en los requerimientos fisiológicos, metabólicos y energéticos de las especies, pues la talla juega un papel importante en factores adaptativos y ecológicos relacionados con la especialización en dietas, y los tamaños de nicho y territorio, densidad poblacional, distribución geográfica etc. (7).



**A**



**B**

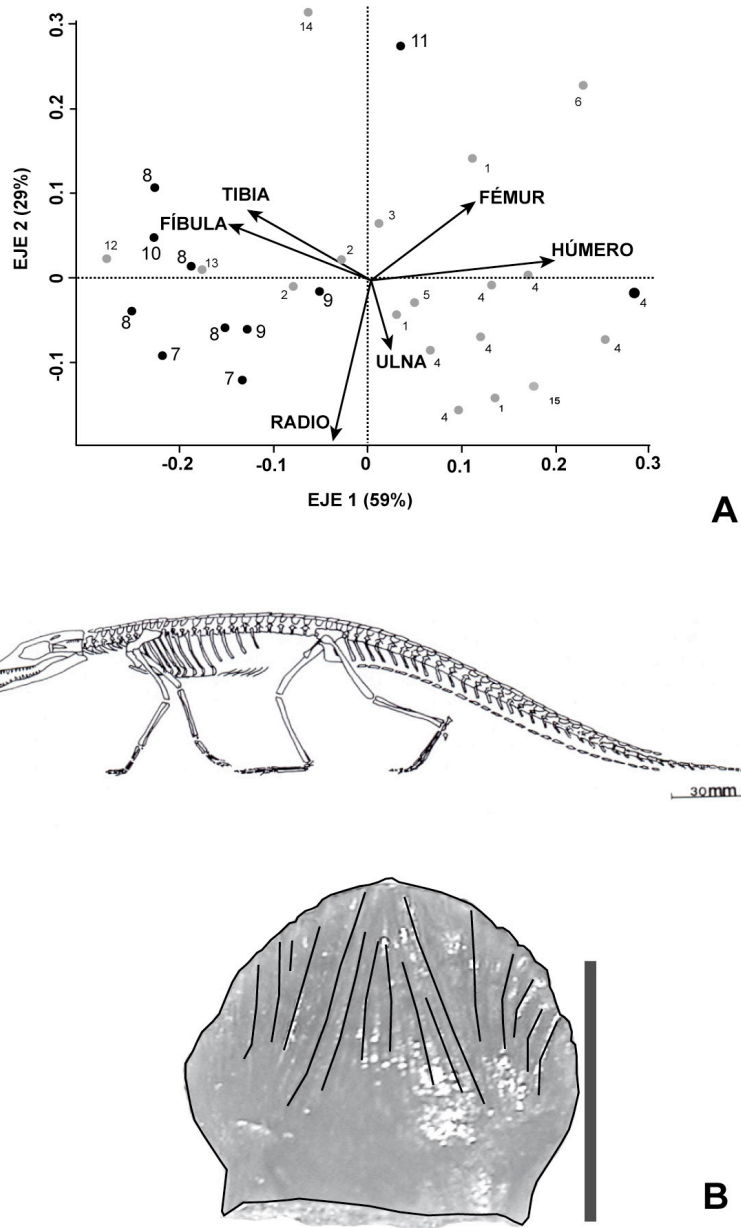


**C**

**Figura 1. A. Filogenia calibrada de la familia Atoposauridae.** La tasa de aparición de géneros estimada por millón de años es 0.16. **B.** Porcentaje de Atoposauridae en el registro Europeo entre el Kimmeridgiense y Barremiense superior (datos tomados de Pouech (10)). **C.** Distribución de las masas corporales de atoposáuridos en comparación con la de los cocodrilos vivos.

La especialización se manifiesta en los patrones de proporción de las extremidades y de dentición (Figura 2). El esqueleto apendicular de los atoposáuridos se caracteriza por el desarrollo en longitud de los segmentos del zeugópodo (tibia + fibula y radio) (Figura 2A). Este patrón es para el conjunto de *Crocodylomorpha* plesiomórfico y remite, en cierto modo, a la condición ancestral del clado con especies adaptadas a un modo de vida terrestre y capacidades corredoras. La dentición aislada de atoposáuridos es el elemento más abundante del registro en los yacimientos de Europa occidental. Su patrón morfológico no es semejante al de los cocodrilos actuales. Fuertemente heterodontos, sus dientes posteriores están comprimidos en sentido labio-lingual y sus coronas tienen forma de "hoja". La dentición en atoposáuridos guarda una cierta analogía con la de lagartos (concretamente con iguanas (clases C y D según Hotton (8)), y mamíferos entomófagos. Esta especialización en la dieta se fundamenta en el óptimo funcional al considerar un diente con forma de "hoja" de ápice puntiagudo, con base expandida y márgenes biselados (Figura 2B). El tipo dentario sería efectivo para acciones como taladrar y rasgar (basado en los modelos de Lucas (9)). Dado sus dimensiones (altura de la corona < 10 mm) y proporciones (diámetro basal/ altura de la corona = 1,2-1,4) las presas más adecuadas serían insectos con tegumentos medios o ligeros. Al igual que las iguanas su fuerte heterodoncia les habría permitido un amplio espectro de presas.

Estos resultados apoyan el supuesto de partida y permiten elaborar una serie de predicciones para seguir falsando esta hipótesis. **1.** Contextualizar un nicho adaptativo, en el marco de los ecosistemas continentales del Mesozoico medio. Podríamos alcanzar a caracterizar el óptimo del nicho espacial y trófico que ocuparon los atoposáuridos. El sesgo hacia tallas reducidas se ha relacionado con ambientes heterogéneos, susceptibles de estar fragmentados y capaces de contener nichos restringidos (7). En este sentido el patrón trófico de formas entomófagas terrestres es igualmente consistente. Datos recientes sobre el análisis isotópico de la dentición de estos cocodrilos indican un régimen alimentario basado en pequeña presas no acuáticas sino terrestres (10). **2.** Estimar que para cumplir el modelo de partición filogenética la selección natural ha favorecido el nicho (su origen y mantenimiento). Dos son los argumentos que favorecen dicha condición. Uno, la escasa diversificación de los mamíferos del mesozoico medio, en especial de las formas insectívoras (datos recientes basados en análisis isotópicos mantienen que los multituberculados mesozoicos tendrían dietas fitófagas, (10)), de modo que los cocodrilos estarían actuando en un espacio ecológico que posteriormente fue ocupado por los mamíferos. Dos, la extraordinaria diversificación de los insectos para el mismo intervalo temporal. **3.** Relacionar entre sí los factores ambientales y genealógicos. Desde el punto de vista del modelo, dado un ambiente, el factor genealógico debería de caracterizarse por una baja tasa de especiación, y por una baja disparidad morfológica. Aparentemente ambas se cumplen si comparamos a los atoposaurios con algún otro clado sincrónico (Goniopholididae). No obstante, la demostración de este punto requeriría de una posterior cuantificación morfológica.

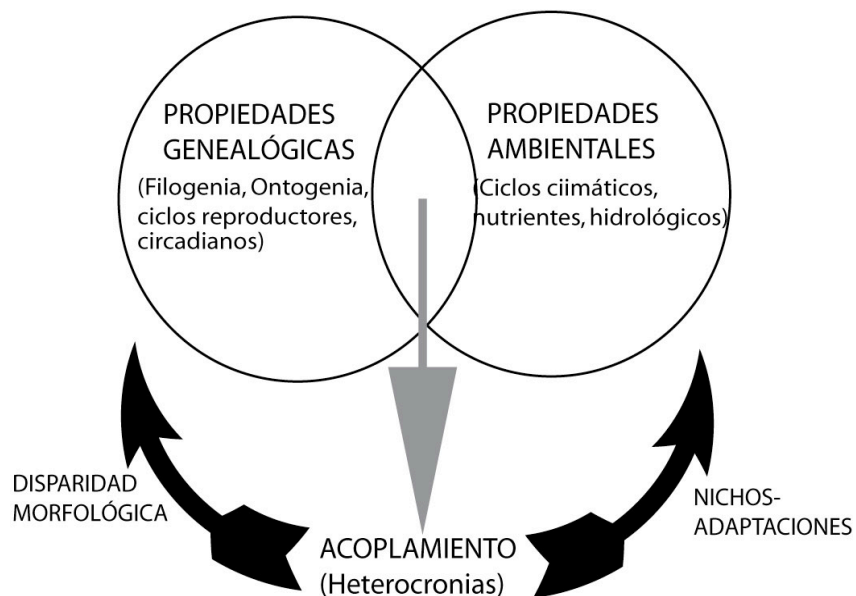


**Figura 2. A. Biplot de las longitudes de las extremidades para el conjunto de crocodylomorfos.** Los Atoposauridae (7 al 11) se ubican en los cuadrantes caracterizados por longitudes proporcionalmente mayores de la tibia-fíbula y radio. Del 1 al 6, Crocodylia, del 12 al 15 otros neosúquios.. En el centro reconstrucción del esqueleto de un atoposáurido. B. Diente posterior aislado procedente del Barremiense superior de la Formación La Huérguina. Nótese el fuerte biselado de sus márgenes mesial y distal. Escala 1mm.

**3.2. A la búsqueda de un mecanismo.** Este es desde nuestro punto de vista el reto en términos evolutivos. El modelo refleja los patrones que deberíamos testar, en cambio, la explicación del mecanismo que genera el patrón habría

que abordarla desde el acoplamiento de los ritmos geo-biológicos que definen un ecosistema. En nuestro caso habría que comprender porqué se da una limitación alométrica en la evolución de los Atoposauridae que incide en la baja disparidad morfológica y de especiación.

Si partimos de la premisa de que los ecosistemas son unidades geo-biológicas que tienen una persistencia y que muestran una cierta capacidad de autorregulación a escala temporal geológica, hemos de suponer que para que dicha premisa se cumpla ha de darse un cierto acoplamiento entre sus propiedades y las propiedades genealógicas (Figura 3). En definitiva, se trata de acoplar los ritmos de estas dos dinámicas: de las entidades (filogenia, ontogenia, tiempos de gestación, ritmos circadianos) y de los ecosistemas (ciclos climáticos, flujo energético, de nutrientes etc.) reguladas por factores geofísicos que determinan el ecosistema en el tiempo (visión *top-down*). El acoplamiento ha de tener consecuencias en los patrones evolutivos, por ejemplo en la activación de fenómenos de heterocronía. Suponemos que las tasas de crecimiento se verían afectadas desencadenando consecuencias en la morfología (disparidad) y en la ocupación de nichos (favoreciéndose determinadas adaptaciones) (visión *down-top*). La selección natural incidiría en el refinamiento de ese ajuste, por ende estabilizando el sistema.



**Figura 3.** Esquema donde se articulan los mecanismos evolutivos integrando las dos visiones: *top-down*, en gris y *down-top*, en negro.

#### 4. CONCLUSIONES

El conjunto de observaciones acerca de la genealogía, y ecomorfología de los atoposáuridos permiten sostener la siguiente hipótesis: uno de los nichos



ecológicos en los ecosistemas continentales de tipo subtropical del mesozoico medio estuvo filogenéticamente dominado por pequeños cocodrilos insectívoros, en un momento de máxima diversificación de insectos y en la ausencia o baja diversidad de mamíferos insectívoros. Los miembros del linaje de atoposáuridos se diversificaron ocupando la misma categoría ecomorfológica retroalimentando la estabilidad del ecosistema. La pervivencia del grupo está asociada a la del ecosistema, sugiriendo que debió darse un fuerte acoplamiento entre los ritmos biológicos y los del ecosistema. Suponemos que uno de los patrones derivados de este ajuste es la reducción en talla del grupo, favoreciendo la ocupación de un determinado nicho ecológico en hábitats lénticos con ambientes heterogéneos y fragmentados.

La hipótesis alternativa supondría la convergencia ecomorfológica, de modo que los nichos adaptativos estarían compartidos por taxones de clados diferentes (avatares). De confirmarse esta hipótesis, el modelo para explicar la estasis del ecosistema correspondería al de "grupos funcionales". Obviamente, para contrastar la hipótesis alternativa necesitaríamos incorporar en nuestro análisis un espectro taxonómico mayor (p.ej. arcosaurios que compartieron los mismos ecosistemas).

**5. AGRADECIMIENTOS** Queremos agradecer a Hernán Dopazo su invitación. Resultados derivados del proyecto CGL-2009-11838.

## 6. REFERENCIAS

1. Eldredge, N. **1989**. Macroevolutionary dynamics. Species, niches & adaptive peaks. McGraw Hill Publ. Co.
2. Varios autores **2003**. *Macroecology. Concepts and consequences*. British Ecological Society. Blackwell Publ.
3. Varios autores **1996**. Volumen 127 *Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology*.
4. Vrba, E.S. **1985**. Environment and evolution: alternative causes of the temporal distribution of evolutionary events. *South African Journal of Science*, 81: 887-899.
5. Brett, C.E. and Baird, G.C. **1995**. Coordinated stasis and evolutionary ecology of Silurian to Middle Devonian faunas in the Appalachian Basin. En: *New Approaches to speciation in the fossil record*. Columbia Univ. Press.
6. Bambach, R.K. **1994**. The null hypothesis for community stability and recurrence-Environmental selection of adapted organisms. *Geol. Soc. Am. Annual Meeting*, 26: 519.
7. Kelt, D.A. and Brown, J.H. **1998**. Diversification of body sizes: patterns and processes in the assembly of terrestrial mammal faunas. En: *Biodiversity Dynamics, Turnover of Populations, Taxa and Communities*. Columbia UP.
8. Hotton, N. **1955**. A survey of adaptative relationships of dentition to diet in North American Iguanidae. *The American Midland Naturalist*, 53: 88-114.
9. Lucas, P.W. **1979**. The dental-dietary adaptations of mammals, *Neues Jahrbuch Für Geologies und Palaontologie*, 8: 486-512.
10. Pouech, J. **2008**. Position des mammifères dans les écosystèmes mésozoïques d'Europe occidentale: le site de Chevres-de-Cognac (Berriasien, Charente, France). Université Claude Bernard, Lyon-1. 274 pp, 2 vols. Lyon, France.

---

# 7.5

## Historia Evolutiva de las Tortugas del Mesozoico de la Península Ibérica

Adán Pérez García

*Departamento de Paleontología. Facultad de Ciencias Geológicas. Universidad Complutense de Madrid. C/. José Antonio Novais, 2. 28040 Ciudad Universitaria, Madrid, España. Unidad de Paleontología. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. C/. Darwin, 2. 28049 Cantoblanco, Madrid, España.*

### RESUMEN

Uno de los grupos de reptiles mejor representados en los yacimientos de vertebrados mesozoicos es el de las tortugas. En la Península Ibérica su registro es muy abundante, reconociéndose representantes de varias familias. Sin embargo, estos quelonios, aunque de apariencia similar a los actuales, pertenecen, en la mayoría de los casos, a grupos extintos. En este trabajo se analiza dicho registro tratando de explicar cuestiones tales como cuándo y dónde se originaron estas familias, en qué momento llegaron a la Península Ibérica, qué nichos ocuparon, cuáles eran sus relaciones de parentesco o cuándo se extinguieron.

### 1. INTRODUCCIÓN

Las tortugas o quelonios son un grupo de reptiles muy diversificados, originados hace más de 220 millones de años, que se han adaptado a multitud de hábitat, ya sean terrestres, dulceacuícolas, costeros o marinos profundos. Esto ha generado pequeñas modificaciones sobre un plan corporal característico, fácilmente distinguible del de otros reptiles. Aunque son muchas las novedades evolutivas que caracterizan al grupo, la más evidente es la presencia de un caparazón, formado por diferentes placas óseas y escudos córneos.

Las tortugas se dividen en dos grandes grupos, Pleurodira y Cryptodira. Los pleurodirios son quelonios caracterizados por la retracción del cuello dentro del caparazón en el plano horizontal. En ellos la cintura pélvica se une por una sutura al espaldar. En los criptodiros, quelonios en los que la pelvis no está fusionada al espaldar, la retracción del cuello se da en el plano vertical.

A pesar de que su origen es aún controvertido, se sabe que fue en el Triásico, momento en que la tierra emergida estaba unida en un único continente de gran tamaño, Pangea. La fragmentación de Pangea generó dos masas continentales, Laurasia, al norte, y Gondwana, al sur. Los pleurodirios se desarrollaron principalmente en Gondwana y en los continentes originados con su fragmentación mientras que los criptodiros se expandieron fundamentalmente por Laurasia (1). En la actualidad se observa que la distribución de Pleurodira es menor que la de Cryptodira, nodo que incluye

tortugas con mayor tolerancia a las variaciones de temperatura, gracias a su capacidad de hibernar. Las pleurodiras viven únicamente en medios dulceacuícolas de las regiones intertropicales del Hemisferio Sur, en continentes que formaron parte de Gondwana: África, Sudamérica y Oceanía. Las criptodiras, presentes en esas mismas regiones, se distribuyen también por otras de origen Laurasiático: Norteamérica, Asia y Europa. Estas tortugas no se restringen únicamente a ambientes dulceacuícolas, pudiendo reconocerse formas terrestres e incluso marinas, que habitan en las aguas intertropicales de todos los océanos (2).

Las tortugas son uno de los animales mejor representados en los yacimientos mesozoicos de vertebrados. Aunque no es frecuente hallar esqueletos completos, es muy común la presencia de placas óseas del caparazón aisladas. En el Mesozoico de la Península Ibérica el registro de este grupo es muy abundante y diverso. A pesar de que muchos de los ejemplares hallados no han sido determinados hasta el momento, se han reconocido representantes de varias familias, tanto de Pleurodira como de Cryptodira (2,3).

## 2. OBJETIVOS

Debido a su situación geográfica a lo largo del Mesozoico, la Península Ibérica es un lugar muy importante para el estudio de las tortugas de esa Era. Allí convivieron representantes de familias de origen Laurasiático, Gondwanico e incluso formas endémicas europeas.

Teniendo en cuenta el registro determinado hasta el momento a nivel de familia, se expone cómo es su distribución espacial y temporal a lo largo del Mesozoico en la Península Ibérica. El análisis de sus relaciones de parentesco, de su distribución paleobiogeográfica y de las adaptaciones a los diferentes medios en los que vivieron, permite justificar esta distribución.

## 3. REGISTRO IBÉRICO: INTERPRETACIÓN PALEOECOLÓGICA Y PALEOBIOGEOGRÁFICA.

**3.1. Primeros registros.** Aunque se conoce registro de tortugas en Europa desde el Triásico, la auténtica expansión de los quelonios europeos comienza en el Jurásico Superior (2). Durante el Jurásico y Cretácico, las pleurodiras experimentan una importante diversificación fundamentalmente en Gondwana, ocurriendo lo mismo con las criptodiras principalmente en Laurasia (4). En el Mesozoico conviven en Europa familias endémicas junto con otras cuya distribución abarca otras regiones de Laurasia o de Gondwana (2). En la Península Ibérica, se reconocen representantes de las pleurodiras *Platycheilyidae*, *Dortokidae*, y *Bothremydidae*. El nodo *Cryptodira* está representado por *Pleurosternidae*, *Plesiocheilyidae*, *Solemydidae* y *Cheloniidae* (Fig.1) (2, 3).

El registro de quelonios ibéricos comienza en el Jurásico Superior. En la mina de lignitos de Guimarota (*Kimmeridgiense inferior*), cerca de Leiria (Portugal), es el único lugar de la Península donde se han hallado representantes de *Platycheilyidae* (Fig.1). Los fósiles más antiguos atribuidos a

esta familia proceden del Oxfordiense (Jurásico Superior) de Cuba. *Platycheilyidae* se conoce hasta el Valanginiense (Cretácico Inferior) (Fig.2) (5). Se interpreta que los representantes de esta familia serían tortugas que se desplazarían por el lecho en medios dulceacuícolas o litorales (4). También en Guimarota, así como en otras localidades portuguesas y españolas del Jurásico y Cretácico Inferior, está presente *Pleurosternidae* (Fig.1). El registro de esta familia de *Cryptodira* abarca desde el Jurásico Superior de Norteamérica y Europa Occidental hasta el Paleoceno de ambas regiones (Fig.2) (2). Al contrario que las anteriores, estas tortugas estaban adaptadas a la natación, habitando en ambientes dulceacuícolas.

**3.2. Radiación de las tortugas marinas.** Durante el Jurásico Superior, en los medios marinos litorales de Europa occidental son abundantes algunos grupos endémicos de tortugas criptodiras que viven en ambientes marinos poco profundos, representados en la Península Ibérica por *Plesiochelyidae* (6), familia reconocida en múltiples yacimientos del área de Torres Vedras y Lourinhã (Portugal) y en el área de Gijón-Ribadesella (Asturias) (Fig.1, Fig.2).

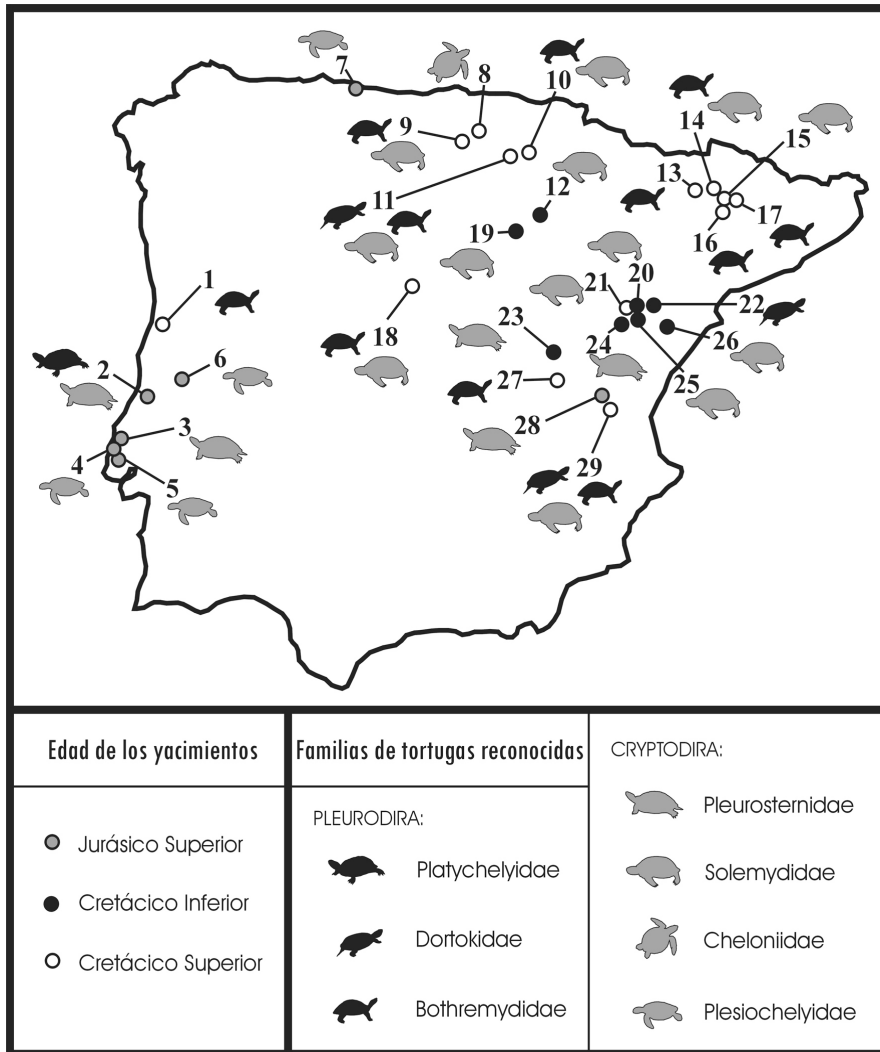
La adaptación al medio marino, que facilita la dispersión, implica modificaciones morfológicas y etológicas, que han experimentado tres grupos de quelonios a lo largo del Mesozoico: *Plesiochelyidae*, *Pelomedusoides* y *Chelonioidea* (7), todos ellos reconocidos en el registro ibérico. Aunque los dos primeros grupos vivían en ambientes litorales, *Chelonioidea* pobló las aguas marinas profundas.

Para la adaptación a su medio, los autópodos en *Plesiochelyidae*, especialmente los dígitos segundo a quinto, se alargaron, generándose unas extremidades a modo de pequeños remos (4). Las extremidades anteriores y posteriores eran de tamaño similar, careciendo de otras modificaciones de las extremidades presentes en *Chelonioidea* (7).

El registro de *Plesiochelyidae* se limita al Jurásico Superior. Se considera que estas tortugas que habitaban en ambientes costeros desaparecen en el tránsito Jurásico-Cretácico, debido a una gran regresión restringida a los mares epicontinentales someros de Europa, que redujo drásticamente sus hábitats (8).

*Pelomedusoides* protagoniza la segunda radiación de las tortugas marinas (7). Durante el Campaniense terminal y Maastrichtiense (Cretácico Superior), la fauna de tortugas presente en el sur de Francia y en la Península Ibérica estuvo dominada por varios géneros endémicos de esta región (1), siendo los representantes de *Pelomedusoides*, y concretamente de *Bothremydidae*, algunos de los quelonios más abundantes. Se han atribuido a los botremídidos numerosos ejemplares procedentes de yacimientos del Cretácico Superior ibérico (Fig.1).

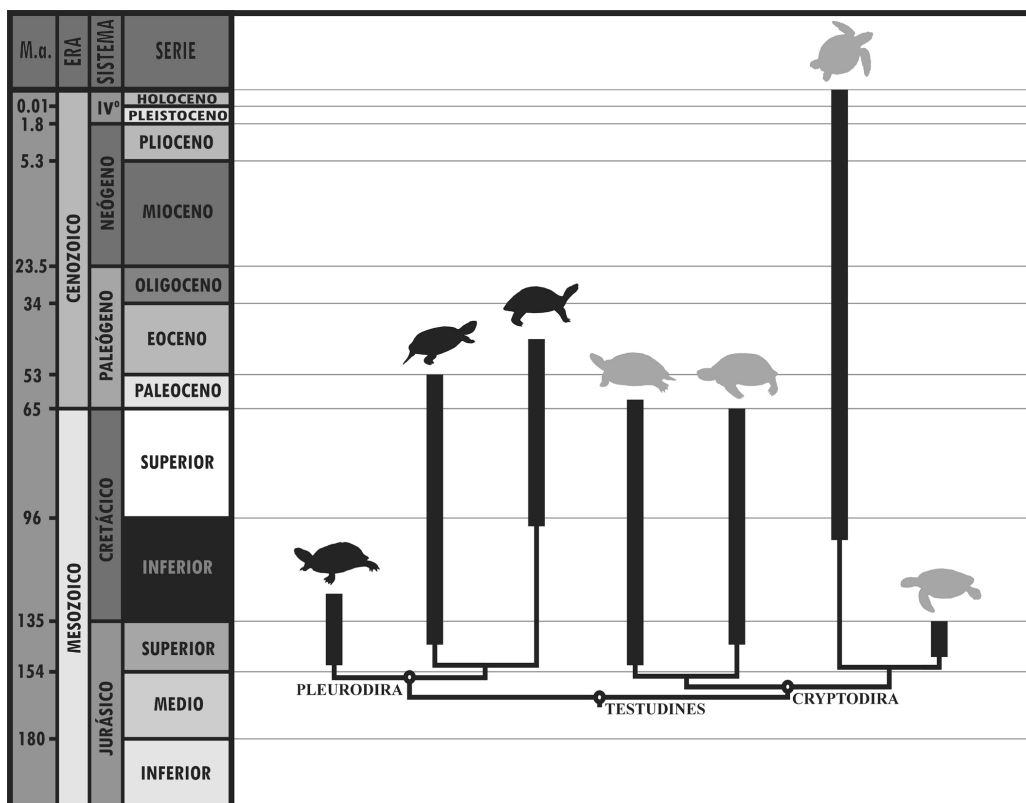
Atendiendo a su distribución, *Bothremydidae* probablemente se originó en el norte de África, durante el Albiense (Cretácico Inferior), en medios continentales. Se cree que se adaptó a ambientes de transición y litorales en el Cenomaniense (Cretácico Superior) (1), extinguiéndose en el Eoceno (Fig.2). *Bothremydidae* ha sido hallada en todos los continentes a excepción de Oceanía y la Antártida (2). Su presencia en el Cretácico Inferior de África y Sudamérica confirma que se originó en la región occidental de Gondwana.



**Figura 1. Quelonios identificados en yacimientos mesozoicos de la Península Ibérica.** Yacimientos: 1.Aveiro, Viso y Taveiro (Beira Litoral, Portugal). Campaniense-Maastrichtiense. 2.Guimarota (Leiria, Portugal). Kimmeridgiense inferior. 3.Porto das Barcas (Lourinha, Portugal). Jurásico Superior. 4.Ulsa (Torres Vedras, Portugal). Titónico. 5.Vila Franca do Rosario (Torres Vedras, Portugal). Titónico. 6.Romão (Portugal). Kimmeridgiense superior. 7.Área de Gijón-Ribadesella (Asturias). Jurásico Superior. 8.San Pantaleón de Losa (Burgos). Santoniense. 9.Quecedo de Valdivielso (Burgos). Maastrichtiense medio-superior. 10.Korres (Álava). Maastrichtiense superior. 11.Laño (Condado de Treviño, Burgos). Campaniense superior-Maastrichtiense inferior. 12.Sierra de Alcarama (La Rioja). Cretácico Inferior. 13.Serraudy (Huesca). Maastrichtiense superior. 14.Arén (Huesca). Maastrichtiense superior. 15.Tremp (Lleida). Maastrichtiense. 16.Fontllonga (Lleida). Maastrichtiense. 17.Biscarri (Lleida). Maastrichtiense. 18.Armuña (Segovia). Campaniense superior-Maastrichtiense inferior. 19.Los Caños (Golmayo, Soria). Cretácico Inferior. 20.Gargallo (Teruel). Aptiense. 21.Cirugeda (Aliaga, Teruel). Campaniense-Maastrichtiense. 22.Vallipón (Castellote, Teruel). Barremiense. 23.Uña (Cuenca). Barremiense. 24.Galve (Teruel). Hauteriviense-Barremiense. 25.Cabezo de las Eras (Teruel). Albiense. 26.Morella (Castellón). Aptiense inferior. 27.Lo Hueco (Fuentes, Cuenca). Campaniense superior-Maastrichtiense inferior. 28.Benagéber (Valencia). Jurásico Superior. 29.Chera (Valencia). Maastrichtiense.

Aunque actualmente los representantes de Pelomedusoides viven en ambientes dualceacuícolas, durante el Cretácico y Cenozoico algunos de sus representantes se adaptaron a medios marinos (4, 7). Al igual que en Plesiochelyidae, las extremidades de estas tortugas no presentan la estructura típica de las formas pelágicas. A pesar de ello, consiguieron colonizar los mares someros interiores y las áreas costeras a ambos lados del Atlántico y el área del Tethys (7).

Algunos representantes de Bothremyidae ampliaron su área de distribución siguiendo la línea de costa, penetrando así en Europa y Norteamérica. Algunos géneros se estabilizaron de nuevo en aguas continentales o de transición, como es el caso de los presentes en la región Ibero-Occitana. Atendiendo a su gran dispersión geográfica y distribución temporal, puede interpretarse que los botremídidos fueron un grupo muy versátil desde el punto de vista ecológico (1).



**Figura 2. Familias de tortugas reconocidas en el Mesozoico ibérico.** En este cladograma calibrado están representadas las familias de quelonios identificadas en el Mesozoico de la Península Ibérica (Ver leyenda Figura1)

No obstante, es Chelonioidea el grupo de quelonios que experimenta la radiación más exitosa de las tortugas marinas. Estas criptodiras se conocen desde el Aptiense (Cretácico Inferior). Actualmente son los únicos reptiles

totalmente adaptados al medio marino que vuelven a la costa únicamente para depositar sus huevos (7).

Desde el Mesozoico, sus extremidades anteriores se transformaron en auténticos remos, adquiriendo algunas características como húmeros rectos, radio y ulna alargados, carpales aplanados y alargamiento de los dígitos tercero y cuarto, lo que les permite realizar el llamado “vuelo subacuático” (9).

En Chelonioidea se incluyen los dos grupos de tortugas marinas con representantes actuales, Dermochelyidae y Cheloniidae, además de las extintas Protostegidae. Dermochelyidae se conoce desde el Santoniense (Cretácico Superior). El registro de Cheloniidae comienza en el Aptiense (Cretácico Inferior) (Fig.2). Protostegidae es exclusiva del Cretácico, distribuyéndose desde el Aptiense hasta el final del Cretácico Superior (7).

Aunque los representantes de Protostegidae eran cosmopolitas, en el Cretácico parece que los de Cheloniidae apenas había desarrollado la capacidad de migración para largas distancias observada en la actualidad, dado que la distribución de la mayoría de sus representantes muestra un fuerte provincialismo. No obstante, algunas formas de gran tamaño, como es el caso de *Allopleuron*, identificada en el registro ibérico (Fig.1), sí presentan distribución cosmopolita (9). Durante el final del Cretácico Superior (Maastrichtiense), Protostegidae estaba en declive, desapareciendo en el evento de extinción que ocurre en el límite Mesozoico-Cenozoico (K/T). Este evento afectó drásticamente a la mayoría de las formas de reptiles pelágicos, como mosasaurios o elasmosaurios (8). No obstante, este evento fue selectivo entre los reptiles marinos y, entre otras, sobreviven algunas formas de Cheloniidae (9). Cheloniidae, que experimentaba un pico de diversidad en el Cretácico Superior, estaba muy diversificada en Norteamérica y en el oeste de Europa, siendo su diversidad morfológica mucho mayor que la observada entre sus representantes actuales (7, 9).

**3.3. Tortugas no marinas. La paleoqueloniofauna endémica del Cretácico Superior de la región Ibero-Occitana.** Debido a la disgregación del supercontinente Pangea, las tortugas no marinas muestran fuertes patrones de provincialismo durante el Cretácico. En Laurasia las asociaciones de quelonios estaban compuestas básicamente por representantes de Cryptodira mientras que en Gondwana predominaba Pleurodira. La presencia de criptodiras en el Cretácico de Gondwana es indicativa de la extensa distribución de estos quelonios antes de la fragmentación de Pangea. Sin embargo, se interpreta que la presencia de pleurodiras en el Cretácico de Laurasia se debe a la desaparición de barreras que evitaban los intercambios faunísticos entre los continentes del norte y del sur (10). No obstante, algunos taxones de Pleurodira, como es el caso de Dortokidae, se desarrollaron en Europa a partir del Jurásico (1). Para el Jurásico Superior y Cretácico Inferior, la distribución de las criptodiras en Laurasia puede ser dividida en tres asociaciones: norteamericana, asiática y europea. En Norteamérica dominaban representantes de Paracryptodira y en Asia miembros de Eucryptodira. En Europa estaban bien representados ambos grupos (10). Así pues, en la Península Ibérica se ha hallado registro de paracriptodiras Pleurosternidae y Solemydidae y eucryptodiras Plesiochelyidae.

Además de los botremídidos, en la región Ibero-Occitana se reconocen, para el Cretácico, otros taxones endémicos. Se trata de representantes de Solemydidae (Cryptodira) y de Dortokidae (Pleurodira), familias originadas en el Jurásico.

Solemydidae ha sido identificada en múltiples afloramientos del Cretácico Superior Ibérico (Fig.1). El material identificado a nivel genérico se asigna a *Solemys*, último representante conocido de esta familia laurasiática distribuida entre el Jurásico Superior de Norteamérica y en el Cretácico de Norteamérica y Europa (Fig.2). Aunque *Solemys* muestra adaptaciones a la vida terrestre, algunos representantes de esta familia probablemente fueran formas semiacuáticas. *Solemys* era una tortuga con un caparazón muy ornamentado, protegida mediante una cubierta de osteodermos en sus extremidades que funcionaría como una coraza (1).

Dortokidae está también representada en varios yacimientos cretácicos ibéricos (Fig.1). Es una familia endémica europea, distribuida entre el Barremiense (Cretácico Inferior) y el Paleoceno tardío o comienzos del Eoceno. Aunque no se conoce demasiado bien el origen de esta familia, se ha considerado que pudo haberse generado en Europa, constituyendo un nuevo linaje separado de otros grupos de pleurodiras, como los Pelomedusoides, al menos desde el Jurásico Superior (Fig.2) (1). En cuanto al ambiente donde habitaba, se interpreta que pudo ser una tortuga dulceacuícola con lóbulos plastrales bien desarrollados que protegerían la cabeza y las extremidades (4). Su morfología recuerda a la de algunas pelomedusoides actuales semiacuáticas, que pueden estar en el lodo durante la estación seca (1).

**3.4. Otros quelonios ibéricos.** Además de las tortugas descritas, en el Mesozoico de la Península Ibérica se han hallado más ejemplares, en fase de estudio, que pueden pertenecer a otras familias. Así pues, se han identificado quelonios asociados a ambientes lacustres o fluviales en apariencia similares a representantes de Macrobaenidae o de Chelydridae, pero hasta el momento de posición filogenética incierta. También se reconocen representantes de nuevas familias, aún sin describir, como es el caso de un eucryptodiro basal del Aptiense inferior (Cretácico Inferior) de Morella (Castellón) (3).

#### 4. CONCLUSIONES

En el Mesozoico de la Península Ibérica se reconocen numerosos representantes de Cryptodira y de Pleurodira, siendo muy abundantes en los afloramientos del Jurásico Superior y del Cretácico.

Estos quelonios habitaban en diferentes medios, tanto dulceacuícolas como de transición, marinos someros o marinos profundos.

Aunque las asociaciones de quelonios en medios marinos cambian drásticamente a lo largo del Mesozoico ibérico, las de tortugas no marinas fueron más estables. Los momentos de crisis globales afectaron severamente a algunas familias, como a los plesioquélidos en el límite Jurásico-Cretácico o a los solemídidos en el límite Mesozoico-Cenozoico. No obstante, la mayoría de los taxones endémicos del Mesozoico europeo desaparecieron progresivamente, registrándose sus últimos representantes a comienzos del Eoceno.



Por su situación geográfica a lo largo del Mesozoico, la Península Ibérica formó parte del área de distribución de quelonios de origen laurasiático y gondwanico. Además, en ella habitaron taxones europeos e incluso otros endémicos de la región Ibero-Occitana. Por tanto, el estudio de las tortugas mesozoicas ibéricas aporta datos muy importantes sobre la paleobiogeografía y sistemática de este peculiar grupo de reptiles.

**5. AGRADECIMIENTOS** El autor agradece a Francisco Ortega y a Xabier Murelaga su ayuda y sugerencias, así como los comentarios efectuados por un revisor anónimo. Esta investigación se ha realizado con una beca del subprograma FPU del Ministerio de Ciencia e Innovación (ref. AP2007-00873), en el marco del Proyecto de Investigación “Registro geológico de periodos críticos: factores paleoclimáticos y paleoambientales” de la Universidad Complutense - Comunidad Autónoma de Madrid (GI 910161).

## 6. REFERENCIAS

1. Lapparent de Broin, F. de & Murelaga, X. **1999**. Turtles from the Upper Cretaceous of Laño (Iberian Peninsula). *Estudios del Museo de Ciencias Naturales de Alava*, 14 (Número Especial 1) : 135-211.
2. Lapparent de Broin, F. de. **2001**. The european turtle fauna from the Triassic to the Present. *Dumerilia*, 4(3): 155-216.
3. Pérez García, A., et al. **2008**. Una nueva tortuga (Chelonii, Eucryptodira) del Cretácico Inferior (Aptiense) de Morella (Castellón). *Libro de resúmenes de las XXIV Jornadas de la Sociedad Española de Paleontología*. Museo del Jurásico de Asturias (MUJA), Colunga: 173-174.
4. Renous, S., et al. **2008**. Evolution of Locomotion in Aquatic Turtles. In: Biology of Turtles. Wyneken, J., et al., *Eds.* New York. 97-138.
5. Cadena Rueda, E.A. & Gaffney, E.S. **2005**. *Notoemys zapatocaensis*, a New Side-Necked Turtle (Pleurodira: Platycheilyidae) from the Early Cretaceous of Colombia. *American Museum Novitates*, 3470: 19 pp.
6. Pérez García, A., et al. **2008**. *Plesiochelys* sp. (Testudines; Eucryptodira) de la Fm. Freixial (Jurásico Superior) en Ulsa (Torres Vedras, Portugal). In: Paleontológica Nova (VI EJIP). Esteve, J. & Meléndez G., *Eds.* **SEPAZ**, 8: 331-344.
7. Nicholls, E.L. **1997**. Testudines. Introduction. In: Ancient Marine Reptiles. Callaway, J.M. & Nicholls, E.L., *Eds.* San Diego. 219-223.
8. Bardet, N. **1994**. Extinction events among mesozoic marine reptiles. *Historical Biology*, 7: 313-324.
9. Hirayama, R. **1997**. Distribution and diversity of cretaceous chelonioids. In: Ancient Marine Reptiles. Callaway, J.M. & Nicholls, E.L., *Eds.* San Diego. 225-241.
10. Hirayama, R., et al. **2000**. Distribution and biogeography of non-marine cretaceous turtles. *Russian Journal of Herpetology*, 7(3): 181-198.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Callaway, J.M. & Nicholls, E.L. (Eds). **1997**. Ancient Marine Reptiles. Academic Press, San Diego, CA. 501 pp.
- Wyneken, J., et al. (Eds.). **2008**. Biology of Turtles. CRC Press, New York. 389 pp.



# Tema 8

---

## Evolución Experimental y Aplicaciones

---

# 8.1

## Evolución Experimental en Virus

José M. Cuevas<sup>1, 2, 3</sup>, Rafael Sanjuán<sup>1, 2</sup>, Andrés Moya<sup>1, 2, 3</sup>

*<sup>1</sup>Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva. Universitat de València. Apartado de correos 22085, 46071 Valencia, España <sup>2</sup>Departamento de Genética, Universitat de València. Apartado de correos 22085, 46071 Valencia, España. <sup>3</sup>CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Valencia, España.*

### RESUMEN

A lo largo de la historia las evidencias de los procesos de evolución han sido obtenidas generalmente de forma indirecta. Sin embargo, la investigación en evolución experimental proporciona valiosas herramientas para el estudio de los fenómenos evolutivos en tiempo real. De esta forma, el uso de microorganismos como modelos experimentales constituye una herramienta muy útil con objeto de comprobar diversas hipótesis de la teoría de la evolución. En este trabajo mostramos cómo la evolución experimental en virus ha permitido corroborar numerosas hipótesis genético-poblacionales.

### 1. INTRODUCCIÓN

La selección natural, originalmente propuesta por Darwin hace 150 años (1), se acepta comúnmente como una de las fuerzas impulsoras de la evolución de los seres vivos, aunque no es la única. Por ejemplo, la deriva genética, una forma de azar, es otra fuerza importante. A pesar de disponer de una teoría excelente, son recurrentes aptitudes escépticas frente al fenómeno de la evolución y su explicación científica. Ciertamente suelen basarse en las tesis de algunas doctrinas religiosas, pero también se hace referencia a la imposibilidad de constatar de forma directa el fenómeno evolutivo en una escala de tiempo accesible al observador humano. En este sentido, la información que aporta el registro fósil, los estudios biogeográficos o la anatomía comparada constituyen evidencias indirectas, aunque importantes, de la evolución. Los procesos evolutivos en organismos complejos precisan, normalmente, cientos de años, si no miles, para su observación directa. Esta circunstancia, sin embargo, no se presenta en el caso de los microorganismos, cuyos tiempos de generación son muy inferiores a los de organismos más complejos. Por tanto, debido a su capacidad para evolucionar a gran velocidad, los microorganismos nos proporcionan evidencias observables de los procesos evolutivos.

Por otro lado, el estudio de los microorganismos tiene muchas implicaciones prácticas, debido a que causan numerosas enfermedades que afectan, no sólo a la salud humana, sino también a la ganadería, la pesca o la agricultura. Fruto de su enorme capacidad evolutiva, los microorganismos

muestran con frecuencia mecanismos adaptativos de resistencia frente al uso de antibióticos o tratamientos antivirales. Es por ello que el estudio de su evolución aporta nuevas herramientas en la lucha contra las enfermedades microbianas.

A pesar de que el campo de estudio de la evolución experimental se concentra en los microorganismos (virus, bacterias y levaduras), una presión de selección muy intensa, como es el caso de la selección artificial que los humanos practican con otros organismos, constituye también un buen exponente de la evolución. Examinemos un ejemplo. Se trata del experimento de selección artificial en ratones llevado a cabo por Garland y colaboradores (2). En él se seleccionaba la capacidad para correr en la rueda de ejercicio, de forma que aquellos ratones que eran capaces de correr más rápido eran utilizados para producir la siguiente generación. Esta estrategia de selección artificial se mantuvo durante 10 generaciones, tras lo cual se observó que la capacidad para correr en la rueda de ejercicio de los ratones seleccionados era un 75% mayor que la de los ratones control no sometidos a esta presión de selección.

La selección artificial ha sido utilizada históricamente para la domesticación de animales y plantas salvajes. Es el caso del lobo, del que derivan las numerosas razas de perros de nuestros días. Otro ejemplo interesante, y de gran ayuda como prueba de evolución, lo constituye el arduo experimento científico que durante 40 años se realizó en una granja de zorros en Siberia y que evidenció que la domesticación es factible a escala humana (3). Este trabajo, iniciado a finales de los años 50, partió de 30 machos y 100 hembras para realizar un experimento de selección artificial. En cada generación, se eligieron los individuos de las camadas que mostraban mayor tolerancia al contacto humano. De esta forma, y tras sólo diez generaciones, se observaron drásticos cambios a nivel fenotípico, como eran pelajes moteados, cola enrollada, orejas caídas y rostros más cortos y redondeados. Asimismo, junto a otros cambios a nivel bioquímico, se observaron también claras alteraciones en el comportamiento. En definitiva, y tras 40 años de selección y 30-35 generaciones, esta prolongada selección ha dado lugar a individuos muy dóciles y con un alto nivel de tolerancia a la presencia humana. Un tercer ejemplo de rápida evolución en animales aparece con lo ocurrido en una población de lagartijas que fue liberada en 1971 en una isla del Mar Adriático (4). El análisis de esta población 36 años y unas 30 generaciones más tarde mostró resultados sorprendentes. En primer lugar, los individuos habían adoptado una dieta herbívora, frente a la originalmente insectívora. Asociado probablemente con este cambio de dieta, se presentaron una serie de cambios morfológicos, que consistían en cráneos más anchos y largos, mayor fuerza en la mandíbula y patas más cortas. Además, lo realmente llamativo era la adquisición de una válvula cecal a nivel intestinal, presente en otros lagartos herbívoros, pero que no se había observado nunca en esta especie.

Estos tres ejemplos muestran cómo el efecto de la selección natural intensa puede conllevar cambios evolutivos rápidos, observables en el tiempo medio de una generación humana actual.

En cualquier caso, esos mismos tiempos excesivamente largos suponen una merma en relación al interés científico por probar la evolución. Por ello, la evolución experimental hoy en día se centra en el estudio de los

microorganismos, desde virus hasta levaduras (5). El empleo de estos modelos experimentales permite llevar a cabo estudios en condiciones controladas de laboratorio, y por tanto reproducibles, y en períodos de tiempo relativamente reducidos. Es así como múltiples factores asociados a la teoría de la evolución han sido analizados.

En este trabajo vamos a mostrar resultados obtenidos mediante evolución experimental con virus de RNA. De estos estudios extraeremos también algunas aplicaciones prácticas en la lucha contra las enfermedades virales.

Los virus, y en particular, los virus de RNA presentan varias características que les convierte en buenos modelos de evolución experimental. Por un lado, presentan altas tasas de mutación, estimadas entre  $10^{-4}$  y  $10^{-6}$  sustituciones por sitio y por ronda de replicación. Esto es debido, desde un punto de vista mecánico, a que las polimerasas de RNA carecen de la capacidad de reparación de errores durante la replicación (6). Por otro lado, los genomas de los virus de RNA son extremadamente compactos, no superando generalmente las 15 kb. Adicionalmente, la replicación explosiva de los virus de RNA les permite completar muchas generaciones en poco tiempo y alcanzar enormes tamaños poblacionales (Domingo et al, 2008).

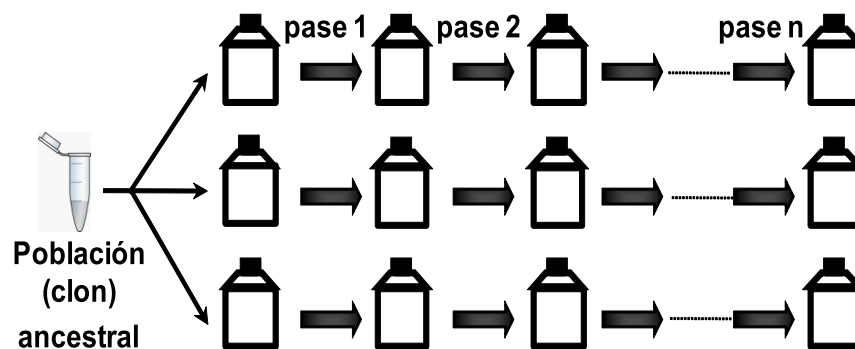
## 2. OBJETIVOS

En este trabajo pretendemos mostrar la idoneidad de los virus como modelo experimental para contrastar hipótesis genético-poblacionales. En particular, presentaremos evidencias del efecto de la selección natural y de la deriva genética en virus. Mostraremos también resultados experimentales que corroboran algunos conceptos ecológicos, tales como las estrategias generalistas o especialistas, la existencia de compromisos de eficacia entre distintos ambientes o el efecto de los procesos de migración. Finalmente, extraeremos algunas aplicaciones prácticas derivadas de la evolución experimental en virus.

## 3. RESULTADOS

**3.1. Diseño experimental en la evolución de virus de RNA.** El diseño de un experimento de evolución, no sólo para virus de RNA, sino para cualquier microorganismo en general, es relativamente sencillo. Para el comienzo del experimento, se requiere una población o clon ancestral, a partir del cual se derivan varios linajes, a modo de réplicas experimentales (Figura 1). De este modo, se inocula un primer conjunto de botellas, donde han crecido las células susceptibles de ser infectadas. Este primer conjunto de botellas agrupa las réplicas experimentales de los tratamientos analizados, tales como presencia de antivirales, distintos tipos celulares, o tamaños poblacionales variables. Una vez completado el efecto citopático de este primer "pase", las muestras obtenidas se diluyen convenientemente para iniciar el segundo pase de la evolución en botellas con células nuevas, y así sucesivamente a lo largo de todo el experimento. Dado que los virus pueden ser conservados en

congelación, una vez finalizado el experimento, se pueden estimar los cambios en la eficacia biológica acontecidos mediante la comparación directa de las formas ancestrales y derivadas. Para ello, se suele hacer uso de marcadores fenotípicos o genéticos que permiten distinguir entre las poblaciones ancestrales y evolucionadas en un mismo cultivo.



**Figura 1. Esquema de un experimento de evolución.** Inicialmente, se utiliza una población o clon ancestral para infectar un primer conjunto de botellas (réplicas experimentales), que constituyen el pase 1, y que contienen cultivos celulares crecidos. Una vez completado el efecto citopático, las poblaciones virales resultantes se utilizan para continuar la dinámica de transmisiones seriadas en sucesivos recipientes.

**3.2. Mecanismos de adaptación.** Numerosos estudios han caracterizado experimentalmente la adaptación de las poblaciones virales. Esta adaptación sigue un patrón claro. Cuando una población evoluciona en un ambiente nuevo, se produce inicialmente una rápida adaptación, medida en términos de eficacia biológica. Esto es debido a que una proporción considerable de las numerosas mutaciones que surgen en una población pobremente adaptada puede presentar un efecto beneficioso. A medida que aumenta el grado de adaptación, disminuye la frecuencia de mutaciones beneficiosas, por lo que se ralentiza el proceso de adaptación (5). De este modo, la población se aproximaría paulatinamente a un nivel óptimo de adaptación.

Algunos virus de RNA carecen de recombinación, lo que les confiere un carácter asexual. Entre otras cosas, dicho carácter los hace susceptibles a la interferencia clonal. En este proceso, los clones que portan mutaciones beneficiosas en una población dada van a competir entre sí sin la posibilidad de recombinar y por tanto retardarán la fijación de mutaciones beneficiosas. En este contexto, al aumentar el tamaño poblacional, e incrementar por tanto el número de mutaciones interferentes, aumenta también la eficacia de la mutación beneficiosa que se fija, ya que habrá tenido que competir con muchas mutaciones de elevada eficacia para fijarse. Este efecto fue comprobado empleando el virus de la estomatitis vesicular (5).

La evolución de las poblaciones virales se ve notablemente limitada por el efecto de los compromisos adaptativos. En términos generales, la adaptación a un ambiente nuevo suele ir en detrimento de la eficacia biológica en el

ambiente anterior. La explicación de este resultado se encuentra en que las mutaciones beneficiosas o neutrales en un ambiente dado pueden ser deletéreas en ambientes alternativos. Estrechamente relacionado con esto, y desde un punto de vista ecológico, experimentos de evolución de virus en distintos tipos celulares han promovido estrategias adaptativas diversas. Por una parte nos encontramos con numerosos ejemplos de estrategias especialistas en experimentos con virus adaptados a un hospedador y que mostraban eficacias reducidas en hospedadores alternativos. Si bien estos resultados parecen indicar que la adaptación viral es específica de hospedador, también pueden presentarse estrategias generalistas, ya que otros trabajos muestran que poblaciones evolucionadas en hospedadores alternativos presentan en ocasiones incrementos de eficacia en ambos ambientes similares a los de poblaciones adaptadas específicamente a un único hospedador (5).

Los fenómenos migratorios son una consecuencia directa del modo de transmisión viral, pudiendo presentarse a distintos niveles. Por un lado, las infecciones virales en organismos superiores suelen iniciarse en órganos concretos y posteriormente expandirse a otros órganos o tejidos, pudiendo dar lugar a procesos de infección o reinfección local. Puede así formarse una compartimentalización entre órganos debida a deriva genética o a adaptación. Por otro lado, a escala poblacional, individuos ya infectados pueden sufrir reinfecciones. En ambos casos, la migración genera un aumento en la diversidad genética de las poblaciones de virus dentro del hospedador. En general, la migración aumenta el conjunto efectivo de mutaciones potencialmente beneficiosas, de ahí que diversos estudios en virus hayan mostrado una correlación positiva entre la tasa de migración y la eficacia de las poblaciones virales (7).

**3.3. Restricciones adaptativas.** A pesar de la enorme velocidad de adaptación que muestran los virus de RNA, es importante destacar algunos factores que restringen su evolución. En particular, el tamaño genómico parece presentar un límite superior (no mayor de unas 15 kb) como consecuencia de sus altas tasas de mutación (Tabla 1). Esto es debido a que, para una tasa de mutación dada, incrementar el tamaño del genoma supone incrementar la carga mutacional (7).

Debido a sus restricciones funcionales, se esperaría que la mayoría de las mutaciones en virus de RNA tuvieran un carácter deletéreo, en contraposición con organismos más complejos. De acuerdo con esto, diversos estudios de mutagénesis dirigida han mostrado su baja tolerancia a la mutación (baja robustez), donde un elevado porcentaje de las sustituciones resultan letales (7). Además, otros experimentos de mutagénesis han mostrado que los efectos deletéreos de mutaciones individuales disminuyen cuando se presentan en combinación, lo que se define como epistasia antagonista. Ésta parece ser una característica general de los virus de RNA (7).

El análisis de los cambios moleculares acaecidos durante las dinámicas de evolución virales permite discernir aquellos cambios responsables de la adaptación en unas condiciones particulares. En virus de RNA hay que destacar la frecuente aparición de convergencias a nivel molecular en linajes independientes con dinámicas adaptativas similares (5). Esta aparición recurrente de un número relativamente reducido de mutaciones concretas

evidencia el alto grado de restricción funcional presente en virus de RNA. Estos cambios paralelos, que se dan fundamentalmente en virus, son presumiblemente debidos a su efecto beneficioso. Un ejemplo particularmente interesante de convergencia evolutiva se observó en un estudio con el virus de la estomatitis vesicular, donde algunas de las sustituciones paralelas eran sinónimas, es decir, no producían un cambio en la secuencia de la proteína, mientras que otras se presentaban en regiones no codificantes (8). Estos resultados sugerían que en estos casos la selección podía estar actuando a nivel del plegamiento del RNA o de interacciones RNA-proteína.

Grupo	Especie	$\mu$	Tamaño genoma
Virus de RNA	Virus de la estomatitis vesicular	$2,3 \times 10^{-5}$	$1,1 \times 10^4$
	Virus del grabado de tabaco	$9,1 \times 10^{-6}$	$6,4 \times 10^3$
	Bacteriófago $\Phi 6$	$2,7 \times 10^{-6}$	$1,3 \times 10^4$
(retrovirus)	Virus del sarcoma de Rous	$4,6 \times 10^{-5}$	$9,3 \times 10^3$
	Virus de la inmunodeficiencia humana	$2,1 \times 10^{-6}$	$9,2 \times 10^3$
Virus de ssDNA	Bacteriófago $\Phi X174$	$1,8 \times 10^{-6}$	$5,4 \times 10^3$
	Bacteriófago m13	$7,2 \times 10^{-7}$	$6,4 \times 10^3$
Virus de dsDNA	Bacteriófago $\lambda$	$7,7 \times 10^{-8}$	$4,9 \times 10^4$
	Bacteriófago T2	$2,4 \times 10^{-8}$	$1,7 \times 10^5$
Procariontas	<i>Escherichia coli</i>	$5,4 \times 10^{-10}$	$4,6 \times 10^6$
Eucariotas inferiores	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	$2,2 \times 10^{-10}$	$1,2 \times 10^7$
	<i>Neurospora crassa</i>	$7,2 \times 10^{-11}$	$4,2 \times 10^7$
Eucariotas superiores	<i>Drosophila melanogaster</i>	$3,4 \times 10^{-10}$	$1,7 \times 10^8$
	<i>Caenorhabditis elegans</i>	$2,3 \times 10^{-10}$	$8,0 \times 10^7$
	<i>Homo sapiens</i>	$5,0 \times 10^{-11}$	$3,2 \times 10^9$

**Tabla 1. Ejemplos de tasas de mutación y tamaño genómico.** Se muestran estimas de tasas de mutación por base ( $\mu$ ) y tamaño de genoma ( $n^\circ$  de bases) para virus de RNA y DNA, así como para procariontas, eucariotas inferiores y superiores. Abreviaturas: ss, cadena sencilla; ds, doble cadena. Tabla adaptada de (7).

**3.4. Efecto de la deriva genética en virus de RNA.** Anteriormente, hemos mostrado la enorme influencia de la selección en las dinámicas adaptativas de las poblaciones virales. Sin embargo, la evolución de las poblaciones virales también está fuertemente regida por fenómenos aleatorios, lo que se conoce como deriva genética. En condiciones de bajo tamaño poblacional, el efecto de la selección puede ser pequeño en comparación con la deriva, según la cual las mutaciones se fijarán de forma aleatoria. Debido a que la mayoría de las mutaciones tiene un carácter deletéreo, este proceso provocará una disminución en la eficacia biológica. A nivel experimental, diversos trabajos han empleado cuellos de botella para mostrar el efecto de la deriva in vitro (5). Como ya hemos comentado, los virus alcanzan enormes tamaños poblacionales durante los procesos infectivos, situación en la cual se intensifica el efecto de la selección. Sin embargo, el modo de transmisión entre hospedadores, o entre órganos de un mismo hospedador, suele tener lugar a partir de un reducido número de partículas virales, lo que provoca un cuello de botella poblacional. En esta situación, la deriva genética rige inicialmente la dinámica poblacional. Por tanto, la evolución de las poblaciones virales vendrá



determinada por la combinación de etapas fuertemente selectivas con períodos donde actúa la deriva.

**3.5. Estudios de coevolución.** Recientemente, ha surgido un nuevo campo de investigación centrado en el estudio de las interacciones virus-hospedador, y más concretamente, en el análisis de las relaciones evolutivas que se establecen entre los bacteriófagos y sus hospedadores bacterianos (9). El estudio de su coevolución constituye un excelente modelo para discernir la dinámica de adaptación mutua y el efecto que ésta tiene sobre la evolución de la virulencia.

**3.6. Perspectivas en evolución aplicada de virus.** A lo largo de este trabajo, hemos mostrado cómo la evolución experimental en virus ha servido para corroborar diversas hipótesis de la teoría de la evolución. Sin embargo, además de proporcionar valiosa información en investigación básica, muchos de los resultados obtenidos abren nuevas líneas de estudio en la lucha contra las enfermedades virales. Actualmente, las terapias empleadas en la lucha contra las enfermedades virales distan mucho de ser efectivas, lo que se agrava si tenemos en cuenta el problema de las enfermedades emergentes. Un ejemplo claro es el de la gripe aviar, una enfermedad que afecta fundamentalmente a aves, pero donde se han detectado varios casos en mamíferos, incluido el ser humano. De hecho la Organización Mundial de la Salud considera muy probable una próxima pandemia de gripe, causada probablemente por un salto desde su hospedador original hacia la especie humana. Este salto sería consecuencia de cambios en la especificidad antigénica del virus, que podría venir causada por fenómenos de recombinación con otro virus circulante en la población humana. En consecuencia, esta capacidad adaptativa de los virus dificulta enormemente el diseño de terapias antivirales efectivas. En este sentido, actualmente se están llevando a cabo experimentos que tratan de impedir el desarrollo normal de la infección viral mediante el aumento de su carga mutacional. Se considera que las altas tasas de mutación a las que replican los virus de RNA se encuentran muy próximas al umbral por encima del cual se produciría la extinción del virus (10). Con objeto de aprovechar esta característica intrínseca de los virus de RNA, se está ensayando una nueva terapia antiviral conocida como mutagénesis letal (10), donde se emplean agentes mutagénicos específicos de RNA. Sin embargo, incluso esta estrategia antiviral presenta inconvenientes, ya que se ha observado que los virus pueden generar mecanismos potenciales de resistencia a la acción de compuestos mutagénicos, como por ejemplo un aumento en la fidelidad de la polimerasa viral.

#### 4. CONCLUSIONES

En el presente trabajo hemos mostrado algunos avances en el campo de la evolución experimental de virus y, en particular, en virus de RNA. Su rápida evolución permite contrastar hipótesis genético-poblacionales de una forma rápida y sencilla. Además, el estudio de los mecanismos que rigen las dinámicas de adaptación virales ha arrojado luz sobre su naturaleza.

Particularmente, se ha observado que las altas tasas de mutación intrínsecas a los virus de RNA impone una gran carga mutacional a la población, ya que la mayoría de las mutaciones tiene un carácter deletéreo o letal. Sin embargo, este bajo nivel de robustez individual contrasta con su enorme capacidad adaptativa, ya que su espectro mutacional supone un excelente caldo de cultivo para la aparición de mutaciones adaptativas, que serán rápidamente seleccionadas. Además, las altas tasas de mutación permiten que la fijación de mutaciones beneficiosas no suponga una merma significativa en la diversidad genética poblacional, ya que ésta puede ser recuperada rápidamente sobre el nuevo fondo genético. En contraposición con esto, también hay que destacar el alto nivel de restricción funcional presente en virus de RNA, como muestra la frecuente aparición de convergencias a nivel molecular. En cualquier caso, el conocimiento de los factores clave que determinan la evolución de los virus de RNA y los diferencian de organismos más complejos es indudablemente crítico para combatir las enfermedades virales de una forma eficiente.

**5. AGRADECIMIENTOS** Queremos agradecer la financiación por parte del proyecto BFU2008-03978/BMC, así como la relativa a los programas Juan de la Cierva y Ramón y Cajal del Ministerio de Ciencia e Innovación.

## 6. REFERENCIAS

1. Darwin, C. **1859**. *On the origin of species by means of natural selection*. J. Murray, Ed. London.
2. Swallow, J. G. *et al* **1998**. Artificial selection for increased wheel-running behavior in house mice. **Behav. Genet.** 28. Pp: 227-237
3. Trut, L. **1999**. Early canid domestication: farm-fox experiment. **Am. Sci.** 87. Pp: 160-169
4. Herrel, A., K. *et al* **2008**. Rapid large-scale evolutionary divergence in morphology and performance associated with exploitation of a different dietary resource. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.** 105. Pp: 4792-4795.
5. Elena, S. F., R. E. Lenski. **2003**. Evolution experiments with microorganisms: the dynamics and genetic bases of adaptation. **Nat. Rev. Genet.** 4. Pp. 457-469.
6. Duffy, S. *et al* **2008**. Rates of evolutionary change in viruses: patterns and determinants. **Nat. Rev. Genet.** 9. Pp. 267-276.
7. Cuevas, J.M., *et al.*, **2009**. Experimental evolution and population genetics of RNA viruses. **The Open Evolution Journal.** 3. Pp. 9-16.
8. Cuevas, J. M., *et al* **2002**. Molecular basis of adaptive convergence in experimental populations of RNA viruses. **Genetics.** 162. Pp: 533-542
9. Brockhurst, M. A., *et al* **2007**. Experimental coevolution with bacteria and phage. The *Pseudomonas fluorescens*--Phi2 model system. **Infect. Genet. Evol.** 7. Pp: 547-552
10. Crotty, S., R. Andino. **2002**. Implications of high RNA virus mutation rates: lethal mutagenesis and the antiviral drug ribavirin. **Microbes. Infect.** 4. Pp: 1301-1307

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Domingo, E.C., Parrish, C.R., Holland, J.J. (Eds). 2008. Origin and Evolution of Viruses. Academic Press

---

## 8.2

### **Evolución en Acción: Estudios de Evolución Experimental en el Contexto de la Selección Sexual**

**Francisco García-González**

*Centre for Evolutionary Biology. The University of Western Australia. Nedlands 6009, Perth, Australia*

#### **RESUMEN**

Los estudios de evolución experimental constituyen una herramienta de extrema utilidad para comprender los procesos evolutivos a nivel intra-específico. Este artículo expone, a grandes rasgos, en qué consiste la evolución experimental y qué información ofrece. Se resalta el caso particular de estudios que utilizan esta aproximación metodológica para avanzar en el conocimiento de la selección sexual y de sus consecuencias evolutivas. Se muestra con algunos ejemplos cómo los estudios de evolución experimental contribuyen de manera significativa a mejorar la comprensión de la evolución de caracteres que determinan el éxito en el apareamiento y la fecundación, o de las diferencias entre los sexos.

#### **1. EVOLUCIÓN EXPERIMENTAL. UTILIDADES.**

La evolución experimental, en la cual se investigan los cambios en los caracteres de los individuos a través de las generaciones como respuesta a un agente de selección, es de gran utilidad en estudios de microevolución, aquellos que se ocupan de la evolución a nivel intra-específico. Se podría decir que la evolución experimental se ha venido realizando desde hace milenios, puesto que la selección artificial sobre caracteres de animales y plantas data desde los inicios de la domesticación. Es un tema éste, el de la selección artificial, sobre el que Charles Darwin incide en gran medida en *El Origen de las Especies* (1). Darwin expone magistralmente en su gran obra la analogía existente entre la selección llevada a cabo por el hombre en razas y variedades domésticas, y la selección natural, verdadero motor de la evolución. Sin embargo, a pesar de este conocimiento, es en los últimos cien años, y sobre todo en las últimas décadas, tal y como apuntan Hill y Caballero (2), cuando la experimentación con selección artificial se ha realizado de manera rigurosa y cuando se ha utilizado para recabar información de primera mano en cuanto a genética cuantitativa y biología evolutiva.

Los estudios de evolución experimental se pueden dividir, fundamentalmente, en dos clases (3). El primer tipo de estudios lo constituyen estudios análogos a la selección artificial realizada de manera típica en el campo de la producción animal y vegetal, pero con un objetivo claramente distinto: inferir procesos evolutivos. En este

tipo de experimentos, el investigador selecciona, a lo largo de varias generaciones, los individuos que formarán la siguiente generación en base a la existencia o magnitud de un carácter. El agente selectivo es, por lo tanto, el propio investigador. El método más extendido se conoce como selección truncada, en el cual se determina a priori un valor específico de un carácter, y el investigador selecciona los individuos que expresan un valor más alto (o más bajo) para ese carácter. En resumen, se fuerza a que determinados individuos, aquellos que poseen un fenotipo determinado, tengan alta eficacia biológica (darán lugar a la siguiente generación), mientras que los individuos que no satisfacen la expresión del carácter o el grado de expresión son forzados a tener eficacia biológica nula.

En el segundo tipo de estudios el investigador manipula o establece el agente selectivo en lugar de ejercer una selección directa sobre los individuos. En otras palabras, se fuerzan o imponen unas condiciones experimentales que actúan como agente de selección a lo largo de generaciones, y se obtienen y analizan las respuestas evolutivas en los caracteres o genotipos de los individuos. Este tipo de evolución experimental ha sido definido como de “selección natural en el laboratorio” (“laboratory natural selection”) (3). Sin embargo, esta denominación puede dar lugar a confusión por tres razones. Primero, este tipo de estudios no está limitado al estudio de la selección natural, sino también a la selección sexual, como veremos a continuación. Segundo, estos estudios tienen también un componente artificial, puesto que el investigador modifica de manera artificial el agente de selección. Por último, la mayoría de experimentos de selección artificial con fines evolutivos también se realizan en el laboratorio. Por ello, aquí denominaremos a este segundo tipo de estudios como estudios de *selección impuesta*, en contraposición a los estudios de *selección artificial*. Como se ha matizado más arriba, estos dos tipos de estudios difieren en un aspecto crucial: en la selección artificial el agente selectivo es el propio investigador, mientras que en la selección impuesta el agente selectivo está establecido por el investigador y la selección de individuos que dan lugar a la siguiente generación ocurre como respuesta a la presión selectiva.

Aunque las ventajas y limitaciones de la selección artificial y selección impuesta difieren, los estudios de evolución experimental generalmente constituyen una herramienta para comprender la naturaleza y alcance de la variación fenotípica y genética, y por ende, la base genética de los procesos evolutivos. En primer lugar, revelan si un determinado carácter o caracteres tienen la capacidad de responder a la selección. Por ello, informan sobre la heredabilidad y la variación genética de los caracteres sujetos a selección. Puesto que la variación genética es la materia prima sobre la que actúa la selección natural o sexual, los estudios de evolución experimental permiten sacar conclusiones acerca de la evolvabilidad de los caracteres. La evolución experimental también es útil para estudiar cómo el azar o la adaptación juegan un papel fundamental en la evolución, y puede ser empleada incluso para investigar la existencia de reversibilidad en la evolución por medio del estudio de la adaptación de líneas de selección a condiciones ambientales ancestrales. Asimismo, la evolución experimental tiene un valor excepcional para la investigación de las relaciones o asociaciones entre caracteres. La selección artificial frecuentemente resulta en la evolución de caracteres que no han sido

objeto de selección, pero que cambian de manera correlacional a los cambios en los caracteres seleccionados. Esto permite inferir la magnitud y dirección de asociaciones genéticas entre caracteres, y los efectos de dichas interrelaciones sobre las tasas de cambio evolutivo. En este sentido, los estudios de evolución experimental son de enorme utilidad para comprender la evolución de rasgos complejos o multifacéticos, y para entender los mecanismos responsables del mantenimiento de la variación genética en dichos caracteres.

## 2. EVOLUCIÓN EXPERIMENTAL Y SELECCIÓN SEXUAL

Darwin identificó la selección sexual como agente causante de la evolución de caracteres vistosos o exagerados, tales como plumajes coloridos en las aves, que no pueden ser explicados por la selección natural, pero que juegan un papel en la obtención de pareja y de apareamientos (4). La selección sexual se diferencia, por lo tanto, de la selección natural en que la primera actúa sobre el número y la identidad o calidad de las parejas sexuales, mientras que la segunda actúa sobre la fecundidad, la viabilidad o la longevidad. La selección sexual se ha entendido tradicionalmente como un proceso que finaliza con el apareamiento y que incluye tanto la competencia entre los miembros de un sexo (generalmente machos) por el acceso al otro sexo, como la selección de pareja (generalmente por parte de la hembra en base a rasgos expresados por los machos). Sin embargo, una profusión de estudios en las últimas cuatro décadas ha dejado patente que la selección sexual puede continuar después de la cópula en especies en las cuales las hembras se aparean con varios machos (poliandria). La selección sexual post-cópula incluye tanto competencia espermática (cuando los eyaculados de diferentes machos compiten por la fecundación de los óvulos de una hembra), como la selección femenina post-cópula (también denominada elección críptica femenina; cuando las hembras influyen en el resultado de la competencia espermática, es decir, en la paternidad). La selección sexual, por lo tanto, no sólo es relevante a la hora de explicar la evolución de caracteres implicados en la obtención de parejas y apareamientos, sino que también es responsable de la evolución de caracteres que determinan el éxito en la fecundación y los patrones de paternidad.

Los estudios de evolución experimental son de extraordinario valor para avanzar en la comprensión de la selección sexual y de sus consecuencias evolutivas. La evolución experimental permite examinar las consecuencias de la selección sexual sobre las diferencias entre los sexos, o el papel de la selección sexual en la evolución de caracteres morfológicos, fisiológicos y de comportamiento implicados en la obtención de parejas, el apareamiento y la fecundación. Los estudios de evolución experimental pueden emplearse para verificar la existencia de asociaciones genéticas entre caracteres y así contrastar diferentes modelos de selección sexual que tratan de explicar la existencia de rasgos elaborados en machos y la preferencia por estos rasgos por parte de las hembras. Igualmente, estos estudios son de gran utilidad para investigar asociaciones genéticas entre caracteres implicados en la selección sexual y caracteres sujetos a selección natural, lo cual informa sobre los límites de la evolución. En algunos casos, los estudios de evolución experimental, y en particular los de selección impuesta, se han convertido en una herramienta

crucial para la investigación de las implicaciones evolutivas del conflicto entre sexos. También cabe mencionar que la evolución experimental se utiliza con gran éxito para examinar las consecuencias de la selección sexual sobre la acumulación de mutaciones deletéreas y la viabilidad poblacional.

Los protocolos más extendidos en los estudios de evolución experimental en el contexto de la selección sexual son de dos tipos. Por un lado, protocolos de selección artificial, y por otro, protocolos de selección impuesta en los que se manipula o se elimina la selección sexual en líneas experimentales. A continuación se exponen y discuten varios ejemplos que ilustran el tipo de cuestiones que abordan los estudios de evolución experimental en el seno de la selección sexual.

**2.1. Evolución experimental y conflicto sexual: un ejemplo clásico utilizando un modelo clásico.** Un ejemplo clásico de estudio de evolución experimental en el contexto de la selección sexual es el realizado por Holland y Rice (5) en la mosca *Drosophila melanogaster*. Para entender la motivación y las implicaciones de este experimento es preciso, primero, describir sucintamente algunos antecedentes relativos a los conceptos de conflicto sexual y selección sexual antagonista, y a la biología del modelo de estudio.

*D. melanogaster* se ha convertido en el arquetipo de especie con conflicto sexual que ha dado lugar a selección sexual antagonista. El conflicto sexual se define como la diferencia en los intereses evolutivos entre machos y hembras. Este conflicto se materializa por medio de la evolución de caracteres que incrementan el éxito reproductivo de un sexo (por ejemplo machos) a costa del éxito reproductivo de miembros del otro sexo. Uno de los conflictos sexuales más extendido ocurre en relación a las tasas de apareamiento. El origen de este conflicto radica en la asimetría que existe entre machos y hembras en el tamaño y número de los gametos y en su inversión parental (ver el capítulo 5.5 “Selección sexual post-cópula y la evolución de la poliandria”). Por norma general, los machos pueden teóricamente incrementar el número de descendencia producida de manera más o menos proporcional al número de apareamientos que realicen con diferentes hembras. Sin embargo, el número de descendencia de la hembra está limitado en mayor medida (en comparación con los machos) por el número más limitado de gametos y por su mayor inversión en ellos. Por ello, en términos teóricos, las hembras pueden maximizar su éxito reproductivo con menos cópulas que las necesarias para que los machos maximicen el suyo. En definitiva, los intereses evolutivos de machos y hembras en cuanto al número de apareamientos pueden diferir dentro de una especie. Una consecuencia notable de este conflicto es que puede dar lugar a la coevolución de caracteres en machos y hembras que regulen el resultado del conflicto. Con frecuencia la competencia por obtener éxito en el apareamiento y en la fecundación de los óvulos es intensa, y por esta razón la evolución puede favorecer caracteres masculinos que persuadan o fuercen a las hembras de cara al apareamiento. Puesto que estos rasgos son costosos para la eficacia biológica femenina al inducir tasas de apareamiento mayores que las que son óptimas para maximizar el éxito reproductivo, se espera que la selección favorezca caracteres en las hembras que les permita resistirse a los efectos de los caracteres de los machos. Esto, a su vez, favorece la evolución de caracteres más persistentes en los machos, lo que a

su vez favorece la evolución de caracteres más resistentes en las hembras, y así a través de las generaciones, con lo cual se puede iniciar una “carrera de armamentos” coevolutiva entre los sexos.

En *D. melanogaster* es bien sabido que los machos modifican drásticamente el comportamiento y la fisiología femenina durante el apareamiento. En esta especie la inseminación y transferencia de substancias seminales se traduce en varios efectos que incrementan la eficacia biológica masculina a costa de una reducción en la eficacia biológica femenina. Primero, se reduce la receptividad sexual de la hembra recién apareada. De esta manera, el macho impide que la hembra se vuelva a aparearse con otro macho y asegura una paternidad alta en la progenie producida. Segundo, la producción de huevos de la hembra se incrementa poco después del apareamiento. Tercero, de manera dramática para la eficacia biológica femenina, la longevidad de las hembras disminuye (6).

El experimento de Holland y Rice precisamente abordó el conflicto sexual y la coevolución sexual antagonista por medio de la eliminación de selección sexual en unas poblaciones de la mosca de la fruta (5). La predicción de estos autores fue simple pero tiene consecuencias de gran alcance: si en una especie existe conflicto sexual y coevolución sexual antagonista debido a la competencia por el apareamiento y la fecundación, entonces la eliminación de selección sexual (y por tanto del conflicto sexual) no deberá favorecer el mantenimiento de caracteres masculinos que disminuyen la eficacia biológica femenina, ni el mantenimiento de caracteres resistentes en las hembras. Dicho de otra forma, se debería favorecer la evolución de machos menos persistentes y hembras menos resistentes (puesto que éstas evolucionarían en ausencia de machos manipuladores que impongan costes en el apareamiento). Holland y Rice establecieron 4 poblaciones experimentales (o líneas de selección), cada una de ellas con cien hembras reproductoras, que mantuvieron durante 47 generaciones. En dos de estas líneas las moscas se criaban en condiciones de monogamia: cada hembra sólo tenía acceso a un macho, y cada macho a una hembra. Bajo una monogamia genética estricta la eficacia biológica de un individuo depende enteramente de la eficacia biológica de su pareja sexual, por lo que no puede haber lugar para un conflicto sexual. En las otras dos líneas, que sirvieron de control, la selección sexual seguía operando al permitirse la poliandria y la competencia entre machos: cada hembra tenía acceso a tres machos, que tenían que competir por el apareamiento y la fecundación de los óvulos de la hembra, y las hembras podían aparearse con varios de estos machos. Los autores comprobaron la persistencia de los machos y la resistencia de las hembras en diferentes generaciones a lo largo del proceso de selección. Los resultados que obtuvieron fueron muy reveladores. Primero, usando hembras que no pertenecían a las poblaciones experimentales, comprobaron que su longevidad era mayor cuando se apareaban con machos de las líneas monógamas que cuando se apareaban con los machos de las líneas poliándricas. Esto corroboró que los machos de líneas monógamas habían evolucionado caracteres menos dañinos para la eficacia biológica femenina. Segundo, mantuvieron hembras de los dos tratamientos con machos de las líneas poliándricas, y observaron que las hembras obtenidas de las líneas monógamas morían antes que las hembras de poblaciones poliándricas. Este resultado confirmó que las hembras de líneas monógamas no

evolucionaron caracteres de resistencia a los caracteres nocivos masculinos que se habían mantenido en las líneas poliándricas. En otras palabras, la resistencia femenina se mantuvo en las líneas poliándricas como respuesta a los caracteres persistentes de los machos con los que coevolucionaron, mientras que en las líneas monógamas la resistencia femenina no se favoreció al ser de poca utilidad cuando los machos no exhiben caracteres perniciosos. Por lo tanto, los resultados apoyaron de manera contundente la existencia de coevolución sexual antagonista.

**2.2. Evolución experimental y la evolución de caracteres que determinan el éxito en el apareamiento y la fecundación.** La evolución experimental puede ser empleada con gran acierto para estudiar el papel de la selección sexual en la evolución de un gran número de caracteres implicados tanto en la obtención de pareja y apareamientos (selección sexual pre-cópula) como en la obtención de paternidad una vez realizada la cópula (selección sexual post-cópula). Así, se han llevado a cabo estudios de evolución experimental para examinar la evolución de, por ejemplo, el comportamiento en el cortejo y el apareamiento, el tamaño de los testículos, la morfología genital, la cantidad y calidad del eyaculado, el tamaño de las glándulas seminales masculinas, o el número y tamaño de los espermatozoides (7, 8).

En algunos casos la evolución experimental puede analizar no sólo la respuesta a la selección por parte de caracteres simples, sino también la respuesta de rasgos complejos que son el resultado de las interacciones y compromisos genéticos entre múltiples caracteres. Como ejemplo de este último caso, Simmons y García-González realizaron un estudio en el que contrastan si la evolución del éxito masculino en la fecundación se ve gobernada por la selección sexual (7). Estos autores emplearon un protocolo en el que se forzó condiciones monógamas en tres poblaciones experimentales del escarabajo *Onthophagus taurus*, mientras que no se restringió la selección sexual pre-cópula o post-cópula en otras tres poblaciones experimentales (líneas control). El proceso de selección se llevó a cabo durante 21 generaciones, y el análisis de cambios en la inversión de los machos en tejido testicular (relativo al peso corporal) se realizó en varias generaciones a lo largo del estudio. Los resultados obtenidos pusieron de manifiesto que el tamaño testicular disminuyó en las líneas monógamas a lo largo del proceso de selección. Por otra parte, un experimento en el cual se apareó doblemente a hembras obtenidas de poblaciones no experimentales con machos provenientes de ambos tratamientos de selección reveló que, en condiciones de competencia espermática, los machos de líneas poliándricas obtenían mayor éxito en la fecundación (es decir, obtenían mayores tasas de paternidad) que los machos de líneas monógamas. Esto demuestra que los machos de líneas monógamas perdieron la capacidad competitiva (de cara a la fecundación) que caracteriza a individuos de poblaciones control o poblaciones naturales, al evolucionar en ausencia de la presión selectiva ejercida por la selección sexual post-cópula.

El estudio mencionado es sólo un ejemplo más de la utilidad de los estudios de evolución experimental en el campo de la selección sexual. Al margen de comprobar la respuesta a la selección sexual de caracteres implicados en la reproducción, y de obtener información en cuanto a la



evolubilidad de estos caracteres, la evolución experimental también puede arrojar luz sobre las fuerzas selectivas causantes de la variabilidad biológica a escala inter-específica, es decir, a un nivel macroevolutivo. En el caso concreto del estudio en *O. taurus*, por ejemplo, se observa que la evolución del tamaño relativo de testículos responde a la selección sexual post-cópula, lo que apoya resultados teóricos y comparativos que sugieren que la variación a nivel inter-específico de este carácter tan importante en la reproducción depende de los niveles de competencia espermática experimentados por cada especie en particular.

Otro ejemplo interesante de este tipo de estudios es el llevado a cabo por Miller y Pitnick (9). Estos autores seleccionaron artificialmente y de manera divergente (es decir, seleccionaron en ambos extremos de la distribución del carácter) dos caracteres en la mosca de la fruta *D. melanogaster*: la longitud de los espermatozoides en machos y la longitud del receptáculo seminal en las hembras, éste último siendo el órgano principal donde las hembras almacenan el esperma hasta el momento en el que es usado para la fecundación. Ambos caracteres respondieron a la selección artificial, hecho que demuestra que existe suficiente varianza genética en ambos rasgos como para posibilitar su evolución. Sin embargo, los resultados más influyentes de este estudio demostraron la existencia de coevolución entre los caracteres masculinos y femeninos. Primero, por medio de cruces entre las líneas de selección los autores comprobaron que el éxito en la fecundación de un macho está determinado por la interacción entre la morfología de sus espermatozoides y la morfología de caracteres reproductivos de su pareja. Segundo, la selección artificial sobre la morfología del tracto reproductivo femenino puso de manifiesto una respuesta correlacionada en la morfología de los espermatozoides. Estos resultados tienen repercusiones importantes para la selección sexual al demostrar que la selección femenina se extiende más allá de la elección de pareja: las hembras pueden sesgar la paternidad en favor de determinados machos dependiendo de la morfología de su tracto reproductivo.

### 3. APUNTES FINALES

Los protocolos usados en los estudios de evolución experimental no son, por norma general, complejos. Sin embargo, la naturaleza de los protocolos de selección implica que no todos los organismos son susceptibles de ser buenos modelos de estudio en la evolución experimental. Las limitaciones más obvias vienen dadas por la necesidad de trabajar con especies de generación corta y con tamaños poblacionales grandes. Por esta razón, la mayoría de estudios de evolución experimental en el contexto de la selección sexual se realizan en insectos. No obstante, actualmente se está ampliando la diversidad de sistemas usados en evolución experimental aplicada al estudio de la selección sexual. En concreto, el uso de microorganismos se está revelando prometedor.

En tiempos recientes existe una profusión de estudios de evolución experimental que implementan metodologías más sofisticadas o herramientas experimentales adicionales, por ejemplo de carácter genético. Un caso interesante de estos protocolos son aquellos en los que se manipula la selección en uno de los sexos mientras que ésta se mantiene inalterada en el

otro (para más información el lector puede remitirse a los últimos trabajos del equipo de William Rice, de la Universidad de California, Santa Bárbara). En cualquier caso, parece existir una tendencia general a realizar este tipo de estudios en especies caracterizadas por la existencia de conflicto sexual. La razón de este sesgo radica en el reconocimiento de la importancia del conflicto sexual en evolución, pero también el hecho de que la biología reproductiva de algunas especies tradicionalmente usadas como modelos en biología está dominada por este conflicto (por ejemplo, *Drosophila*). No hay duda de que nuestra comprensión del conflicto entre sexos y de sus consecuencias evolutivas está mejorando con el uso de experimentos de evolución experimental. Sin embargo, no se debe olvidar que el conflicto sexual intenso y la selección sexual antagonista no son inherentes a la totalidad de especies con selección sexual.

Por último, merece la pena mencionar que un uso de la evolución experimental que reviste gran interés es la investigación de los efectos de la selección sexual sobre la eficacia biológica individual y la viabilidad poblacional. Se ha sugerido que la selección sexual puede acelerar las tasas de adaptación a nuevos ambientes e incrementar la eficacia biológica a nivel poblacional, por ejemplo a través de la eliminación de mutaciones deletéreas. Por citar sólo un caso, un trabajo reciente en *D. melanogaster* ha mostrado que en poblaciones en las que se permite actuar a la selección sexual la pérdida de un alelo deletéreo ocurre con más rapidez que en poblaciones sin selección sexual (10). Sin embargo el efecto de la selección sexual sobre la viabilidad de las poblaciones es un tema controvertido. Puesto que la eliminación de la oportunidad de selección sexual también elimina el conflicto sexual, es difícil separar los efectos presumiblemente beneficiosos de la selección sexual de los efectos negativos del conflicto entre los sexos en aquellos casos en los que este último es intenso.

En resumen, tras una introducción somera y un revisión no exhaustiva de las utilidades de la evolución experimental en el campo de la selección sexual, queda patente que esta aproximación metodológica ofrece información excepcional. Indudablemente, los estudios de evolución experimental seguirán iluminando nuestra comprensión de los procesos evolutivos en aniversarios venideros de la publicación de El Origen de las Especies.

**4. AGRADECIMIENTOS.** Gracias al Australian Research Council por el apoyo financiero (Australian Research Fellowship y Discovery Project), y a Juan José García Adeva por sus correcciones y sugerencias. Gracias también a un gran número de investigadores que han contribuido de manera significativa al avance de los temas aquí expuestos, pero que no han podido ser citados en el texto por las limitaciones impuestas por el formato.

## 5. REFERENCIAS

1. Darwin, C. R. **1859**. *On the origin of species*. John Murray. London.
2. Hill, W. G. & Caballero, A. **1992**. Artificial selection experiments. **Ann Rev Ecol Syst**, 23. Pp: 287-310.

3. Fuller, R. C., Baer, C. F. et al. **2005**. How and when selection experiments might actually be useful. **Integr Comp Biol**, 45. Pp: 391-404.
4. Darwin, C. R. **1871**. *The Descent of Man, and Selection in Relation to Sex*. John Murray. London.
5. Holland, B. & Rice, W. R. **1999**. Experimental removal of sexual selection reverses intersexual antagonistic coevolution and removes a reproductive load. **Proc Nat Acad Sci USA**, 96. Pp: 5083-5088.
6. Pitnick, S. & García-González, F. **2002**. Harm to females increases with male body size in *Drosophila melanogaster*. **Proc R Soc Lond B**, 269. Pp: 1821-1828.
7. Simmons, L. W. & García-González, F. **2008**. Evolutionary reduction in testes size and competitive fertilization success in response to the experimental removal of sexual selection in dung beetles. **Evolution**, 62. Pp: 2580-2591.
8. Simmons, L. W., House, C. M., Hunt, J. & García-González, F. **2009**. Evolutionary response to sexual selection in male genital morphology. **Current Biology**, 19: 1442-1446.
9. Miller, G. T. & Pitnick, S. **2002**. Sperm-female coevolution in *Drosophila*. **Science**, 298. Pp: 1230-1233.
10. Hollis, B., Fierst, J. L. et al. **2009**. Sexual selection accelerates the elimination of a deleterious mutant in *Drosophila melanogaster*. **Evolution**, 63. Pp: 324-333.

## 6. LECTURAS RECOMENDADAS

- Andersson, M. **1994**. *Sexual Selection*. Princeton University Press. Princeton.
- Arnqvist, G. and Rowe, L. **2005**. *Sexual conflict*. Princeton University Press. Princeton.
- Shuster, S.M. and Wade, M.J. **2003**. *Mating Systems and Strategies*. Princeton University Press. Princeton.

---

## 8.3

### **Adaptation of Cyanobacteria and Microalgae to Extreme Natural Environments**

**Victoria López-Rodas<sup>1</sup>, Eduardo Costas<sup>1</sup> and Antonio Flores-Moya<sup>2</sup>**

*1Departamento de Producción Animal (Genética). Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense. Avda. Puerta de Hierro s/n. E-28040 Madrid. Spain. 2 Departamento de Biología Vegetal (Botánica). Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga. Campus de Teatinos s/n. E-29071 Málaga. Spain.*

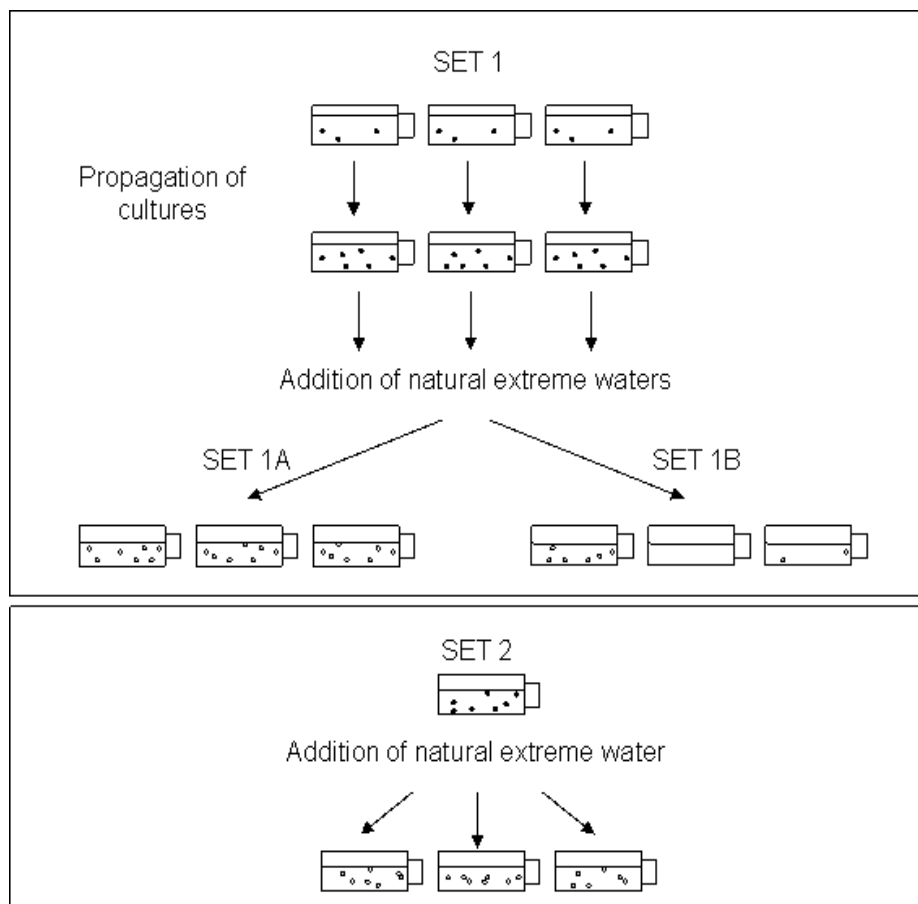
#### **RESUMEN**

Although the direct connection between mutation and adaptation is a key concept in adaptive evolution, little direct evidence of its occurrence in natural systems is available. The presence of mesophilic phytoplankters (cyanobacteria and microalgae) in ostensibly lethal extreme natural waters (characterized by extreme values of pH, concentrations of toxic metals, temperature, salinity and other stress factors) could be an example of adaptive evolution. The application of the experimental procedure named fluctuation analysis allows us to discriminate whether such adaptation is achieved by physiological adaptation or by the rise of rare, pre-selective single mutations occurring in wild populations. We found that in the majority of the cases examined, mesophilic eukaryotic microalgae can adapt to extreme waters by the rise of mutations conferring resistance. Thus, the survival and growth of mesophilic microalgae in natural extreme waters could be the consequence of the selection of resistant mutants. This hypothesis could explain the presence of mesophilic phytoplankters in very diverse extreme waters worldwide. Cyanobacteria adapted to various extreme waters studied that had pH values >4.5-5.0 but adaptation to more acidic waters (pH<4.0) did not occur.

#### **1. BACKGROUND**

One of the central tenets of neo-Darwinism is that adaptive evolution (the process that takes place under natural selection) depends on the rise of new genetic variants by mutations. Curiously, there are almost no experimental studies that have established direct connection between mutation and adaptation in natural populations of organisms (1). However, by integrating approaches from microbiology, genetics and phycology it is possible to empirically study an intriguing example of possible adaptive evolution: the proliferation of mesophilic phytoplankters in extreme natural environments characterized by extreme values of pH, toxic mineral concentrations, temperature, salinity and other stress factors. Extreme aquatic environments often support remarkable communities of phytoplankters but, in some cases, they resemble mesophilic rather than extremophilic assemblages (2). Little is known about the mechanisms allowing adaptation of mesophilic phytoplankters

to such extreme conditions. The key question is whether the adaptation of mesophilic phytoplankters is the result of the rise of new genetic variants (conferring resistance against natural extreme waters) that spontaneously appear in wild populations (i.e. an example of adaptive evolution) or, alternatively, adaptation is the consequence of the modification of gene expression (i.e. physiological adaptation). The experimental procedure named fluctuation analysis (3) allows us to distinguish between these two different adaptation processes.



**Figure 1.** Schematic diagram of the modified Luria and Delbrück fluctuation analysis (3). In the set 1, several cultures each inoculated with small inoculums were propagated until a high cell density was reached, and then the natural extreme water was added. If resistant cells arose by physiological adaptation the number of resistant cells in all the cultures must be similar (set 1A). If adaptation is achieved by rare mutations occurring in the period of the propagation of cultures the difference of the number of resistant cells in each culture must be huge (set 1B). In the figure, one mutational event occurred early in the propagation of the first culture line (therefore, the density of resistant cells found is high) and late in the third culture line (thus, density of resistant cells found is lower than in the first culture line). Set 2 samples the variance of parental populations as an experimental control. In this case, the number of resistant cells in all the cultures must be similar.

We modified fluctuation analysis for application to liquid cultures of phytoplankton. The modification involves the use of liquid medium containing the selective agent rather than plating colonies on a solid medium, as was done with bacteria by Luria and Delbrück (3). Two different sets of experimental cultures were prepared. In the set 1 (experimental set), multiple independent culture flasks containing culture medium were inoculated with a number of cells that was small enough to reasonably ensure the absence of pre-existing mutants of the mesophilic strain. When each culture proliferated to a very high number of cells, the culture medium was substituted by a natural extreme water sample. For set 2 (control), several cultures from the same parental population were separately transferred to culture flasks containing the natural extreme water. All cultures were kept under selective conditions (i.e. natural extreme waters) and observed after a period of time long enough to allow resistant cells to propagate a significant population (2-3 months). At the end of the experiments, the number of resistant cells in both sets was counted.

Two different results can be found in set 1 when conducting a fluctuation analysis, each being interpreted as the independent consequence of two different phenomena of adaptation. If resistant cells arose after the exposure of the cells to the natural extreme water, the variance in the number of cells per culture would be low (Figure 1, set 1A) because every cell is likely to have the same chance of developing resistance. By contrast, if cells appeared by random, pre-selective mutations occurring before the exposure to the natural extreme water, high variation in the inter-culture number of resistant cells should be found (Figure 1, set 1B). Set 2 samples all the sources of variance associated with the experimental procedure (Figure 1). Thus, the overall mean number of resistant cells in every set 2 culture must be similar.

Moreover, if a similar variance:mean ratio in the number of resistant cells per culture is found in sets 1 and 2, it confirms that resistant cells appeared after the exposure to the natural extreme water by physiological adaptation. By contrast, if the variance:mean ratio from set 1 is higher than in set 2, it means that resistant cells arose by spontaneous mutations prior to exposure to natural extreme water.

If the fluctuation analysis shows that resistance to natural extreme waters is a consequence of mutations, the mutation rate ( $\mu$ ) can be computed, taking into account the proportion of cultures showing no mutants in set 1 ( $P_0$  estimator) (3):

$$P_0 = e^{-\mu(N_t - N_0)}$$

where  $N_0$  and  $N_t$  are the initial and the final cell population size before the addition of the natural extreme water. Moreover, if the mutation from wild-type sensitive allele to a natural extreme water-resistant allele is recurrent and the resistant allele is detrimental in fitness in the absence of the selective agent, then new resistant mutants continually arise, but most of these mutants are eliminated sooner or later by natural selection or by chance (4). According to (5), the average number of such mutants will be determined by the balance between mutation rate and the rate of selective elimination, in accordance with the equation:

$$q = \mu / (\mu + s)$$

where  $q$  is the frequency of the resistant allele and  $s$  is the coefficient of selection, calculated as follows:

$$s = 1 - (m^r / m^s)$$

( $m^r$  and  $m^s$  are respectively the Malthusian fitness of resistant and wild-type sensitive cells, measured in non-selective conditions, i.e. control culture medium).

Obviously, another result (0 resistant cells in each culture) could also be found, indicating that neither selection on spontaneous mutations that occur before natural extreme water exposure, nor physiological adaptation during the exposure to natural extreme water, took place.

## 2. OBJETIVE

The aim of our framework was to determine whether mesophilic phytoplankters are capable to adapt to lethal, extreme environments by single mutations. For this purpose, mesophilic phytoplankters isolated from non-extreme waters were selected. We studied whether the mesophilic species could adapt to survive and grow in these extreme waters, by using the experimental design known as fluctuation analysis (3).

## 3. RESULTS & DISCUSSION

Table 1 shows the description and physic-chemical characteristics of the natural extreme waters used in the adaptation studies; the results of the fluctuation analyses are summarized in Table 2. We found that phytoplankters adapted by physiological processes in the least toxic geothermal waters from Bagno Vignoni and Doña Sara (Tables 1, 2). In contrast, rapid genetic adaptation was observed in waters ostensibly lethal for the experimental organisms (Tables 1, 2). This adaptation was achieved as consequence of single mutations at one locus (Table 2).

It is usually assumed that mesophilic eukaryotic microalgae occur rarely in extreme habitats. However, recent studies are changing these ideas about the adaptation of phytoplankters to these extreme environments. For example, eukaryotic microalgae contributed at least 60% of the biomass in the Rio Tinto of Spain (2). Molecular studies show that these microalgae are closely related to mesophilic microalgal species rather than acidophilic lineages. For this reason, it was proposed that adaptation from neutral to an extreme environment must occur rapidly (2). Selection of resistant mutants occurring spontaneously in non-extreme populations that repeatedly and fortuitously arrived at the river has been proposed as a mechanism to explain the rapid colonization of the Rio Tinto by mesophilic algae (6). Similarly, algae inhabiting the acidic, sulphureous water of La Hedionda spa (S Spain) could have originated by selection of pre-selective mutants of mesophilic algal lineages from non-extreme environments (7, 8). Another curious example is the genetic adaptation of the chlorophycean

*Dictyosphaerium chlorelloides* by a single mutation to the extreme waters from a pond on Vulcano Island (S Italy) (9). Recently, it has been shown that rapid genetic adaptation of mesophilic phytoplankters, as the consequence of single mutations at only one locus, occurs in several ostensibly lethal geothermal waters worldwide (10) (Table 2).

The mutation rates ranged from  $2.7 \times 10^{-7}$  to  $1.5 \times 10^{-5}$  mutants per cell per generation in the adaptation to the different natural extreme waters studied (Table 2). However, the number of resistant-cells in the wild populations, as the consequence of mutation-selection balance, was on the order of 10-200 cells per  $10^7$  wild-type cells (Table 2).

An interesting result was that the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* did not adapt to those natural extreme waters characterized by very acidic pH (Table 1), with values  $<4.0$  (6, 9, 10). Most cyanobacteria are intolerant of very low pH waters, disappearing at pH below 4.8 (2). The reason for the absence of cyanobacteria in acid environments is not known with certainty. The peripheral location of the photosynthetic apparatus in contrast with its location in chloroplasts in eukaryotic algae, together with the lack of eukaryote-specific ion-transporter ATPases (2), could be the basis of the failure of this group to adapt to acidic environments.

#### 4. CONCLUSIONS

Genetic adaptation, supported by the rise of pre-selective mutations, which are then selected, seems to be able to explain the presence of mesophilic microalgal and cyanobacterial species in natural extreme waters. However, a pH limit of ca. 4.0 could be a lethal limit for adaptation of cyanobacteria. In general, adaptation of mesophilic phytoplankters to natural extreme waters is a nice example of adaptive evolution in natural systems.

**5. ACKNOWLEDGEMENTS** The research framework was financially supported by the projects CGL 2005-01938 BOS, S-505/AMB/0374 CAM, P05-RNM-00935 and CGL2008-00652/BOS grants. Dr Eric C. Henry kindly revised the English style and usage.

#### 6. REFERENCES

1. Sniegowski, P.D and Lenski, R.E. **1995**. Mutation and adaptation: the directed mutation controversy in evolutionary perspective. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 26. Pp: 553–578
2. Amaral Zettler, L. A. et al. **2002**. Eukaryotic diversity in Spain's River of Fire. *Nature*, 417. Pp: 137.
3. Luria, S. E. and Delbrück, M. **1943**. Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance. *Genetics*, 28. Pp: 491–511.
4. Crow, J. F. and Kimura, M. **1970**. An introduction to population genetics theory. Harper and Row, Ed. New York.
5. Kimura, M. and Maruyama, T. **1966**. The mutational load with epistatic gene interactions in fitness. *Genetics*, 54. Pp. 1337–1351.



6. Costas, E., et al. **2007**. How eukaryotic algae can adapt to Spain's Rio Tinto: a neo-Darwinian proposal for rapid adaptation to an extremely hostile ecosystem. **New Phytologist**, 175. Pp: 334-339.
7. Flores-Moya, A., et al. **2005**. Adaptation of *Spirogyra insignis* (Chlorophyceae) to an extreme natural environment (sulphureous waters) through preselective mutations. **New Phytologist**, 166. Pp: 655-661.
8. Sniegowski, P. D. **2005**. Linking mutation to adaptation: overcoming stress at the spa. **New Phytologist**, 166. Pp: 360-362.
9. López-Rodas, V., et al. **2009**. Living in Vulcan's forge: algal adaptation to stressful geothermal ponds on Vulcano Island (S Italy) as result of pre-selective mutations. **Phycological Research**, 57. Pp: 111-117.
10. Costas, E., Flores-Moya, A. and López-Rodas, V. **2008**. Rapid adaptation of phytoplankters to geothermal waters is achieved by single mutations: were extreme environments 'Noah's Arks' for photosynthesizers during the Neoproterozoic 'snowball Earth'? **New Phytologist**, 180. Pp: 922-932.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Barton, N. H., et al. **2007**. Mutation and Selection. In: *Evolution*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Seckbach, J. and Oren, A. **2007**. Oxygenic photosynthetic microorganisms in extreme environments: Possibilities and Limitations. En: *Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments*. Springer.

### 8.3. Adaptation to Extreme Natural Environments

Natural extreme water	Description	Conductivity <sup>1</sup> (mS cm <sup>-1</sup> )	Temperature (°C)	pH	Reference
La Hedionda spa (S Spain)	Sulphureous pond	-	-	4.5	(7)
Tinto River (SW Spain)	Very acidic, metal-rich river	-	-	1.7-2.5	(6)
Bagno Vignoni (Italy)	Hot pond with fumaroles	3.7	38.6	6.0	(10)
Armana Marmi (Italy)	Hot spring with sulphide	7.7	43.8	6.7	(10)
Pienza (Italy)	Warm pond with fumaroles	7.4	27.7	2.5	(10)
Inferno Sujo (Italy)	Seltzer spring with benzene	6.0	21.0	2.9	(10)
Sulfione Pisciarelli (Italy)	Acid hot spring and fumaroles	2.4	30.1	2.0	(10)
Fangary (Italy)	Warm pond with fumaroles	8.3	32.1	5.7	(10)
Puzzoli (Italy)	Warm pond with fumaroles	6.7	30.1	3.2	(10)
Vulcano Island pond (Italy)	Warm sulphureous pond	-	30.3	3.1	(9)
Doña Sara (Argentina)	Seltzer hot spring forming a pond	6.5	59.9	6.4	(10)
Aguas Calientes (Argentina)	Hot pond with fumaroles	3.4	50.4	5.6	(10)
Las Papas (Argentina)	Hot pond with fumaroles	8.2	36.6	6.5	(10)
Los Tachos (Argentina)	Hot geyser forming a pond	6.3	46.1	7.0	(10)
La Maquinita (Argentina)	Hot spring forming a pond	1.2	37.1	4.0	(10)
Upper Agrio River (Argentina)	Very acidic river	3.0	-	1.9	Unpublished data
Cavihue Lake (Argentina)	Very acidic lake	2.0	-	2.2	Unpublished data
Lower Agrio River (Argentina)	Acidic river	0.5	-	4.1	Unpublished data

1. For comparisons, conductivity of absolute pure water and mean conductivity of the oceans are  $0.05 \times 10^{-3}$  and  $32.7 \text{ mS cm}^{-1}$ , respectively.

**Table 1.** Physico-chemical characteristics and description of the natural extreme waters used in the adaptation studies.

Species	Natural extreme water	Adaptation process	$\mu$	$q$	Ref.
<i>Spirogyra insignis</i> <sup>1</sup> <i>Dictyosphaerium chlorelloides</i> <sup>2</sup>	La Hedionda spa (S Spain)	Genetic	$2.7 \times 10^{-7}$	NM	(7)
	Tinto River (SW Spain)	Genetic	$1.4 \times 10^{-6}$	$1.5 \times 10^{-6}$	(6)
	Bagno Vignoni (Italy)	Physiological	-	-	(10)
	Amiana Marmi (Italy)	Genetic	$8.5 \times 10^{-6}$	$1.2 \times 10^{-5}$	(10)
	Pienza (Italy)	Genetic	$2.0 \times 10^{-6}$	$2.4 \times 10^{-6}$	(10)
	Inferno Sujo (Italy)	Genetic	$1.4 \times 10^{-6}$	$1.5 \times 10^{-6}$	(10)
	Sufione Pisciarelli (Italy)	None	-	-	(10)
	Fangary (Italy)	Genetic	$1.5 \times 10^{-5}$	$2.0 \times 10^{-5}$	(10)
	Puzzoly (Italy)	Genetic	$1.1 \times 10^{-5}$	$1.2 \times 10^{-5}$	(10)
	Vulcano Island pond (Italy)	Genetic	$4.7 \times 10^{-7}$	NM	(9)
	Doña Sara (Argentina)	Physiological	-	-	(10)
	Aguas Calientes (Argentina)	Genetic	$1.3 \times 10^{-5}$	$1.5 \times 10^{-5}$	(10)
	Las Papas (Argentina)	Genetic	$6.9 \times 10^{-6}$	$7.6 \times 10^{-6}$	(10)
	Los Tachos (Argentina)	Genetic	$4.2 \times 10^{-6}$	$4.9 \times 10^{-6}$	(10)
	La Maquinita (Argentina)	None	-	-	(10)
	Upper Agrio River (Argentina)	None	-	-	Unpublished data
	Cavihue Lake (Argentina)	None	-	-	Unpublished data
	Lower Agrio River (Argentina)	Genetic	$5.4 \times 10^{-7}$	$1.8 \times 10^{-6}$	Unpublished data
	Tinto River (SW Spain)	None	-	-	(6)
	<i>Microcystis aeruginosa</i> <sup>3</sup>	Bagno Vignoni (Italy)	Physiological	-	-
Amiana Marmi (Italy)		Genetic	$2.7 \times 10^{-6}$	$2.9 \times 10^{-6}$	(10)
Pienza (Italy)		None	-	-	(10)
Inferno Sujo (Italy)		None	-	-	(10)
Sufione Pisciarelli (Italy)		None	-	-	(10)
Vulcano Island pond (Italy)		None	-	-	(9)
Fangary (Italy)		Genetic	$1.1 \times 10^{-6}$	$1.4 \times 10^{-6}$	(10)
Doña Sara (Argentina)		Genetic	$1.1 \times 10^{-5}$	$1.2 \times 10^{-5}$	(10)
Aguas Calientes (Argentina)		None	-	-	(10)
Las Papas (Argentina)		None	-	-	(10)
Los Tachos (Argentina)	Genetic	$7.9 \times 10^{-6}$	$9.2 \times 10^{-6}$	(10)	
La Maquinita (Argentina)	None	-	-	(10)	
Upper Agrio River (Argentina)	None	-	-	Unpublished data	
Cavihue Lake (Argentina)	None	-	-	Unpublished data	
Lower Agrio River (Argentina)	Genetic	-	-	Unpublished data	

1, Charophyta; 2, Chlorophyta; 3, Cyanobacteria; NM, not measured. Units:  $\mu$ , mutants per cell per generation;  $q$ , no. of resistant cells per wild-type cell

**Table 2.** Result of the fluctuation analysis to study adaptation of mesophilic phytoplankters to natural extreme waters. The stress factors as well as the lethal effects of the extreme waters on wild-type cells of mesophilic phytoplankters are described in the respective reference



# Tema 9

---

## Evolución Cultural, Filosofía y Docencia



---

# 9.1

## Partes y Funciones en el Desarrollo y la Evolución. Hacia un Darwinismo Sistémico

Arantza Etxeberria<sup>1</sup> y Laura Nuño de la Rosa<sup>2</sup>

*<sup>1</sup>Departamento de Lógica y Filosofía de la Ciencia. Universidad del País Vasco UPV/EHU Avda de Tolosa 70, 20018 Donostia-San Sebastián. <sup>2</sup>Departamento de Filosofía I (Metafísica y Teoría del Conocimiento), Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Filosofía, Ciudad Universitaria 28040, Madrid, y IIHPST Universidad París 1-Sorbona. Rue du Four, 13, 75006, Paris*

### RESUMEN

La filosofía de la biología que emerge de la Síntesis Moderna ha tratado de eliminar el problema de la teleología (el hecho de que organismos y sus partes estén gobernados por fines o propósitos) apelando a la selección natural. Llevado al extremo, este enfoque mantiene que las partes de los organismos deben identificarse en términos de funciones, que a su vez sólo pueden explicarse apelando a la selección natural. En este artículo consideramos cómo aparecen las distintas concepciones de parte y función en el marco del darwinismo clásico y en el de la nueva síntesis propuesta por la biología evolutiva del desarrollo. Como veremos, el nuevo darwinismo sistémico ejercitado por la evo-devo conlleva dos implicaciones fundamentales: la disociación de los problemas de parte y función y la reconceptualización de la noción de función biológica.

### 1. INTRODUCCIÓN

El darwinismo constituye el principal marco filosófico y científico de las ideas que articulan el pensamiento sobre la naturaleza de la vida en torno al hecho de la evolución. Por ello, este programa ha adquirido un carácter central y organizador de la investigación biológica, que trasciende la mera reinterpretación del legado de Darwin y requiere ampliar y redefinir los problemas a resolver a medida que se conforman y desarrollan los diferentes campos de estudio. Es el caso del origen de la vida, la ecología o la genómica, ámbitos que pudieron no ser centrales en la formulación inicial de la teoría evolutiva pero que hoy son ya ingredientes esenciales de la misma. Puede decirse, así, que el propio darwinismo constituye un paradigma científico en constante evolución, y es interesante constatar que, a diferencia de lo que ha sucedido en otras ciencias como la física, las frecuentes demandas de ampliación o reformulación del planteamiento general raramente implican una revolución o ruptura radical.

El propósito de este artículo es la revisión histórico-filosófica de los conceptos de forma y función en el darwinismo para mostrar, por un lado, algunas dificultades que se derivan de su tratamiento en la llamada Síntesis

Moderna (que a partir de los años 40 y 50 agrupó diferentes disciplinas biológicas en torno a la teoría de la evolución) y, por otro, por qué ciertos aspectos que son relevantes para la biología actual requieren un enfoque distinto, más sistémico, de estas cuestiones.

Las historias de la biología articuladas en el marco de la Síntesis Moderna (SM) consideran que la genética de poblaciones pudo resolver problemas fundamentales de la evolución separando los problemas de la herencia y el desarrollo. Mientras que la teoría mendeliana de la herencia se introdujo sin problemas en el andamiaje conceptual del darwinismo, el problema del desarrollo se puso entre paréntesis. Esto supuso un abandono, en principio provisional, de la consideración del papel de la ontogénesis en la evolución (que antes había sido el principal objeto de la morfología evolucionista), y la adopción mayoritaria de una definición fundamentalmente genética de los organismos. En consecuencia, el estudio de la forma orgánica quedó desatendido durante varias décadas y, a efectos evolutivos, los rasgos estructurales de los organismos se consideraron supeditados a la función que desempeñan en virtud de presiones selectivas externas.

Sin embargo, el olvido de la embriología resultó a la larga en una línea de investigación insatisfactoria y diferentes razones inciden en señalar la necesidad de atender a los procesos auto-organizativos complejos en la formación de los organismos. Algunas de ellas tienen que ver con el interés renovado en adquirir una visión más sistémica de los organismos, como pone de manifiesto el auge reciente de la biología de sistemas. Por su parte, la biología evolutiva del desarrollo (más conocida como evo-devo) recupera el papel de los procesos ontogenéticos en la evolución, y revaloriza las explicaciones centradas en la forma.

La teoría sintética ha tendido a considerar que los organismos se diversifican morfológicamente a medida que se adaptan a nuevos nichos ecológicos, ofreciendo una respuesta marcadamente funcionalista al problema de cómo se generan materialmente las formas o estructuras biológicas: si los cambios morfológicos sufridos por los organismos a lo largo de su historia se estudian únicamente en tanto que productos de la selección de variaciones surgidas al azar, se considera que las partes surgen para cumplir un cierto papel útil para la adaptación a su entorno. El problema es que, de este modo, se blinda la entrada a la biología evolutiva a toda una serie de investigaciones posibles que podrían arrojar luz sobre los procesos de generación de formas. La perspectiva de la evo-devo trata de completar este aspecto de la teoría: para avanzar en el programa darwinista de estudio de la evolución de la vida en la Tierra, es fundamental comprender *cómo* se generan las variaciones sobre las que la selección natural opera a distintos niveles (véase, a este respecto, el trabajo de E. Jablonka y M. Lamb).

En este artículo examinamos, en primer lugar, la influencia de los problemas planteados por la teología natural y la sistemática en la redefinición de los conceptos de forma y función en la obra de Darwin, en contraposición con el significado que se les atribuía en la tradición continental. A partir de aquí, analizamos cómo la vía de investigación abierta por la evo-devo propone un replanteamiento filosófico de los problemas de la identificación de las partes y las funciones de los organismos, recuperando el espíritu filosófico de la morfología continental. Por un lado, la evo-devo cuestiona los supuestos de la

concepción heredada de la SM, pues trata de explicar las características de las partes orgánicas en base a los procesos ontogenéticos que las generan. Por otro lado, proponemos una revisión de la noción filosófica de *función* biológica que haga posible que, en lugar de estar supeditada a la selección natural, se constituya en un elemento conceptual clave para explicar la organización de los seres vivos.

Esta concepción sistémica de las partes de los organismos y de sus funciones biológicas permitiría aunar dos perspectivas de la vida a veces disonantes en las diferentes disciplinas biológicas, la evolutiva y la organizacional (5), en el marco de un nuevo “darwinismo sistémico” (9).

## 2. FORMA Y FUNCIÓN EN DARWIN

La biología predarwinista estuvo atravesada por multitud de discusiones en torno al rol desempeñado por la forma y la función en la explicación de la diversidad y la semejanza de las morfologías orgánicas. A lo largo de la primera mitad del siglo XIX, las posiciones teóricas de los naturalistas oscilaron entre dos grandes polos explicativos: las *condiciones de existencia* y la *unidad de tipo*. Encabezadas por Georges Cuvier, las teorías del primer grupo se centraban en las diferencias que caracterizan a los distintos planes de organización animal, basados en requerimientos funcionales irreductibles. Las del segundo, con Geoffroy Saint Hilaire como máximo exponente, defendían la prioridad de las semejanzas basadas en la estructura.

La teoría de la *descendencia con modificación* defendida en *El Origen* logró conjugar una doble solución al problema de la unidad y la multiplicidad orgánica: la comunidad de descendencia daba cuenta de la unidad de tipo, mientras que la teoría de la selección natural explicaba la diversidad orgánica en virtud de las adaptaciones particulares de los organismos a sus condiciones de existencia. La secular dialéctica entre forma y función parecía resuelta.

Sin embargo, los conceptos de forma y función defendidos en el *Origen* eran, en realidad, muy distintos de los manejados por la anatomía filosófica y el funcionalismo teleológico de la tradición continental. Por un lado, porque Darwin trata de responder a los problemas planteados por la teología natural británica, y, por otro, porque incluso desde una perspectiva estrictamente biológica, el *Origen* no se nutre de los interrogantes arrojados por la morfología, sino por la sistemática y la historia natural: el problema de las especies y de la adaptación ecológica (8).

Desde el punto de vista de la *forma de las partes orgánicas*, el darwinismo no supuso en principio una gran revolución conceptual, como demuestra la extraordinaria facilidad con la que la morfología trascendental se transformó en evolucionista. Como ilustra la obra de Gegenbaur y Haeckel, tanto la anatomía como la embriología comparada conservaron la definición de sus conceptos básicos y la metodología para su establecimiento: los tipos y las homologías se convirtieron en formas ancestrales, los arquetipos en ancestros comunes, y el principio de conexiones de Geoffroy siguió siendo el hilo conductor de la investigación morfológica. Sin embargo, existía un conflicto latente entre dos concepciones muy distintas de la forma orgánica. En el *Origen*, Darwin utilizó los hallazgos de la morfología trascendental como prueba

factual de la evolución, pero su concepción de la forma era en realidad muy distinta a la de aquella. A diferencia de la morfología, la sistemática parte del problema de la identificación y la clasificación de las especies y no de la caracterización de los planes corporales compartidos por grandes grupos taxonómicos.

La noción de *función* biológica manejada por Darwin es también muy distinta al problema de la teleología de la morfología continental. La teoría de la selección natural trata de resolver el *factum* de la *adaptación ecológica*, una cuestión muy diferente a la de *organización* que guiara la investigación cuvieriana. La adaptación es, por un lado, el interrogante por excelencia de la teología natural británica. A diferencia de los continentales, que enfatizaban el argumento basado en el orden o la simetría, los teólogos de la naturaleza anglosajones, entre los que destaca William Paley, se concentraron en el argumento 'utilitarista' basado en el diseño divino: la adaptación, y no la forma, revelaba el poder creador de Dios. Del mismo modo, Darwin reconoce en el *Origen* que a pesar de que la evolución puede probarse reflexionando sobre los problemas a los que clásicamente se ha enfrentado la morfología (las afinidades anatómicas, embriológicas y paleontológicas que vinculan a los seres orgánicos), el objetivo de su teoría es explicar "la perfecta adaptación de las especies a su entorno" (p. 3).

Por otro lado, la identificación de la función con la adaptación ecológica se debe también al hecho de que Darwin bebe de la problemática planteada por la sistemática y no por la morfología. De raigambre aristotélica, la *adaptación funcional* de la tradición continental se define en el contexto de una anatomía fisiológica. Se trata de una función inmanente a los organismos, fundada en el principio de coordinación de las partes. El problema de la adaptación al que se enfrenta el *Origen*, sin embargo, hace referencia a una función externa. Esta es la *adaptación ecológica* que subyace a la ley del uso y el desuso lamarckiana y que constituye el núcleo de la teoría darwinista (8: 232). La función biológica no es ya un modo de ser, sino una forma de ajustarse al entorno. Sin embargo, existe todavía una diferencia fundamental entre las teorías de la función de Lamarck y Darwin. Para el primero, la adaptación resultante del uso y el desuso es consecuencia de una necesidad interna al organismo, siendo, por tanto, simultánea a los cambios ambientales. En Darwin, la eliminación de la teleología lleva el dualismo organismo/medio hasta sus últimas consecuencias: los cambios estructurales no surgen *para* realizar las correspondientes funciones, sino que son conservadas por la selección *porque* las realizan. De este modo, la teoría de la selección natural logra naturalizar el argumento del diseño de la teología natural británica.

Hemos comprobado cómo la teoría darwinista implica una redefinición de los problemas de forma y función establecidos por la morfología continental. Tanto una como otra dejan de apelar a relaciones intrínsecas, principios constructivos y causas finales internas, para convertirse en resultado de una selección ambiental externa. En este marco teórico, el organismo no se concibe ya como una unidad integrada, convirtiéndose en "un conglomerado de adaptaciones", en los términos de Huxley, o en una colección de rasgos discretos "óptimamente diseñad(o)s por la selección natural para realizar sus funciones", como critican biólogos estructuralistas como Brian Goodwin.



Tras el largo eclipse sufrido por las ideas de plan corporal y organización, puede afirmarse que, en cierto modo, la evo-devo recupera asuntos abandonados de la morfología trascendental, permitiendo un nuevo replanteamiento filosófico de los conceptos de parte y función en la evolución biológica.

### 3. LAS PARTES COMO HOMOLOGÍAS ONTOGENÉTICAS

La identificación de las partes orgánicas y su comparación en distintos grupos taxonómicos ha sido, y continúa siendo, uno de los problemas más controvertidos de la historia de la biología. En la teoría de la evolución actual coexisten enfoques muy distintos del problema de la identificación y la explicación de las partes homólogas. Por un lado, el *concepto filogenético* de homología considera que dos caracteres son homólogos cuando se derivan de un rasgo equivalente en el ancestro común. De este modo, las homologías se distinguen de las analogías, convergencias adaptativas producidas por la selección natural ante parecidas demandas ambientales. Esta definición de homología encaja con los objetivos de la sistemática, dedicada a identificar *sinapomorfías*, es decir, semejanzas orgánicas aparentes que, a través de su congruencia con datos sobre otros caracteres, permiten rastrear filogenias para, en último término, ordenar el mundo viviente mediante árboles filogenéticos verosímiles (3). Esta línea de investigación no afirma nada sobre la naturaleza de las partes estudiadas, ya que el objetivo último es fundamentalmente filogenético o sistemático.

Sin embargo, el interés de la evo-devo por los caracteres homólogos no es meramente clasificatorio. Asumiendo la crítica de Gould y Lewontin al atomismo adaptacionista, el *concepto ontogenético* de homología se propone como objetivo la búsqueda de formas “naturales” de reconocer las partes orgánicas, y la explicación causal (ontogenética) de las mismas. De este modo, las semejanzas morfológicas pueden comprenderse en términos de procesos generativos compartidos, y la variedad, en términos de sus transformaciones. Así, Gunter Wagner considera que las partes fenotípicas se individualizan durante el desarrollo, siendo homólogas “si comparten un conjunto de constricciones ontogenéticas, causadas por mecanismos auto-regulativos de diferenciación orgánica que actúan localmente” (ver contribución en Hall 1994). Ese conjunto de constricciones permite comprender las homologías mediante la definición de un espacio paramétrico de variedad. Puesto que los mismos procesos ontogenéticos pueden estar regulados por genes distintos, los factores que determinan los parámetros de variación se definen a escala epigenética: la tasa de división celular, el nivel de adhesión celular o el tamaño de ciertas condensaciones celulares, la zona de contacto entre dos tejidos embrionarios, etc. Así, las novedades evolutivas pueden explicarse, dentro de la misma lógica, como resultado de la ruptura de las constricciones de desarrollo y la entrada en acción de otras nuevas que, a su vez, definirían un nuevo espacio paramétrico de variedad (4).

En este nuevo marco teórico, las homologías pueden volver a definirse no sólo por su ascendencia común sino en términos estructurales. Como clase natural, una homología sería una agrupación de *partes de organismos* que

comparten semejanzas estables, resultado de constricciones de desarrollo también comunes. La definición ontogenética de homología no presupone que haya una división única de los organismos en partes homólogas; al contrario, se pueden encontrar módulos homólogos a diferentes niveles, conformando una jerarquía de homologías (5).

Precisamente, el darwinismo sistémico se caracteriza por “seguir un ‘paradigma composicional’ según el cual los sistemas complejos y sus redes jerárquicas de partes son el foco de la investigación biológica” (9: 11833). Para Winther, esto hace posible que el proyecto integrador de Darwin pueda continuarse hoy asumiendo una perspectiva pluralista de la ontología biológica basada en la noción de sistema (*sistemas* genómicos, celulares, organísmicos, ecológicos...), y también de las teorías matemáticas o formales que requiere la biología para su comprensión: la teoría de la autoorganización para la investigación de las estructuras, la cladística, de la historia, y la genética evolutiva, de la adaptación y la función.

La visión de Winther encaja con el lugar que habitualmente suele reconocérsele a la evo-devo en la teoría evolutiva: la perspectiva ontogenética confiere a las causas próximas un nuevo protagonismo, mientras que la causalidad última continúa en el ámbito de la adaptación y de la genética de poblaciones, de modo que el concepto de función queda incólume. Sin embargo, creemos que el programa de investigación de la evo-devo puede tener drásticas consecuencias, no sólo para la concepción de la forma, sino también para la definición de función biológica.

#### 4. EL PROBLEMA DE LAS FUNCIONES

El concepto de función ha provocado un acalorado debate en filosofía de la biología, donde se han propuesto tres definiciones fundamentales (ver (2) para una selección de artículos sobre el tema).

El concepto *etiológico* define la función de un carácter en términos de su historia selectiva. Para Millikan, esto permite distinguir la *función propia* de un rasgo del resto de las cosas que haga (que podrían considerarse funciones del mismo en una consideración más laxa).

El concepto *disposicional* identifica la función de un carácter con algunas de sus propiedades causales actuales: aquellas que contribuyen a las necesidades, propósitos o fines del organismo o las que favorecen su supervivencia y reproducción. Se trata de un concepto no histórico, que incluso ha sido calificado de *futurista*, pues no recurre a las ventajas conferidas por un rasgo en el pasado, sino a la probabilidad de que las proporcione en el futuro. Por último, el concepto de función basado en el *rol causal* (Cummins) no tiene en cuenta fines evolutivos ni futuros. Basa su explicación en el análisis funcional, mediante el que se explica una capacidad del sistema (elegida por el/la observador/a) apelando a las contribuciones de sus partes componentes.

Ninguno estos tres conceptos, sin embargo, parece proporcionar el instrumento preciso para capturar el significado organizacional de función que se deriva de la concepción embriológica de la evolución. Por ello, y a pesar de que la filosofía de la evo-devo se muestra aún titubeante ante el problema de la función, creemos que diversas líneas de investigación ensayadas en el marco

de la evo-devo obligan a revisar la discusión filosófica en torno a la función biológica.

Las relaciones funcionales y mecánicas entre las estructuras orgánicas y el vínculo entre morfología, actividad y aptitud se han convertido en un área de investigación activa en biología evolutiva. Así, la morfología funcional desarrollada por la escuela de David Wake confiere gran importancia a los procesos regulativos entre las partes orgánicas que permiten que, antes de adaptarse al entorno, se acomoden entre sí. Por su parte, Alberch plantea un escenario en el que los caracteres morfológicos no pueden disociarse de los mecanismos ontogenéticos que los generan, pero su integración depende de la compleja organización morfológica capturada por el concepto de *Bauplan*, que “incorpora forma y función y se define como el conjunto de elementos estructurales y sus interacciones funcionales” (1: 23). La necesidad de incorporar las funciones en la explicación de la organización biológica se inspira en el trabajo de Roux, para quien los procesos ontogenéticos consisten en períodos discretos gobernados por dos tipos de mecanismos: un estadio temprano, en el que la morfogénesis está regida por una autodiferenciación mecánica, y un estadio más avanzado en el que el crecimiento y las respuestas epigenéticas dependen de la actividad funcional. Se considera aquí, por tanto, que la ejecución de la función de un órgano, como el movimiento de las extremidades durante el desarrollo, influye en su propia morfogénesis.

Decíamos en el epígrafe 2 que desde la perspectiva darwinista de la adaptación, *la función biológica no es ya un modo de ser, sino una forma de ajustarse al entorno*. Creemos que el rol de la organización funcional en la generación y la evolución de las morfologías exige un replanteamiento filosófico del concepto de función biológica.

Enfrentado a un problema afín, e inspirándose en la obra de autores como Wouters (10), Love (7) recurre a un concepto de función distinto a los analizados hasta ahora: la *función como actividad* hace referencia a “lo que algo hace”. Se distingue, así, de la función como uso, que apela al “para qué” de un órgano, y que englobaría las otras tres nociones de función: la etiológica (para referirse a un uso seleccionado), la disposicional (a una ventaja) y el rol causal (a la contribución causal a una capacidad global). A diferencia de todas ellas, la función como actividad no considera la instrumentalidad de una estructura, sino que pone el énfasis en su modo de ser, en cómo realiza algo al margen de sus posibles utilidades. Este sentido de función permitiría hablar de cómo se va generando la organización del todo de forma más sintética que analítica. De este modo, la explicación de una función no recurre al análisis de algo que ya esté previamente conformado, sino a las interacciones entre las estructuras ontogenéticamente formadas para configurar conjuntamente conglomerados a un nivel superior. De forma complementaria, y dependiendo del interés de la investigación, las estructuras orgánicas acabadas podrían a su vez analizarse desde el punto de vista de cualquiera de los tipos de función como uso.

En filosofía, es habitual considerar que la función es ontológicamente “superveniente” a la estructura, pues se concibe como una entidad abstracta caracterizada por la “realizabilidad múltiple”, es decir, la posibilidad de que diferentes estructuras realicen la misma función. Desde este punto de vista, la teoría de la evolución adaptacionista ha podido desatender los detalles

estructurales, considerando que en la evolución de un carácter lo que se importa es la función que desempeña (su uso) y no los detalles estructurales. Sin embargo, la noción de función como actividad no puede abstraerse de las estructuras que la realizan; de ahí que constituya una noción más básica con respecto a las demás (6). En sintonía con el espíritu cuvieriano, la función organizacional, concebida como integración funcional de las partes, condiciona la existencia de otras partes.

## 5. RECAPITULACIÓN Y CONCLUSIONES

Como constatábamos en la introducción, la tradición darwinista ha logrado transformarse para adaptarse a los diferentes problemas y desafíos que aparecen en biología. A lo largo de este artículo, hemos comprobado cómo el darwinismo sistémico permite, precisamente, la coexistencia plural de problemas y soluciones en distintos ámbitos de la biología evolutiva. En concreto, hemos defendido que la evo-devo plantea una redefinición de los conceptos de parte y función biológica que permite dar cabida al estudio del desarrollo en la evolución.

En cuanto al problema de las partes orgánicas, consideramos que estas pueden identificarse y caracterizarse como *homologías* que dan cuenta de la *mismidad*, similitud o correspondencia de las partes en distintos individuos filogenéticamente relacionados. Desde este punto de vista, las homologías no son sólo evidencia de la historia evolutiva de un linaje, sino que requieren ser explicadas, en virtud de los mecanismos ontogenéticos que las generan, como *clases naturales*.

En lo que respecta a la *función*, entendemos que la historia selectiva no puede servir para identificar homologías. Sin embargo, creemos que la perspectiva funcional es necesaria para desarrollar una línea de investigación que explique la evolución de la organización biológica, concebida como el conjunto de elementos estructurales y sus interacciones funcionales. Apelamos así a una noción de *función como actividad* que permita avanzar hacia un concepto organizacional de función como integración de partes o estructuras.

**6. AGRADECIMIENTOS** AE agradece financiación de los proyectos IT-250-07 (Gobierno Vasco) y FFI2008-06348-C01/02/FISO (MICINN). LNR agradece la financiación proporcionada por un contrato de investigación predoctoral de la Universidad Complutense de Madrid.

## 7. REFERENCIAS

1. Alberch, P. 1982. The generative and regulatory roles of development in evolution. En: D. Mossakowski & G. Roth (eds.), *Environmental Adaptation and Evolution. A Theoretical and Empirical Approach*. Gustav Fisher, Stuttgart: 19-36.
2. Ariew, A., Cummins, R. & Perlman M. 2002. Functions. *New Essays in the Philosophy of Psychology and Biology*. Oxford University Press.
3. Brigandt, I. 2002. Homology and the origin of correspondence, *Biology and Philosophy* 17: 389-407

4. Etxeberria, A. y Nuño de la Rosa, L. (en prensa). A world of opportunity within constraint: Pere Alberch's early EvoDevo. En Raskin-Gutman, D. y De Renzi, M. (Eds.) Pere Alberch, Universidad de Valencia.
5. García Azkonobieta, T. 2005. Evolución, desarrollo y (auto) organización. Un estudio sobre los principios filosóficos de la evo-devo. Tesis doctoral (Universidad del País Vasco) disponible en [www.ehu.es/ias-research/garcia/TESIS.pdf](http://www.ehu.es/ias-research/garcia/TESIS.pdf)
6. Griffiths, Paul E. 2006. Function, Homology and Character Individuation, *Philosophy of Science*, 73(1): 1-25.
7. Love, A.C. 2007 Functional Homology and Homology of Function: Biological Concepts and Philosophical Consequences, *Biology and Philosophy* 22: 691-708.
8. Russell, E. S. 1916. *Form and Function: A Contribution to the History of Animal Morphology*. The University of Chicago Press (1982).
9. Winther RG. 2008. Systemic Darwinism. *PNAS* 105 (33): 11833-11838.
10. Wouters, A. 2005. The Function Debate in Philosophy". *Acta Biotheoretica* 53(2): 123-151.

## 8. LECTURAS RECOMENDADAS

- Gould, S.J. y Lewontin, R. 1979. The Spandrels of San Marco and the Panglossian Paradigm: A Critique Of The Adaptationist Programme," *Proceedings Of The Royal Society of London*, Series B, Vol. 205, No. 1161 (1979), Pp. 581-598.
- Hall, B. K. 1994. *Homology: The Hierarchical Basis of Comparative Biology*. San Diego: Academic Press.
- Jablonka E y Lamb M. 2005. *Evolution in Four Dimensions: Genetic, Epigenetic, Behavioral, and Symbolic Variation in the History of Life*. Cambridge (MA): MIT Press.



---

## 9.2

### Transmisión Cultural y Evolución: un Enfoque Darwinista de la Cultura

Laureano Castro<sup>1</sup> y Miguel Ángel Toro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro Asociado de Madrid, UNED, C/ Paseo del Prado 30 (portal B), 28014, Madrid. España

<sup>2</sup>Departamento de Producción Animal. ETS Ingenieros Agrónomos. Ciudad Universitaria, 28040, Madrid. España.

#### RESUMEN

La mayor parte de los modelos de las ciencias sociales consideran a la cultura como una entidad autónoma que desborda el componente biológico y lo supera, de manera que cada sociedad constituye una prueba viva de la versatilidad humana. Desde hace unos años, este paradigma ha sido criticado con habilidad desde la biología evolutiva. Por ejemplo, la teoría de la herencia dual defiende que la selección natural ha favorecido la evolución de mecanismos cognitivos que permiten a los individuos adoptar conductas adaptativas a partir de la imitación de otros miembros de su grupo social, sin necesidad de explorar una a una cuál es la mejor opción. Unos mecanismos promueven tendencias directas a favor de rasgos concretos y son similares a los que propugnan los sociobiólogos y los psicólogos evolucionistas. Otros suscitan sesgos inducidos por el contexto local y explotan claves ligadas a factores circunstanciales tales como su abundancia en la población o al prestigio social de los modelos que los exhiben. En este trabajo defendemos que la transmisión cultural humana depende de un sistema particular de aprendizaje social que desarrollaron nuestros antepasados homínidos, el aprendizaje social *assessor*, basado en la aprobación o reprobación parental de la conducta que aprenden los hijos. Proponemos además que durante la ontogenia la comunicación valorativa entre padres e hijos es sustituida por otra, también valorativa, entre cada individuo y aquellas personas con las que interacciona de manera preferencial: familiares, pareja, amigos y colegas. Sugerimos, por último, que los seres humanos han desarrollado evolutivamente mecanismos psicológicos que facilitan este aprendizaje *assessor*, haciéndonos emocionalmente receptivos a la aprobación y a la censura ajena, de manera que asociamos lo apropiado o inapropiado de una conducta con las emociones de agrado o desagrado que genera su aceptación o rechazo en el entorno social más íntimo de cada individuo.

#### 1. INTRODUCCIÓN

Nuestra especie posee una extraordinaria capacidad para la cultura, entendiéndolo por tal la información que se transmite por aprendizaje social, básicamente a través de procesos de imitación y de enseñanza, y que incluye los modos de vida y de actuación de los seres humanos, el lenguaje que emplean, sus conocimientos, valores y todo tipo de tradiciones susceptibles de ser aprendidas socialmente. La cultura ha permitido que los seres humanos

colonicen el planeta sin disponer de adaptaciones específicas para los distintos ambientes, aunque sí para desenvolverse en el propio ambiente cultural que caracteriza a todas las sociedades humanas (1). La transmisión cultural humana permite la acumulación de lo aprendido de generación en generación, dando lugar a una nueva clase de adaptación más allá de lo biológico y exclusiva de nuestra especie. Sin embargo, cuando se analizan las sociedades humanas se observa que, junto a información de alto valor adaptativo, existe en todas ellas un buen número de tradiciones culturales que afectan a conductas, creencias y valores aparentemente neutros desde un punto de vista adaptativo o, incluso, contrarios a la eficacia biológica de los individuos. Esto ha llevado a que la mayor parte de los modelos en ciencias sociales consideren la cultura como una entidad superorgánica, autónoma respecto a los rasgos biológicos de los individuos, en la cual los fenómenos sociales sólo pueden ser explicados mediante hipótesis pertenecientes al ámbito de lo social. Este punto de vista, que constituye el paradigma dominante en las ciencias sociales y es denominado por algunos como el modelo estándar (ME) de dichas ciencias, asume que la cultura desborda el componente biológico, lo supera y se erige en una segunda naturaleza, de manera que ningún contenido relevante de las distintas culturas se encuentra determinado por nuestra herencia genética. De hecho, el propio paradigma neodarwinista asumió en un principio que nuestra especie ha alcanzado un grado de desarrollo cultural que nos ha independizado en gran medida de nuestra biología. En otras palabras, los individuos son más o menos recipientes pasivos de su cultura y, al tiempo, productos de ella; los cambios culturales son tan rápidos y su efecto sobre nuestra conducta resulta tan poderoso que, en la práctica, anulan la posible variabilidad genética individual subyacente.

En los últimos años, esta visión del ME ha sido criticada con habilidad desde la biología evolutiva (1-5), que ha sido capaz de aplicar la teoría actual de la evolución al estudio del origen y de la evolución cultural humana con la esperanza de determinar cuáles han sido los factores claves de la transformación de *Homo sapiens* en la especie cultural por excelencia. A partir del trabajo pionero de los sociobiólogos, con la publicación en 1975 del libro titulado *Sociobiología, la nueva síntesis*, escrito por el prestigioso entomólogo de Harvard E. O. Wilson, han surgido distintas aproximaciones teóricas que se pueden agrupar en torno a las siguientes disciplinas: la ecología del comportamiento humano, la memética, la psicología evolutiva y la teoría de la herencia dual, siendo éstas dos últimas las que han conseguido hasta el momento una aportación más relevante. Los psicólogos evolucionistas Cosmides y Tooby (5) sostienen que la mente humana no es un mero producto social, una pizarra en blanco, sino que posee un diseño estructural y funcional resultado de un proceso evolutivo. La mente humana se ha configurado como un conjunto de mecanismos psicológicos que han surgido bajo la acción de la selección natural, a lo largo de los dos últimos millones de años, como respuestas adaptativas para resolver problemas tales como la selección de pareja, la adquisición del lenguaje, las relaciones familiares o la cooperación. Cosmides y Tooby afirman que no se puede entender la evolución cultural humana sin tener en cuenta el efecto de esos mecanismos psicológicos de dominio específico, compartidos por todos los seres humanos, sobre la transmisión de las variantes culturales. La homogeneidad cultural de las distintas sociedades humanas y la

variabilidad entre ellas surgen como el resultado de la interacción entre la arquitectura modular de nuestra mente y las condiciones ambientales concretas en la que cada grupo se ha desarrollado.

La teoría de la herencia dual de Boyd y Richerson (1) considera la evolución cultural de manera similar a como se concibe la evolución orgánica, es decir, como un cambio en la composición cultural de una sociedad, esto es, en el conjunto de rasgos culturales que presenta *-memes*, en la terminología que sugirió Richard Dawkins. Su modelo de partida recoge las tesis básicas del ME de las ciencias sociales: en cada nueva generación los individuos escogen un modelo cultural de la generación previa, ya sean sus padres o individuos elegidos al azar, y adoptan su conducta, de manera que las frecuencias de los distintos memes presentes en la población no varían. Es decir, la cultura replica la estructura fenotípica de la generación parental y se comporta como un verdadero sistema de herencia. Definen las *fuerzas* de evolución cultural como aquellas que son capaces de alterar las frecuencias de los memes a través de las generaciones. Los errores en la imitación, las migraciones, la deriva cultural y determinados procesos selectivos que condicionan la probabilidad de llegar a ser modelos culturales, constituyen en el ámbito cultural fenómenos equiparables a los procesos de mutación, migración, deriva genética y selección natural, característicos de la evolución genética. Sin embargo, hay otros procesos que son exclusivos de la evolución cultural como la capacidad de modificar intencionalmente la conducta en búsqueda de nuevas y mejores soluciones a los problemas que deben afrontar los individuos, la herencia a la manera lamarckiana de esos caracteres adquiridos o la imposición de determinados rasgos por parte de un grupo social a otro.

Para Boyd y Richerson, el sistema de herencia cultural es independiente del genético, pero al mismo tiempo está conectado con él por la existencia de predisposiciones psicobiológicas que inciden sobre la propagación o la desaparición de los diferentes rasgos culturales. De ahí el nombre de herencia dual con el que designan a su teoría. Su tesis defiende que, como en muchas ocasiones la evaluación de un rasgo cultural es costosa, la selección natural ha favorecido la evolución de mecanismos cognitivos que permiten a los individuos adoptar conductas adaptativas a partir de la imitación de otros miembros de su grupo social, sin necesidad de explorar una a una cuál es la mejor opción. Tales mecanismos dan lugar a dos tipos de sesgos en la transmisión de memes, unos dependientes del contenido de éstos y otros del contexto social. Los primeros promueven tendencias directas a favor de unos memes concretos en lugar de otros y están ligados a la presencia en nuestro cerebro de mecanismos cognitivos, similares a los que propugnan los psicólogos evolucionistas, capaces de establecer preferencias con base genética a favor de unas variantes frente a otras. Los segundos suscitan sesgos inducidos por el contexto local y dependen de dispositivos psicológicos que explotan claves ligadas no al contenido de los rasgos culturales concretos, sino a su abundancia en la población o a determinadas características de los modelos que las exhiben, tales como su estatus o su prestigio social. Se habla así de la transmisión conformista de aquellas variantes más frecuentes en una población o de la imitación preferencial de aquellas variantes que presentan los individuos de mayor éxito. Boyd y Richerson destacan que los sesgos innatos relativos al contenido trabajan en contra de la propagación de diferencias arbitrarias entre



las sociedades humanas, mientras que los sesgos relativos al contexto social pueden en ocasiones generar tradiciones sin valor adaptativo o, incluso, claramente maladaptativas. Encuentran así un factor psicobiológico que justifica la importancia de los efectos históricos y contingentes en la evolución cultural de las sociedades humanas.

Ninguna de las teorías analizadas otorga importancia al hecho de que la transmisión cultural en nuestra especie tiene lugar entre seres capaces de evaluar la conducta propia y ajena en términos de valor, esto es, de categorizarla como adecuada o inadecuada, como buena o mala, y de actuar en consecuencia. Los humanos somos sujetos activos en el momento de la transmisión cultural, pero dicho papel activo no sólo corresponde al individuo que aprende que puede, como hemos señalado antes, preferir unas variantes en lugar de otras, sino también al individuo que actúa como modelo que es capaz de incidir sobre qué conducta adoptarán otros individuos a través de la aprobación o la reprobación la misma. En este artículo defendemos que la transmisión cultural humana depende de un sistema particular de aprendizaje social que desarrollaron nuestros antepasados homínidos, el aprendizaje social *assessor*, basado en la aprobación o reprobación parental de la conducta que aprenden los hijos. Sugerimos que los seres humanos han desarrollado evolutivamente mecanismos psico-lógicos que facilitan este aprendizaje *assessor* haciéndonos emocionalmente receptivos a la aprobación y a la censura ajena, de manera que asociamos lo apropiado o inapropiado de una conducta con las emociones de agrado o desagrado que genera su aceptación o rechazo en el entorno social más íntimo de cada individuo (6-8).

## 2. LA TRANSMISIÓN CULTURAL ASSESSOR

El aprendizaje social sólo ha alcanzado un nivel importante en nuestra especie, donde la cultura se ha convertido en un sistema de transmisión acumulativo de gran valor adaptativo. No está claro cuál es el factor que ha permitido esta evolución en los humanos pero no en otras especies de primates. Boyd y Richerson sugieren que la evolución cultural acumulativa no está presente en chimpancés debido a que éstos poseen una capacidad de imitar mucho menos consistente que la humana. Con un argumento parecido, Tomasello (9) sostiene que la clave de la transformación de un aprendizaje social similar al de los primates actuales, en un sistema de herencia cultural acumulativo como el que poseemos los humanos, consistió en un cambio cualitativo en la capacidad de imitación, precedido del desarrollo de la capacidad para elaborar una teoría de la mente, gracias a la cual fueron capaces de percibir a sus coespecíficos como seres provistos de una mente similar a la suya, dotada de intencionalidad.

En este ensayo defendemos que una teoría de la mente y una mayor eficacia en la imitación fueron condiciones necesarias pero no suficientes para la aparición de la transmisión cultural humana. Esta transformación requirió además que nuestros antepasados homínidos desarrollasen la capacidad conceptual de categorizar su propia conducta en términos de valor -positivo/negativo, favorable/desfavorable-, gracias a lo cual pudieron aprobar o desaprobar la conducta que desarrollaban sus hijos (7,10). Esta capacidad de aprobar o desaprobar permite transmitir información sobre el valor de la

conducta, condicionando la preferencia de los hijos por unas alternativas u otras. Según nuestro modelo la adopción de una conducta aprendida puede ser definida como un proceso con tres etapas. Primera, descubrir y aprender a llevar a cabo una conducta; segunda, poner a prueba y evaluar la conducta aprendida; y tercera, rechazar o incorporar la conducta dentro del repertorio personal de cada individuo. Consideramos que el aprendizaje social por imitación representa un mecanismo para descubrir una conducta dada, pero no compromete la adopción final de la misma. Es decir, los imitadores humanos, al igual que otros primates, pueden aprender las conductas que observan pero después han de evaluarlas antes de decidir incorporarlas a su repertorio. Cuando un individuo pone a prueba una conducta obtiene un determinado grado de satisfacción o rechazo en función del cual la incorpora o la desecha. Además, al igual que hacen otros animales con capacidad de aprender, los seres humanos pueden rectificar una decisión de aceptación ya tomada si cambia la recompensa obtenida con el transcurso del tiempo. Por tanto, la formación de creencias sobre lo apropiado o inapropiado de una conducta está basada en principio en la experiencia individual: es conocimiento personal.

Nuestra tesis sostiene que nuestros antepasados homínidos dotados de ambas capacidades, la de imitar y la de aprobar o reprobar la conducta, a los que denominamos individuos *assessor* u *Homo suadens* (del latín *suadeo*: aconsejar), generaron un sistema cultural de herencia en sentido estricto, ya que la aprobación/reprobación de la conducta contribuye a que los hijos reproduzcan la estructura fenotípica de la generación parental, aprovechando la experiencia paterna. El valor adaptativo de esta capacidad de aprobar o reprobar la conducta de los hijos proviene principalmente de que: a) permite la rápida categorización de las alternativas culturales como positivas o negativas favoreciendo su adopción o rechazo; de esta forma se evitan los costes de una evaluación lenta y laboriosa y se atenúan los costes asociados a la experimentación de conductas peligrosas, sustituyendo una señal del mundo exterior potencialmente peligrosa por una parental inofensiva que señala que tal conducta es errónea; b) incrementa la fidelidad de la transmisión cultural, algo esencial para desarrollar un sistema de herencia acumulativo como el humano, ya que cuando la réplica no es fiel el individuo es reprobado y empujado a intentarlo otra vez.

Recientemente hemos propuesto que la capacidad conceptual de categorizar la conducta propia y ajena permite a los seres humanos aprobar o reprobar no solo la conducta de sus hijos, sino también la de otros individuos (8). Nuestra tesis sugiere que durante la ontogenia la comunicación valorativa entre padres e hijos es sustituida por otra, también en clave valorativa, entre individuos de la misma generación. De este modo, extendemos el modelo de transmisión cultural *assessor* entre padres e hijos a otro más general en el cual la aprobación o reprobación de la conducta proviene además de otros individuos no necesariamente emparentados entre sí. Cada individuo posee un grupo social de referencia, formado por aquellas personas con las que interacciona de manera preferencial y ante cuya opinión se muestra especialmente sensible: familiares, amigos y colegas. Nuestra propuesta sugiere que los humanos han desarrollado mecanismos psicológicos que nos han hecho receptivos primero a los consejos parentales y, después, a la opinión de los miembros de nuestro grupo social de referencia. La presión de selección

que promovió estas nuevas interacciones valorativas está relacionada con la necesidad de establecer interacciones cooperativas para beneficio mutuo más eficaces. Para que la cooperación sea rentable puede resultar imprescindible el que los individuos se coordinen a la hora de actuar. Por ello, parece razonable asumir que pudo evolucionar una tendencia a aceptar las recomendaciones de aquellas personas con las que más estrechamente se relaciona cada individuo, favoreciendo la coordinación y, como consecuencia, la cooperación del grupo. Las consecuencias negativas que puede tener la censura social, sobre todo el rechazo a cooperar con ellos (ostracismo), podría explicar la evolución en la naturaleza humana, de esta predisposición psicobiológica a compartir los valores con el grupo social de referencia, lo que se traduce en una tendencia incuestionable a aceptar la influencia social.

El aprendizaje social humano estaría condicionado precisamente por la satisfacción emocional que los individuos experimentan cuando hacen aquello que aprenden que deben hacer, con independencia de cuál sea el contenido concreto de ese deber. En nuestra opinión, esta circunstancia contribuye a explicar desde una perspectiva psicobiológica, de manera análoga a lo que han sugerido Boyd y Richerson con la transmisión conformista o el prestigio, el poder de lo social para modelar el comportamiento humano que tanto ha fascinado y confundido a las ciencias sociales.

### 3. UN MODELO SENCILLO DE TRANSMISIÓN CULTURAL

Un modelo simple de transmisión cultural tomado de Castro y Toro (6) puede precisar mejor nuestra propuesta. Supongamos que la probabilidad de que un individuo, sin capacidad de imitación, adquiriera una conducta  $i$  mediante aprendizaje individual es  $h_i\beta_i$ , en donde  $h_i$  es la probabilidad de que descubra la conducta  $i$  y  $\beta_i$  es la probabilidad de que incorpore dicha conducta a su repertorio conductual, esto es, de que la considere positiva. Si el individuo conoce otra conducta  $j$  alternativa de  $i$ , entonces la probabilidad de incorporar  $i$  sería igual a  $h_i\beta_{ij}$ , en donde  $\beta_{ij}$  es la probabilidad de que prefiera  $i$  en lugar de la alternativa  $j$ .

Supongamos ahora que el individuo tiene capacidad de imitar y que hay modelos disponibles que exhiben la conducta  $i$ . La probabilidad de que incluya la conducta  $i$  en su repertorio será ahora  $h_i^*\beta_{ij}$ , en donde  $h_i^*$  es la probabilidad de que un individuo aprenda, bien por aprendizaje individual o bien por imitación, la conducta  $i$  y es igual, a su vez, a  $h_i^* = h_i + (1 - h_i)\alpha$ , en donde  $\alpha$  representa la eficacia del proceso de imitación y  $(1 - h_i)\alpha$  mide el efecto neto de este proceso. Un incremento en la capacidad de imitación puede expresarse, por tanto, como un incremento en el valor de  $\alpha$ , cuyo valor oscilará entre 0 y 1 según consideremos individuos no imitadores ( $\alpha = 0$ ) o imitadores muy eficientes ( $\alpha = 1$ ).

Durante la ontogenia, los individuos aprenden por imitación las conductas que exhiben sus padres (transmisión cultural vertical) y otros individuos de la población (transmisión cultural oblicua y horizontal). Si asumimos que la capacidad de imitación está muy desarrollada (es decir que  $\alpha \approx 1$ ) y que el tamaño de la población es lo suficiente pequeño para que los individuos puedan observar todas las variantes conductuales presentes en la población, entonces la probabilidad  $h_i^*$

de que un individuo llegue a conocer durante su ciclo vital una conducta  $i$  presente en la población es, en la práctica, igual a 1. En esas circunstancias, la incorporación de dicha conducta a su repertorio, asumiendo que hay otra conducta alternativa  $j$ , dependerá sólo del valor  $\beta_{ij}$ . El valor de este parámetro dependerá de que la conducta  $i$  sea percibida como favorable. Si  $\beta_{ij} > 0.5$ , entonces asumimos que la conducta  $i$  es mejor que la conducta  $j$ , mientras que si  $\beta_{ij} < 0.5$ , entonces es mejor  $j$ . Por último, si  $\beta_{ij} = 0.5$ , entonces no hay diferencias entre ambas conductas o, al menos, el sistema evaluativo cerebral de los individuos no puede detectarlas.

Distinguiamos ahora dos tipos de individuos: los imitadores, que pueden imitar de manera eficaz cualquier conducta ( $\alpha \approx 1$ ) y los *assessor* que, además de imitar igual que los otros, tienen también la capacidad de aprobar o reprobar la conducta aprendida por sus hijos. Si los individuos son imitadores pero no *assessor*, las frecuencias de equilibrio de las conductas  $i$  y  $j$  serán, en ausencia de selección,  $\beta_{ij}$  y  $\beta_{ji} = 1 - \beta_{ij}$  respectivamente. Si los individuos son *assessor* la probabilidad de que un individuo incluya  $i$  en su repertorio conductual dependerá de la conducta de sus padres. Para simplificar supondremos que sólo uno de los padres, la madre, aprueba o reprueba la conducta filial. En estas circunstancias, la probabilidad de que un individuo *assessor* incorpore la conducta  $i$  o la  $j$  a su repertorio vendrá dada por la siguiente matriz de transmisión:

		Conducta Filial	
		Conducta $i$	Conducta $j$
Conducta Maternal	Conducta $i$	$\beta_{ij} + (1 - \beta_{ij})\delta$	$1 - \beta_{ij} - (1 - \beta_{ij})\delta$
	Conducta $j$	$\beta_{ij} - \beta_{ij}\delta$	$1 - \beta_{ij} + \beta_{ij}\delta$

En donde  $\beta_{ij}$  representa, como ya hemos definido, la probabilidad de aceptar la conducta  $i$  en lugar de la  $j$  cuando el individuo conoce las dos alternativas. El parámetro  $\delta$  representa la eficacia de la aprobación o reprobación parental mientras que  $(1 - \beta_{ij})\delta$  y  $\beta_{ij}\delta$  miden el efecto real de la influencia materna en la determinación de la conducta filial en las distintas situaciones. Si  $1 \geq \delta > 0$  entonces el individuo es *assessor* y si  $\delta = 0$  el individuo es imitador, pero no *assessor*.

Estamos ahora en condiciones de calcular las frecuencias de equilibrio. Para ello supongamos que los individuos de una población exhiben dos alternativas culturales, las conductas  $i$  y  $j$ , con frecuencias respectivas  $p$  y  $q = 1 - p$ . Si  $\delta < 1$  se puede demostrar que, en ausencia de selección, las frecuencias fenotípicas de equilibrio para dichas conductas convergen, al igual que cuando los individuos eran sólo imitadores, hacia  $\beta_{ij}$  y  $1 - \beta_{ij}$ , pero más despacio cuanto mayor sea  $\delta$ . Sin embargo, si  $\delta = 1$ , esto es, si existe una incidencia determinante de la aprobación o desaprobación materna sobre la conducta filial, el sistema mantiene

las frecuencias fenotípicas iniciales con independencia de cuales sean éstas. En otras palabras, replica la estructura fenotípica de la generación maternal.

Si introducimos selección en el modelo de manera que la razón entre la eficacia biológica de las variantes  $i$  y  $j$  es de  $1 : 1 - s$  ( $i$  es más eficaz que  $j$ ), suponemos por simplicidad que no hay mutación y asumimos que la capacidad de aprobar o desaprobar la conducta (el valor de  $\delta$ ) depende de un sistema genético haploide con dos alelos,  $A$  para los individuos *assessor* y  $a$  para los no *assessor*, entonces es sencillo demostrar que el genotipo *assessor*  $A$  ( $\delta_A > 0$ ) puede invadir una población de genotipos no *assessor*  $a$  ( $\delta_a = 0$ ) y que lo contrario no es posible. Esto es, si hay diferencias de eficacia a favor de una de las alternativas, la selección favorecerá a los individuos *assessor* o, de manera más precisa, a los individuos *assessor* de mayor  $\delta$ , es decir, con mayor eficacia en la transmisión de valores.

La evidencia disponible sobre el aprendizaje social primate se ajusta mejor con nuestro modelo que con el propuesto por Boyd y Richerson. Por ejemplo, la cultura entre los chimpancés parece encajar muy bien con un sistema de transmisión cultural basado en una capacidad de imitación rudimentaria ( $\alpha$  pequeño) y ausencia de aprobación/reprobación de la conducta aprendida ( $\delta \approx 0$ ), mientras que, si fijamos la atención en la evidencia antropológica y sociológica proporcionada por el análisis de las actuales sociedades humanas de cazadores-recolectores, el modelo de transmisión basado en la imitación y en la aprobación/reprobación de la conducta parece ajustarse mejor que uno basado en la replicación/imitación sin ulterior evaluación. En cualquier caso, parece posible y deseable contrastar de manera precisa, tanto en humanos como en los demás primates, qué modelo de transmisión explica mejor las propiedades de la cultura considerada como un sistema de herencia.

#### 4. REFERENCIAS

1. Boyd, R., y Richerson, P.J. 1985. *Culture and the Evolutionary Process*. The Chicago University Press, Chicago.
2. Wilson, E. O. 1980. *Sociobiología. La nueva síntesis*. Omega, Barcelona,
3. Alexander, R. D. 1987. *Darwinismo y asuntos humanos*. Salvat Editores, Barcelona.
4. Lumsden, C., y Wilson, E.O. 1981. *Genes, Mind and Culture*. Harvard University Press, Cambridge, MA,
5. Cosmides, L. y Tooby, J. 1992. The Psychological Foundations of Culture, pp. 19-136. En Barkow, J., Cosmides, L. y Tooby, J. Eds. *The adapted mind: Evolutionary psychology and the generation of culture*, Oxford University Press, New York.
6. Castro, L., y Toro, M.A. 2004. The evolution of culture: from primate social learning to human culture. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 101, 10235-10240.
7. Castro, L., y Toro, M.A. 1998. The long and winding road to the ethical capacity. *History and Philosophy of the Life Sciences*, 20, 77-92.
8. Castro, L., Castro-Nogueira, L., y Castro-Nogueira, M.A. 2008. *¿Quién teme a la naturaleza humana? Homo suadens y el bienestar en la cultura: biología evolutiva, metafísica y ciencias sociales*. Tecnos, Madrid.
9. Tomasello, M. 1999. *The Cultural Origins of Human Cognition*. Harvard University Press, Cambridge.

10. Castro, L., Medina, A. y Toro, M.A. 2004. Hominid Cultural Transmission and the Evolution of Language. *Biology and Philosophy*, 19, 721-737.

## 7. LECTURAS RECOMENDADAS

- Barkow, J., Cosmides, L. y Tooby, J. Eds. 1992. *The adapted mind: Evolutionary psychology and the generation of culture*, Oxford University Press, New York.
- Laland, K. y Brown, G. 2002. *Sense or non sense*. The Oxford University Press, New York.
- Richerson, P. y Boyd, R. 2005. *Not by Genes Alone: How Culture Transformed Human Evolution*. University of Chicago Press, Chicago.



---

## 9.3

### La Biología a la Luz de la Adaptación en los Libros de Texto de Educación Secundaria Obligatoria

Milagros de la Gándara Gómez y María José Gil Quílez

*Grupo Beagle. Dpto. Didáctica de las Ciencias Experimentales. Universidad de Zaragoza. Zaragoza. España.*

#### RESUMEN

En este artículo se presentan los aspectos más relevantes de trabajos previos realizados sobre la transposición didáctica del concepto de “adaptación biológica” a los libros de texto de la Educación Secundaria Obligatoria. Se llama la atención sobre las dificultades que entraña para el estudiante atribuir un significado no equívoco al término “adaptación”, especialmente cuando se utiliza en el contexto explicativo de la biología.

#### 1. INTRODUCCIÓN

Los problemas de enseñanza y aprendizaje de la evolución han sido objeto de numerosas investigaciones. Algunos se centran en el papel del profesorado, pero la mayoría insisten en las ideas *alternativas* que poseen los estudiantes de diferentes niveles educativos acerca de la “adaptación biológica” (1). Se constata que, si bien la idea de evolución forma parte la cultura, la mayoría de los estudiantes no son capaces de utilizar adecuadamente la idea darwinista de evolución para interpretar diferentes ejemplos de cambio biológico. Tales ideas se refieren sobre todo al uso que hacen los estudiantes de explicaciones con connotaciones *finalistas* e *intencionales*, dando a entender que los cambios biológicos se producen para alcanzar un fin, un objetivo. Esta idea se muestra tan resistente a la instrucción que permanece incluso en aquellos que han estudiado biología evolutiva desde edades muy tempranas (2). Se ha identificado un *problema cognitivo*, como es la necesidad de diferenciar la biología de los *individuos* de la biología de la *especie*, asociado a un problema *metacognitivo* como es el propio concepto de *explicación* (3); es decir, no siempre detrás de lo que en un texto se nombra bajo el término explicación, hay un razonamiento específico que relacione de forma inequívoca las causas con los efectos o bien las premisas con las conclusiones.

Para que los saberes que producen los científicos puedan funcionar en el aula, tienen que ser transformados, siendo el fruto de este tratamiento un saber escolar –la ciencia escolar– cualitativamente diferente del saber científico que se utilizó como referente. El análisis de esta transformación constituye, precisamente, el objeto fundamental de la teoría de la Transposición Didáctica (4). Se admite, que el libro de texto representa un saber que ha sido

transformado, a partir de un referente científico, para formar parte del *medio didáctico*. Es decir, el conjunto de materiales, planteamiento de actividades y, en general, las condiciones que el profesor crea en aula para que los alumnos puedan construir conocimiento. El currículo español introduce por primera vez de forma explícita el estudio de la evolución en la Educación Secundaria Obligatoria (ESO). Hasta ese momento, el concepto de evolución, así como el uso del término adaptación aparece de forma implícita en gran parte del currículo de niveles educativos anteriores, incluida la Educación Primaria. Puesto que nadie discute que el libro de texto juega un papel clave en el proceso de enseñanza y aprendizaje de las ciencias, los libros de texto que utilizan los estudiantes de ESO se interpretan como resultado de un esfuerzo por acercar la cultura científica de un momento histórico concreto al contexto del aula.

## 2. OBJETIVOS

Nos preguntábamos qué imagen de adaptación transmiten los libros de texto, qué papel juega la adaptación en la comprensión de los fenómenos biológicos que se abordan en la ESO, así como qué papel juegan los otros conocimientos de ciencias para ayudar a atribuir un significado apropiado al propio concepto de adaptación y, por extensión, a la evolución biológica.

Partiendo de estos presupuestos, se analizaron los contenidos de toda la biología de los libros de texto de Educación Secundaria Obligatoria de diferentes editoriales, comparándolos con lo que sobre la adaptación se vierte en la literatura científica y a través de diversos campos, como la fisiología, la genética, la evolución, y la ecología (5). A partir de un análisis previo, de la literatura especializada, se definió un modelo de adaptación construido sobre dos dimensiones: la ontológica, donde la adaptación juega el papel de *objeto de conocimiento* y la dimensión epistemológica, donde la adaptación interviene como una *herramienta conceptual*.

En la dimensión ontológica (Figura 1), se expresan aquellas propiedades o atributos de objetos que serían “las adaptaciones”, según unos autores, o “la adaptación”, según otros. Los ejemplos que acompañan a las exposiciones, se interpretaron como fuente evidencias o de pruebas.

En la dimensión epistemológica (Figura 2) se incluye el marco teórico-procedimental desde el que se nos habla de adaptación, así como las explicaciones y predicciones que se vierten acerca de los fenómenos para los que se nombra a la adaptación.

A su vez, para identificar el modelo que se transmite dentro de cada dimensión, definimos dos tipos de herramientas conceptuales: las *descriptivas* y las *explicativas*. Las primeras comprenderían aquellos conceptos que, sin ser exclusivos de un marco teórico particular, ayudan a forjarse una idea aproximada del modelo. Se invoca a la adaptación para describir cómo se vive el día a día en un ambiente determinado. Las herramientas descriptivas identificadas son: la magnitud y la posibilidad de reversibilidad y de recurrencia del cambio biológico implicado. En cambio, las herramientas explicativas sí que son particulares de modelos teóricos para comprender *cómo se producen* los cambios biológicos; nos referimos a: la información genética, la herencia y la



reproducción, el desarrollo ontogénico, la selección natural y el tipo de entidad o sistema biológico que presenta o está sometido a la adaptación. Se invoca a la adaptación tanto para referirse a cambios en una célula de un organismo, como a los cambios en el organismo en su conjunto o a cambios que afectan a un especie o grupo biológico.



Figura1. Dimensión ontológica del modelo de adaptación biológica (5)

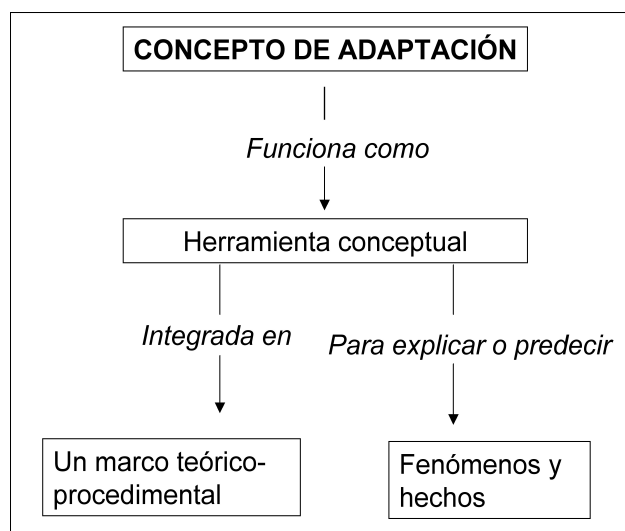


Figura 2. Dimensión epistemológica del modelo de adaptación biológica (5)

A partir de este gran modelo, y desde la literatura científica, se percibió la coexistencia de dos submodelos: el que llamamos  *fisiológico* y el  *evolutivo*. En ambos, la adaptación se presenta unas veces como un  *rasgo* y otras como un  *proceso*, abordándose los primeros fundamentalmente en una perspectiva descriptiva, mientras que los aspectos explicativos afloran cuando hablan de procesos. (6).

Según este modelo, los elementos a considerar como punto de partida para el análisis de la transposición fueron:

1. ¿Qué atributos describen la adaptación?
2. ¿Qué evidencias o ejemplos avalan el estatus de adaptación?
3. ¿Desde qué marco teórico y procedimental se aborda la adaptación?
4. ¿Qué conceptos y hechos ayuda la adaptación a comprender y a predecir?

### 3. RESULTADOS

El análisis de la utilización de todas las herramientas, descriptivas y explicativas, a lo largo del contenido de todos los libros de texto de Educación Secundaria Obligatoria, arrojó los siguientes resultados:

**3.1. La adaptación puede intervenir como un término “comodín”, vacío de contenido específico.** Nos basamos en que lo mismo que explican unos autores nombrando a la adaptación, otros lo hacen omitiéndola, tanto en el contexto ecológico como en el evolutivo. En el contexto ecológico, adaptación significa lo mismo que característica y “estar adaptado a un hábitat” equivale a decir “vivir en un hábitat”. Apenas se nombra a la adaptación cuando se abordan las sucesiones ecológicas y se pueden presentar los diferentes “biomas” sin precisar cuáles son las adaptaciones que presentan la mayor parte de las especies citadas, en relación con las condiciones ambientales en juego.

En el contexto evolutivo, la conquista de nuevos ambientes y la divergencias evolutivas igual las vemos explicitando “adaptación” que sin nombrarla. Incluso puede darse el caso de omitir toda mención explícita a la adaptación en la exposición del tema de la evolución y, en cambio, preguntar por la adaptación en las “actividades” que plantean al final del tema.

En fisiología, lo más usual es que se omita toda alusión al término adaptación. Tan sólo se ha detectado para referirse a aspectos puntuales de la actividad neuronal, relativos a la reacción ante estímulos o cambios en el medio interno o externo al organismo.

**3.2. La adaptación es un término que promueve la especulación.** Cuando se plantean situaciones, a través de ejemplos, resulta difícil identificar modelos que sean transponibles de unas situaciones a otras; incluso a partir de ejemplos bien seleccionados, reputados como “adaptaciones”. Son muy pocos los autores (también entre los científicos) que utilizan todas las herramientas descriptivas y explicativas inferidas para el modelo de adaptación y las que se utilizan, no siempre intervienen con la misma función. El resultado es la

percepción de cierta arbitrariedad a la hora de establecer cuándo un rasgo es o no es una adaptación.

La ausencia de criterios claros para definir las adaptaciones promueve la especulación, al hacer ilimitado el campo de los posibles, lo cual es incompatible con los principios científicos, seleccionistas, sobre la adaptación, a la vez que didácticamente incontrolable. Un mismo rasgo puede ser citado como adaptación de organismos diferentes en respuesta a factores diferentes. Por ejemplo, la “coloración externa del cuerpo” puede presentarse como una adaptación con significado homeotérmico contra alguna condición climática y, en otro texto atribuirle el valor de ocultación contra algún depredador, incluso aparecer con ambos valores (resistencia a la temperatura y de ocultación). El problema es que el significado adaptativo de una estructura o de un comportamiento, no parece depender tanto del sistema organismo-ambiente, como del autor que nos habla de ello. La persuasión prevalece sobre la justificación.

**3.3. Lamarck estaba equivocado.** Los libros de secundaria obligatoria se muestran contundentes, tanto en la aceptación de los principios darwinianos como en su rechazo al lamarckismo. Tal rechazo pone el énfasis en la teleología interna, al carácter intencional del cambio biológico, atribuido a la teoría de Lamarck. El argumento clave es que “los caracteres adquiridos no se heredan”. Pero, ¿sabemos qué es lo que se hereda y lo que se adquiere de entre todo lo que exhibe cada organismo? Se olvida, por ejemplo, que los rasgos anatómicos, fisiológicos y etológicos no son sino adquisiciones que se van produciendo en el curso del desarrollo ontogénico y, por tanto, “a lo largo de la vida del individuo” y “por interacción con el ambiente”. Téngase en cuenta que durante la educación secundaria apenas se trabaja la ontogénesis y que la ecología se estudia al margen de la genética. Faltarían, por tanto, argumentos más sólidos.

El énfasis en la bondad del darwinismo frente al lamarckismo, contrasta con la omisión de las alternativas acerca del ritmo y modalidad de la evolución, tan presente en el mundo de los científicos, principalmente desde las publicaciones de autores como Eldredge, Gould y Lewontin, entre otros. Sólo en uno de los textos de secundaria analizados se menciona la existencia de este debate, acerca del “puntualismo o saltacionismo” propuesto por “Niles Eldredge y Stephen Jay Gould”, frente a la evolución “tan gradual”. Pero tal perspectiva no forma parte del objeto de estudio de la evolución (5), estando ausente de todo el estudio precedente de la biología, en el libro de texto aludido.

**3.4. Analogía entre Selección Natural y Selección Artificial.** A veces se habla de la selección natural como si de una persona se tratara (“opta”, “elige”, “decide”), despojándola de su estatus de principio que relaciona datos con conclusiones. Cuando además, se recurre a la selección artificial para ayudar a comprender cómo opera la selección natural, se está invitando a establecer una analogía entre ambos procesos. Tal comparación puede contribuir a que el lector se forje una idea de que existe alguien que manipula o controla los fenómenos de cambio biológico. Un fenómeno de esta clase resulta fácilmente compatible con la teleología externa de un modelo creacionista. Más cuando en

ningún caso se exponen argumentos en contra del creacionismo, de manera explícita, como sí se hace contra el lamarckismo

### **3.5. La adaptación es una consecuencia de la necesidad de “sobrevivir”.**

La idea de adaptación se fundamenta en la contribución de ésta a la supervivencia. Las adaptaciones existen porque son necesarias para vivir. Ésta es la única perspectiva para el primer ciclo de ESO y se refuerza en el segundo ciclo, especialmente a través de la fisiología, al describir la organización anatómico-fisiológica en forma de argumento sobre lo bueno que resulta para la supervivencia. No en vano, todos los autores de textos de ESO denominan a los procesos fisiológicos funciones vitales. Se diría que las “funciones vitales” de los libros de secundaria son la transposición didáctica de las “adaptaciones fisiológicas” de los científicos.

Como expresaran Gould y Lewontin en 1979, acerca del “paradigma panglosiano”, se diría que cada rasgo desempeña su papel y tiene que ser tal cual es. En el mismo sentido, advierten del peligro de confundir el hecho de que una estructura sea utilizada de algún modo con la razón evolutiva de su existencia y de su conformación (7)

Convencer de la utilidad de un órgano no es homologable a demostrar la relación de ese órgano con la selección natural. El valor adaptativo de un órgano se justifica por el beneficio que reporta a su poseedor, lo que le convierte, en necesario. Como si se pudiera comparar una situación determinada con otra donde todo lo demás, excepto un sólo elemento del sistema, fueran iguales.

Cuando la adaptación se reviste de necesidad, se puede estar reforzando interpretaciones finalistas y vitalistas, por no hablar de que “la función crea al órgano”. Se diría, pues, que faltan razones.

### **3.6. Adaptación es una estrategia de resolución de uno o más problemas, pero ¿cuál es el problema? y ¿quién tiene que resolverlo?**

Cuando se quiere convencer de la influencia de algún factor ambiental, se nos transmite una imagen antropocéntrica de la adaptación. Los “problemas ambientales” se enuncian como problemas intelectuales del observador para comprender el fenómeno que observa. En realidad, se suele hablar de problema ambiental cuando vemos que ciertas especies deben vérselas con un ambiente que, desde nuestra óptica antropométrica, nos resulta inhóspito. Se habla de condiciones “duras” o “desagradables”, cuando paradójicamente se nos cuenta lo bien preparados que están para ello. Realmente, si no fuera así, ¿cómo podrían vivir ahí? Se diría, pues, que faltan razones.

**3.7. La tautología está servida.** Mientras que en el mundo de los científicos la selección natural tiene el valor de prueba de que se ha producido adaptación, en el contexto de los libros de ESO, el verdadero objeto de conocimiento es la Selección Natural, recurriendo a la adaptación para comprender la selección natural. Es decir, la adaptación cumple más bien un estatus de evidencia, de algo que no hay que demostrar.

A veces, se definen las mutaciones por sus efectos en el organismo tras la acción de la selección natural, para explicar el efecto de ésta. De esta forma se clasifican en “favorables” y “desfavorables”. El resultado es que una

mutación resulta favorecida por la selección porque es favorable. En general, igual vemos el uso de herramientas explicativas para comprender la adaptación, como a ésta para explicar aquéllas.

**3.8. Hechos, preguntas y explicaciones sobre los hechos.** Se enfrenta a los estudiantes con hechos que no son tales, sino que incluyen importantes interpretaciones y juicios de valor. Puede ser el fruto de una argumentación en la que las cosas son como nos gustaría que las vieran los estudiantes. Así, las cosas son “grandes” o “pequeñas”; las temperaturas son “agradables” o “desagradables” y los rasgos biológicos son “asombrosos”, “perfectos” y expresiones similares.

Otras veces, un determinado hecho se describe en términos de fenómeno directamente observable. Algo que se construyó en un paradigma, se propone al alumnado como una evidencia. Cuando se dice (fenómeno observable) que una flor se parece a una abeja que ayuda a la fecundación de la flor, para luego preguntar a qué se debe eso, el porqué del rasgo queda incluido en su descripción (porque la abeja confunde a la flor...). Cuando se dice que una extremidad de caballo tiene “la misma estructura” que una aleta de ballena, habría que aclarar qué es una estructura y, cuando se hace, por ejemplo a través de dibujos, se observa que la descripción contiene la explicación (basta con etiquetar de la misma forma las estructuras que interesan). De nuevo vemos a la persuasión como herramienta para “describir” y para “explicar”.

## 5. CONCLUSIONES

El problema no lo vemos tanto al analizar las ideas de un libro de texto determinado, sino cuando intentamos conciliarlas con las de otros. Precisamente, porque los científicos sostienen un debate acerca del significado de la adaptación, parece imprescindible una mayor negociación del sentido que aplicamos a las palabras y, sobre todo, a los argumentos.

El estudio sugiere la conveniencia de vigilar cómo se aborda, en el proceso de enseñanza y aprendizaje de la biología, un modelo de ser vivo que, si se decide implicar al concepto de adaptación, debería atender las siguientes cuestiones:

1. ¿Qué designa el término “adaptación”?
2. ¿Qué hechos y acontecimientos podemos explicar y comprender a través del concepto de “adaptación”?
3. ¿Con qué criterio afirmamos que un rasgo concreto (morfológico, fisiológico o etológico) es una adaptación?
4. ¿En qué y por qué estaba equivocado Lamarck?
5. ¿Qué aporta el principio de la Selección Natural para comprender el mundo biológico en general?
6. ¿Qué papel desempeña la adaptación en la diversidad biológica dentro de un hábitat?
7. ¿La capacidad de adaptación es siempre posible sin que varíe la especie implicada?

## 8. ¿Qué esperamos de una buena una explicación?

El uso de explicaciones teleológicas en la biología científica puede parecer pertinente, aceptando que eso ha permitido desarrollar importantes programas de investigación (8). En cambio, se interpretan como un elemento de confusión cuando se transponen literalmente al contexto de producción de la biología escolar, en la medida en que el “propósito” se confunda con la “intención”. Aunque sólo sea porque existen procesos biológicos que hay que enseñar y sí son intencionales, como podría interpretarse de gran parte de los rasgos etológicos. Aunque sólo sea porque la nueva era de la tecnología nos demuestra que existen procesos que transcurren con una intención o voluntad interna (ingerimos sustancias que interfieren en el metabolismo, nos vacunamos contra algunos agentes ambientales no deseados, etc.), haciendo difícil la identificación del “rasgo” implicado en la supervivencia. Pero también podría pensarse en la mediación de una intención externa, cuando recurrimos a la reproducción asistida y controlamos la estructura genética que han de tener los productos del desarrollo, por ejemplo. Hablamos de tomar decisiones sobre un mecanismo clave en la evolución, como son el éxito reproductor y su posible repercusión en la variación de las frecuencias génicas. Aspectos que, al menos en el aula, podría plantear un panorama difícil de predecir, especialmente desde la perspectiva atomista que predomina en la ciencia escolar. ¿Aceptaríamos que estos cambios sean “adaptaciones”?

Se podría discutir, con los conocimientos actuales, la conveniencia o no de partir de la consideración de que los individuos están “bien adaptados”. Habría que tener en cuenta que esta concepción nació en un modelo creacionista, el que la imperfección no tenía cabida. Y sobre todo, cuando los científicos están ocupados en dar sentido a esa expresión y en demostrarlo.

Si lo que se quiere es explicar la dinámica del mundo vivo, entendemos que debiera prestarse más atención a modelos que tengan en cuenta las herramientas explicativas (variabilidad genética, reproducción, desarrollo y selección). El obstáculo epistemológico podría estar no tanto en diferenciar la biología de la especie de la biología de los individuos como en la integración de ambas.

Los modelos fisiológico y evolutivo de cambio biológico no agotan las posibilidades de cambio que se pueden observar. Existen cambios como los ontogénicos que requieren para su comprensión elementos de ambos modelos. Una mayor atención en los niveles de secundaria obligatoria al desarrollo, podría ayudar a los estudiantes a comprender por qué no todo es posible y por qué pequeñas intervenciones en el organismo, o bien en su entorno, pueden implicar grandes cambios en el sistema indisociable que forman estos dos elementos. Los medios de comunicación hacen que palabras como mutantes, clones, fecundación, ingeniería genética, hayan dejado de ser raras para los estudiantes. Probablemente habría que dotarlas de un significado escolar adecuado.

Para terminar y como sugiere Prevosti (9), debiera prestarse más atención a la interacción que pueda existir entre la escasa formación biológica de los estudiantes y los factores parabiológicos como es la ideología que tradicionalmente ha impregnado el desarrollo de las tesis darwinianas. En un estudio sobre el papel de la evolución en el currículo de biología en España,

Barberá y otros (10) llaman la atención sobre el peso de los ideales políticos, sociales y las creencias religiosas en el tema.

La idea de que funcionamos como artefactos contruidos para un propósito, puede conducir a productos didácticos que luego no acaban de gustarnos, puesto que son plausibles desde un modelo gobernado por algún designio preestablecido. Alguien podría aclarar que entiende por designio la información genética... ¿O la selección natural? Ésa es la grandeza de las metáforas.

Para poder evaluar una información se requiere la consideración del marco en que nos situamos. No se comprende bien por qué ese marco teórico, es decir la Evolución, se hace explícito casi siempre al final del último libro de la etapa de secundaria obligatoria.

**6. AGRADECIMIENTOS.** Agradecemos a la SESBE la iniciativa para la presente publicación y especialmente a Hernán Dopazo y a Arcadi Navarro por todas sus sugerencias que sin duda han contribuido a la mejora de este trabajo.

## 7. REFERENCIAS

1. Jiménez-Aleixandre, M.P. **2002**: Alfabetización científica / El aprendizaje de la evolución (Coordinación). **Alambique. Didáctica de las Ciencias Experimentales**, (32) 5-8.
2. Bartov, H. **1981**: Teaching students to understand the advantages and disadvantages of teleological and anthropomorphic statements in biology. **Journal of Research in Science Teaching**, 18 (1), 79-86.
3. Halldén, O. **1988**: The evolution of the species: pupil perspectives and school perspectives. **International Journal of Science Education**, 10 (5), 541-552.
4. Chevallard, Y. **1992**: *Transposition didactique: du savoir savant au savoir enseigné*. La pensée sauvage. Grenoble. Cedex. France.
5. De la Gándara, M. **1999**: *La transposición didáctica del concepto de "adaptación biológica"*. Memoria de tesis doctoral. Universidad de Zaragoza.
6. De la Gándara, M. *et al.* **2002**. Del modelo científico de "Adaptación Biológica" al modelo de "Adaptación Biológica" en los libros de texto de Enseñanza Secundaria Obligatoria. **Enseñanza de las Ciencias**, 20 (2), 303-314
7. Gould, S.J. and Lewontin, R.C. **1979** The spandrels of San Marco and the Panglossian paradigm: a critique of the adaptationist programme. **Proc. R. Soc. Lond. B** **205**, 581-598
8. Mayr, E. **1983**: How to carry out the adaptacionist program?. En: **The American Naturalist**. 121 (3), 324-334
9. Prevosty, A. **1997**: La adaptación en biología. **Alambique. Didáctica de las Ciencias Experimentales**, (11) 93-101.
10. Barberá, O., *et al.* **1999**: Biology Curriculum in Twentieth Century Spain. **Science Education**, 83, 97-111.



---

## 9.4

### Consideraciones acerca de la Cambiante Influencia de la Teoría de la Evolución en las Humanidades y un Diagnóstico de la Situación Actual

Jon Umerez

Grupo de Filosofía de la Biología (IAS-Research). Depto. de Lógica y Filosofía de la Ciencia. Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU). Tolosa hirib. 70. 20018 - Donostia

#### RESUME

N

En este trabajo expongo la hipótesis de que la potencialidad de la influencia efectiva de la teoría de la evolución en las humanidades se ve disminuida por la incapacidad de transmitir y recibir un enfoque de lo biológico que mantenga la suficiente complejidad y flexibilidad como para hacer la interacción fructífera. Para ello, aporto un breve recorrido por la historia reciente de esa relación y aventuro un diagnóstico basado en la permanencia de algunas confusiones fundamentales que entorpecen la comprensión del fenómeno biológico y su expresión en lo humano.

#### 1. INTRODUCCIÓN

Me propongo describir lo que me resulta una situación altamente paradójica en lo que respecta a la potencial influencia de la teoría de la evolución en las humanidades, muy en particular en la filosofía. Resulta que podríamos decir que, en el momento en que más dispuestas y receptivas pueden estar la filosofía (tanto la filosofía de la ciencia en general como otras áreas) y las humanidades para asimilar tal influencia, es cuando más decepcionante está siendo en muchos casos el aporte que se hace desde de la biología (o lo que se toma de ella, en función de los diversos sujetos implicados en la transmisión), dada la presencia predominante que han adquirido en ese trasvase la psicología evolutiva o evolucionista<sup>1</sup> y otras posiciones afines, en detrimento de cualquier otra fuente.

En consonancia con ello, creo detectar un curioso movimiento de repliegue en la filosofía que consta de dos aspectos complementarios: una **renuncia** a la confrontación epistemológica por un lado, pretendidamente compensada por un **refugio** en el recurso a la ética (y a lo jurídico) por otro.

---

<sup>1</sup> Soy consciente de la dificultad de encontrar una denominación en castellano para *evolutionary psychology* sin que dé lugar a confusión con enfoques en psicología previamente existentes y sin vinculación con ella.



## 2. MARCO GENERAL

Hay al menos dos aspectos que delimitan el marco general en que se inserta el breve recorrido histórico del punto siguiente.

**2.1. Limitaciones opuestas del materialismo en situaciones diversas.** A lo largo de los siglos ha sido frecuente situar ideas como materia, animal, máquina frente a otras como espíritu, alma, creación divina. Muchos de estos planteamientos no hacían sino evidenciar la preocupación ante la dificultad aparente de aprehender el justo papel de la base biológica del ser humano. Por un lado, a pesar de todas las formas de materialismo que en la historia de la filosofía han sido (y a pesar, en muchos casos, de su osadía tanto conceptual como civil), hasta muy recientemente ha sido difícil acotar de forma apropiada, científica, la influencia de ese fundamento biológico en los rasgos más característicamente humanos. Por otro lado, desafortunadamente, cuando las ciencias biológicas adquieren la capacidad de contribuir fehacientemente, el desencuentro es resultado o bien de una actitud excesivamente reticente ante unas pretensiones demasiado invasoras o bien de una rendición estéril que no aporta nada propio a la perspectiva biológica.

**2.2.- Larga historia de vaivenes pendulares.** Dejando de lado, por ahora, las formas de determinismo metafísico absoluto (físico o computacional por poner dos ejemplos vigentes, más o menos paralelos), la explicación acerca de la naturaleza humana se ha hecho normalmente a partir de las dos alternativas opuestas del determinismo biológico-genético o el determinismo social-cultural. La inclinación hacia uno u otro de estos dos extremos se ha ido alternando de forma hasta cierto punto pendular en las cosmovisiones vigentes de épocas y lugares diversos.

Por supuesto, han existido igualmente siempre muchas “propuestas” o “soluciones” intermedias, más o menos salomónicas, defendiendo que hay que tomar en consideración ambos aspectos. Sin embargo, tales afirmaciones contemporizadoras, si se quedan ahí, resultan inanes, es decir, es como no decir nada, a menos que se propongan formas específicas en las que se puede encarnar la interacción entre ambas.

## 3.- BREVE HISTORIA CONTEMPORÁNEA (A PARTIR DE DARWIN).

**3.1. Cambio de perspectiva.** La situación del materialismo que hemos mencionado anteriormente cambia radical y profundamente con la aparición y desarrollo a lo largo del siglo XIX de un evolucionismo de carácter científico, principalmente (pero no sólo) en la obra de Darwin. Ahora sí empezamos a contar con una forma específica y concreta de entender la influencia de lo biológico en el devenir y estado actual de lo que constituye la naturaleza humana. Esta circunstancia, ¿cómo no?, conllevó consecuencias directas e inmediatas con la aparición, por citar el ejemplo más patente, de lo que vino posteriormente en llamarse *darwinismo social* en la estela de la lectura que hace Spencer de la obra de Darwin. De cualquier forma, ese planteamiento no supone propiamente la reivindicación de un fundamento biológico para los

rasgos (incluyendo los comportamientos) más netamente humanos. Se trata, más bien, de la aplicación de un modelo biológico (la selección, la competencia entre individuos, la preeminencia del “mejor” o más adaptado, ...) a temas humanos y así ha seguido siendo en sus múltiples y diversas versiones hasta la actualidad. No obstante, otra perspectiva, la Eugenesia, que surge prácticamente de forma contemporánea, primero de la mano de Galton (seguido por Pearson y otros muchos), sí supone una perspectiva propiamente biológica sobre la condición humana (y no sólo una variante sociológica de un referente biológico). En el caso de la eugenesia, la adecuación social se sostiene directamente sobre fundamentos biológicos y, en consecuencia, da cobertura y justifica decisiones y pautas de acción socio-políticas (1).

**3.2. Aplicaciones eugenésicas en el primer tercio del s. XX.** A partir del trabajo de esos precursores, a principios de s. XX se comenzaron a conocer aplicaciones concretas de esas teorías eugenésicas, en primer lugar en Estados Unidos, aunque muchas veces no se menciona, y después en Alemania. Convendría precisar, además, que tales políticas eugenésicas (o las propuestas en aquellos casos en los que no se llevan a la práctica) se proponen o desarrollan, en un principio, en un contexto político y, sobre todo, científico de plena aceptación. Hemos de tener en cuenta que Galton y Pearson (incluso Fisher) en el Reino Unido y Davenport o sus colaboradores en los Estados Unidos, estaban haciendo ciencia absolutamente homologable para su época. Por lo demás, al menos los británicos (sobre todo Pearson) pero también otros, abordaban su labor desde un punto de partida progresista y de izquierdas. Esto es, perseguían el objetivo de mejorar la humanidad y promover el bienestar de las mujeres y hombres concretos de su tiempo y de tiempos venideros (de lo que se trataba era, precisamente, de superar las limitaciones que imponían desde el nacimiento aquellas “lacras” transmitidas por la herencia).

El problema es que las aplicaciones socio-políticas que se derivaron de esas propuestas bienintencionadas fueron gravísimas. En los Estados Unidos, por un lado, se impondrán criterios de inmigración estrictos, de carácter muy restrictivo y claramente discriminatorios; por otro, de cara a la población interna se implementarán políticas de esterilización muy agresivas que se van a mantener en vigor por muchos años (o, aunque paulatinamente vayan dejando de aplicarse, sin que sean definitivamente derogadas de la legislación de algunos estados hasta bien entrados los años 70) (1). Las políticas sociales (pretendidamente) basadas en planteamientos biológicos eugenésicos implantadas en la Alemania del nacionalsocialismo son mucho más conocidas, así como sus consecuencias legales y, posteriormente, letales en gran escala (2).

Toda esta deriva eugenésica se empieza a tambalear en el plano teórico, en primer lugar, con el impacto de los efectos del *crack* de 1929 y se pondrá ya más abiertamente en tela de juicio, a continuación, a medida que las políticas discriminatorias y genocidas de la Alemania nazi se van desarrollando y ampliando. El primer revés, la crisis económica derivada del desastre bursátil, pone hasta cierto punto en evidencia la debilidad de la argumentación ligada al éxito que sustenta más o menos explícitamente el credo eugenésico: quienes se veían empujados a la miseria y al suicidio provenían (en principio) de cualquier origen étnico o familiar. El segundo azote, el que proviene del nazismo, hará que el pavor y el vértigo atenacen, además de a los directamente

afectados por sus políticas genocidas (gitanos, eslavos, judíos, ...), a todo el mundo a medida que las consecuencias de las mismas van siendo conocidas.

**3.3. Situación posterior a la II Guerra Mundial.** De esa tesitura surge después de la guerra, en gran medida, el predominio de las políticas de reforma que vendrían a marcar lo que para la época iba a ser “políticamente correcto” (dicho en términos actuales). Tras los “excesos” eugenésicos de las décadas inmediatamente anteriores (esterilización, discriminación y genocidio), no se admitirá otra perspectiva acerca de la naturaleza que aquélla que no haga apelación alguna a lo biológico. Es muy significativa, por ejemplo, la aportación de Dobzhansky, en tanto genetista y evolucionista (“padre” de la síntesis neodarwiniana), junto a Montague y otros “científicos sociales”, entre los redactores de la definición (más bien erradicación) del concepto de raza en el marco de la ONU (UNESCO).

Esta perspectiva, que conlleva postular taxativamente que la posibilidad de cambio y perfeccionamiento del ser humano (y por ende, de la humanidad) ha de plantearse mediante la intervención en el nivel sociocultural (utilizando la educación, las reformas, la asistencia social, ...), tendrá una preeminencia absoluta en las ciencias humanas de las décadas siguientes y no se cuestionará en forma alguna desde las ciencias biológicas.

**3.4. Arranque del cambio de dirección.** Algunos de los primeros asaltos a ese planteamiento políticamente correcto provienen, en la década de 1970, de determinadas perspectivas biológicas al amparo hasta cierto punto de los éxitos de la biología molecular y, sobre todo, de la mano de la sociobiología (3) a la que seguirán inmediatamente teorías genocéntricas como la del *gen egoísta*. En un primer momento, a este envite se le responde desde los dos campos, tanto desde la biología como desde las ciencias humanas y tanto en conjunto como por separado, en una larga secuencia de réplicas (y contrarréplicas), empezando por artículos de respuesta inmediata (como el de un grupo significado de científicos, ver (4)) y siguiendo por numerosas publicaciones de todo tipo (como (5) o (6), entre otras, por poner sólo dos ejemplos diversos entre sí).

Hay, sin embargo, dos elementos comunes, como mínimo, en esas respuestas: por un lado, el mantenimiento de la posición estándar anterior en términos de defensa de la posibilidad de reforma social (coincidiendo en esto desde las versiones más liberales hasta las más socialistas); por otro lado, el cuestionamiento global del cariz biologicista de las propuestas en dos frentes al unísono, tanto de su pretendido fundamento epistemológico-científico como de sus potenciales consecuencias ético-políticas. Esto dió lugar a que la discusión y el debate científicos entre biólogos fueran en ese momento también importantes (el propio desarrollo posterior de la sociobiología, y no sólo en su vertiente más centrada en especies no humanas, es buena prueba de ello) aunque, con el tiempo, ese aspecto haya quedado más desdibujado frente a la polémica más directamente sociopolítica. Es precisamente esta integración de la respuesta lo que voy a echar en falta en la situación actual.

**3.5. Giro de fin de siglo.** En la década de los 90, junto al desarrollo de las nuevas biotecnologías y el avance en la secuenciación genómica derivado del

Proyecto Genoma Humano (y sus contrapartidas en otras especies), surgen también formas actualizadas de biologicismo más directamente vinculadas a los presupuestos evolutivos, como la psicología evolutiva o evolucionista que, tomando el relevo de la sociobiología de Wilson y demás, irrumpe con fuerza en los ámbitos divulgativos y en medios de comunicación no especializados (ver desde (7) hasta una extensa labor divulgativa).

A este último desafío no se le responde con la misma intensidad crítica desde la biología pero tampoco desde las ciencias humanas y esa tibieza de la reacción adversa va a marcar el tono de la situación actual. Fukuyama (8), como ejemplo de testimonio sin particulares veleidades ideológicas, lo aporta como mera constatación<sup>2</sup>. Rifkin (9) advierte el mismo giro en las actitudes dominantes pero está mucho mejor informado y, en consecuencia, no es tan complaciente con el siglo XX o con la política de Estados Unidos.

Así, con este giro, comenzará de nuevo a establecerse la preeminencia de la *naturaleza* sobre la *crianza/educación* (*nurture*) en la perspectiva de las ciencias biológicas, como hemos venido viendo desde los años 70. Pero también se puede advertir un giro análogo o, cuando menos, una ausencia de respuesta en otros ámbitos, pertenecientes a las ciencias humanas y sociales (antropología, psicología, economía, sociología, filosofía, ...). Es precisamente este fenómeno el que, en mi opinión, suscita una mayor preocupación: la aceptación a-crítica de versiones discutidas (y empobrecidas) de lo biológico.

**3.6. Situación actual.** Sostengo, por lo tanto, que es esa última circunstancia la que caracteriza de forma más atinada la situación actual en lo que se refiere a la forma de abordar el papel de lo biológico en la comprensión del ser humano. Esto es, en filosofía y en ciencias sociales y humanas como la sociología, la psicología o la economía, se asumen y aceptan, como nunca antes, lecturas parciales y sesgadas provenientes de la biología. Resulta curioso advertir que aquello que hasta hace poco se rechazaba de plano, como en el caso de la sociobiología, ahora se admite como el último grito a lo que no se puede poner pega alguna. Lo que hace poco más de una década se descartaba claramente –acudir a los genes– ahora se acepta al venir aparentemente acompañado de la mayor de las científicidades, como resultado (pretendido) de la Biología Molecular. Además, hasta cierto punto, el planteamiento actual conlleva una mayor gravedad que las previas apelaciones genéricas a lo genético. Ahora ya no se trataría de que, por ejemplo, el alcoholismo fuera predominantemente genético y ello condicionara las políticas sociales al respecto; no, ahora se pretende, ni más ni menos, haber descubierto el gen del alcoholismo (bueno suavizado como gen para la tendencia al alcoholismo, bueno suavizado como

---

<sup>2</sup> “Desde la época de los antiguos griegos, como mínimo, la humanidad ha discutido sobre la importancia relativa de la naturaleza, contrapuesta a la educación, en el comportamiento humano. Durante gran parte del siglo XX las ciencias naturales, y en particular las sociales, tendieron a conceder especial relieve a los motores culturales del comportamiento, en detrimento de los naturales. El péndulo ha vuelto a retroceder – algunos afirman que demasiado- en los últimos años para decantarse hacia las causas genéticas. Este cambio en la perspectiva científica se refleja por doquier en la prensa popular, donde se habla se “genes para” todo, desde la inteligencia a la obesidad, pasando por la agresividad.” ((9) p. 42)

gen para la recepción de dopamina, bueno suavizado como ..., etc..). En cualquier caso, lo sorprendente de la situación actual, si la comparamos con situaciones de otros tiempos, es que en aquellos movimientos pendulares no se daba con tanta facilidad la aceptación por parte de la filosofía y las Humanidades, no desde luego ante las variantes del determinismo biológico, pero tampoco muchas veces ante el propio determinismo socio-cultural (en general económico).

Este cambio de actitud de las ciencias sociales y humanas se puede contextualizar, por supuesto, en la influencia del *physics envy*, la envidia por la física como epítome de la ciencia y, eventualmente, del saber. Siendo ésta una dolencia que han sufrido o sufren muchas partes de esas ciencias, por no decir la propia filosofía, no es a su influencia a la que atribuyo la especificidad de la situación actual que intento identificar, sino a una serie de confusiones respecto a conceptos y principios biológicos de las que, sin ser directamente culpable la biología, es al menos responsable de permitir que se extiendan y perduren.

#### 4. CONFUSIONES FUNDAMENTALES

En ese sentido, lo que quiero plantear es que, a menudo, la biología que se acoge hoy en día de forma a-crítica en las humanidades es una biología desfigurada, una versión de lo biológico parcial y sesgada, frente a la pluralidad de perspectivas que componen la teoría y la práctica científicas acerca de la vida. Además, es una versión simplificada de lo biológico en el peor sentido de una simplificación que no toma en consideración la gran complejidad de la biología a todos los niveles (otra cosa muy distinta es intentar hacerla más accesible, eludir el detalle, practicar la divulgación formativa y promover la educación científica desde la base).

**4.1. Dicotomías espurias.** Empezando por la propia dicotomía que yo mismo he utilizado hasta cierto punto para plantear el breve recorrido histórico precedente, la que opone en su formulación inglesa *nature* frente a *nurture* y que puede resultar ciertamente engañosa. Esa dicotomía presenta diversas modalidades, desde la más básica que opondría naturaleza como nacimiento a crianza en forma de desarrollo ontogenético, hasta la tan extendida (y poco precisa) de naturaleza frente a cultura, pasando por formulaciones intermedias más concretas que enfrentan herencia a educación, innato a adquirido o instinto a aprendizaje, entre otras. Esta dicotomía básica puede cuestionarse de formas diversas pero aquí me interesa una en particular, la que corresponde a la localización del ámbito biológico. Si nos fijamos, en general, es sólo el primer componente de esas parejas el que se vincula con la biología y no el segundo. Es más, cuando se emplea la formulación “base biológica de” es para referirse a esas características. Sin embargo, como primera respuesta rápida, bastaría con advertir que en muchas especies animales encontramos fácilmente también el segundo componente (crianza, desarrollo, cultura, comportamiento adquirido, aprendizaje, ...) y, en ese contexto, se suele tomar por “biológico” e incluso, directamente, por “natural”. Es sólo cuando nos referimos al ser humano cuando le negamos el carácter biológico (y por ende natural).

Por lo tanto, se nos abre un primer abanico de preguntas; ¿por qué es natural el primer componente de esas dicotomías y no el segundo?, ¿qué connotaciones asignamos a cada uno?, ¿para qué tipo de distinciones usamos la propia dicotomía?, ¿nos aclara algo la dicotomía?, ... Junto a esta colección de cuestiones, es habitual encontrar una apelación al interaccionismo pero, frecuentemente, de orden puramente retórico, que no se trasluce en nada concreto, o si no de tipo fraccionador, que intenta determinar el porcentaje de influencia numérico que corresponde a cada factor. Lo que queda en evidencia es que tanto en uno como en otro caso, precisamente lo que permanece sin analizar es la interacción.

**4.2. Equiparaciones erróneas.** Por otro lado, es común acentuar la confusión conceptual al equiparar el significado de algunos términos cruciales. Esto se deriva de tratar determinados conceptos como sinónimos o, al menos, de incluirlos en un dominio de connotaciones común. Algo que sucede inmediatamente en el caso de lo *biológico* (y de forma muy parecida en el de lo *natural*) al que de modo explícito o implícito se le asocian una serie de rasgos:

- biológico (natural) = inmutable, inalterable, fijo, ..., universal; acerca del cual se establecen algunas transitividades como:
  - biológico = hereditario = genético;
- o, volviendo a las dicotomías,
  - a lo biológico (y a lo natural) se le atribuye la connotación de 'cerrado' mientras a la cultura o a la educación la de 'abierto'.

Estas equivalencias y asociaciones se mantienen en discursos de muy diverso nivel (también en el discurso académico y científico) y están plenamente extendidas a los medios de comunicación masivos. Están tan enraizadas que muchas veces ni nos damos cuenta de cuán limitada es la perspectiva de lo biológico a la que nos abocan. Siendo por demás curioso que, con detenernos un instante a pensarlo, sabemos de sobra que son equiparaciones erróneas. Por ello, puede ser pertinente insistir aún desde la biología en la importancia de tener en cuenta algunas distinciones básicas. Por un lado, distinguir tajantemente lo biológico de lo que es inmutable y permanente pues nada está más lejos de la realidad: lo biológico está en todo momento cambiando sin cesar y muestra una flexibilidad sobresaliente. Por otro lado, discernir con claridad lo biológico de lo hereditario y de lo genético, así como lo hereditario de lo genético (y, a su vez, los tres de lo natural como dado). Por obvio que le resulte al experto, parece necesario seguir explicando que heredamos otros componentes además de la dotación genética y que un buen número de rasgos que integran nuestra condición biológica no son heredados.

**4.3. Reducciones complementarias.** Por último, y a riesgo de entrar en terrenos más polémicos, me gustaría señalar que, junto a esas dicotomías y equiparaciones, nos enfrentamos también, aunque en un área más especializada, con dos reducciones típicas y complementarias de gran relevancia para la cuestión que estamos tratando. Se trata de una reducción

sincrónica y otra diacrónica que, operando al unísono, se refuerzan mutuamente para presentar la faz más determinista del biologicismo extremo:

- reducción sincrónica: todo (cualquier rasgo) se traduce presuntamente a genética (primero mendeliana y ahora molecular), olvidando que hay mucha biología además de la genética y, en particular, que las interacciones genéticas mismas son bastante más complejas;
- reducción diacrónica: todo (cualquier rasgo) se traduce presuntamente a adaptación por selección natural, olvidando que hay otros factores además de pura selección adaptativa.

Aunque no tuviera que ser necesario advertirlo, permítaseme precisar que nada de lo anterior pretende minimizar un ápice la importancia y relevancia sea de la genética sea de la adaptación por selección natural para la explicación de rasgos fenotípicos, incluso característicamente humanos; es sólo su absolutización lo que se deplora.

## 5. CONCLUSIONES

**5.1. Complejidad jerárquica de la organización biológica.** Una forma apropiada de reconducir esta situación comenzaría por el reconocimiento efectivo de la complejidad del ámbito de lo biológico, de la vida (v. lecturas recomendadas). Para ello es imprescindible adquirir una comprensión cabal de lo que es, p.ej., evolución biológica, el desarrollo o la heredabilidad. No podemos, por supuesto, pretender que en las ciencias humanas se dominen esos conceptos y procesos al nivel de los especialistas, pero sí que se soslayan los planteamientos vulgares: un gen-un rasgo, el gen para X (donde X vale para cualquier comportamiento o característica: inteligencia, alcoholismo, crueldad, éxito ...), organismo clonado = organismo duplicado, etc.

Lo que caracteriza de forma probablemente más genérica esa complejidad es su índole jerárquica, la circunstancia de que un ser vivo constituye una sistema organizado a diferentes niveles, desde la célula hasta la población. La estructura y los procesos propios de cada nivel no se pueden, sin más, aglutinar o colapsar con los de los demás ni, tampoco, tratar de modo único y lineal la interrelación entre niveles diferentes.

Si se hace así, se nos abre la posibilidad de articular una perspectiva en la que el fundamento biológico no pueda ser olvidado y la integración con otros niveles y otras ciencias sea efectiva. Si no lo hacemos así y sí, renunciando al debate epistemológico, desde la filosofía y las ciencias humanas se acepta el determinismo biológico (genético o selectivo, por convencimiento o por acatamiento), esto es, si aceptamos una versión simplista y sesgada de lo vivo, no habrá forma a continuación de evitar las consecuencias sociales perniciosas de tal visión acudiendo a consideraciones éticas.

**5.2. “Eticización”.** Esto es precisamente lo que vengo denominando “eticización” en el contexto de los debates sobre la postura a adoptar ante las nuevas biotecnologías, pero que puede ser generalizado. Se trata de un fenómeno primordialmente mediático, esto es, que se da con mayor frecuencia

y, sobre todo, mayor impacto e incidencia a través de los medios de comunicación. El vocablo pretende describir la tendencia creciente, casi diría la deriva, de acompañar prácticamente cualquier información relativa a las nuevas tecnologías de lo vivo con un complemento de cuestionamiento presunta o pretendidamente ético. Esto es, introducido como pregunta, problema, desafío, ... en fin, como cuestión ética (y en mayor medida, claro, en las más directamente relacionadas con el ser humano). El fenómeno se caracteriza por la casi exclusividad de este tipo de consideración por delante de cualquier otra de tipo socio-político o, sobre todo, científico-epistemológico. Pienso, que muchas cuestiones sometidas al debate público y, entre ellas, no pocas de las más dramáticas y llamativas, se verían radicalmente transformadas, hasta el punto de desaparecer en sus actuales formulaciones como cuestión ética, simplemente con tal de que se vieran informadas por las oportunas apreciaciones epistemológicas referidas a la naturaleza y características del conocimiento científico en general y, sobre todo, por las pertinentes aclaraciones sobre el significado científicamente sostenible de las explicaciones evolutivas o de los avances en genética molecular (10).

Esta deriva hace que se extienda una *sobre-preocupación o desconfianza moral* junto a una *sobre-indiferencia o confianza epistemológica* que nos incapacita para el debate científico y técnico mientras desarma y hace impotente la sola respuesta ética (10).

Termino, así, con un alegato a favor de la filosofía de la biología (independientemente del origen disciplinar de quien la practique), con una defensa de un espacio crítico propio para la epistemología entre la ciencia y la ética. Un área que proporcione análisis y juicios de utilidad tanto para una más sólida construcción de teorías en biología como para el planteo bien fundado de los problemas éticos que pueda suscitar aquella.

**6. AGRADECIMIENTOS.** Agradezco la financiación de los proyectos MEC (FEDER) FFI2008-06348-C02-01 y GV/EJ IT 250-07.

## 7. REFERENCIAS

1. Kevles, D. **1986**. *La Eugenesia*. Planeta, Barcelona.
2. Müller- Hill, B. **1985**. *Ciencia mortífera*. Labor, Barcelona.
3. Wilson, E. **1980**. *Sociobiología*. Omega, Madrid.
4. Caplan, A.L. (ed.) **1978**. *The sociobiology debate*. Harper & Row, New York.
5. Kitcher, P. **1985**. *Vaulting Ambition*. MIT Press, Cambridge, MA.
6. Lewontin, R.C., Rose, S. & Kamin, L. **2003**. *No está en los genes*. Crítica, Barc.
7. Barkow, J.H., Cosmides, L. & Tooby, J. (eds.) **1992**. *The Adapted Mind*. Oxford University Press, Oxford.
8. Fukuyama, F. **2002**. *El fin del hombre*. Eds. B, Barcelona.
9. Rifkin, J. **1999**. *El siglo de la biotecnol.* Crítica, Barcelona.
10. Umerez, J. **2007**. Sobre (im)posibilidades polémicas. *Ludus Vitalis* 27: 229-232.

## 8. LECTURAS RECOMENDADAS

- Gould, S.J. **2004**. La estructura de la teoría de la evolución. Tusquets, Barcelona.
- Keller, E.F. **2002**. *El siglo del gen*. Península, Barcelona.
- Lewontin, R.C. **2000**. *Genes, organismo y ambiente*. Gedisa, Barcelona.



Albà, Mar .....	1.2	López-Rodas, Victoria .....	8.3
Alcobendas, Marina .....	3.1	López-Rodríguez, Manuel Jesús .....	2.5
Altava, Borja Esteve .....	4.5	López, Pilar .....	5.3
Andújar, Carmelo .....	2.2	Luzón-Ortega, Julio Miguel .....	2.5
Arbiza, Leonardo .....	1.6	Martín, José .....	5.3
Baguñà, Jaume .....	3.4	Martínez de la Puente, Josué .....	5.7
Belles, Xavier .....	4.1	Martínez, Pere .....	3.4
Bracho, María A. ....	6.1	Massarini, Alicia I. ....	7.1
Buckle, David .....	3.1	Mensch, Julián .....	4.2
Buscalioni, Angela D. ....	7.4	Merino, Santiago .....	5.7
Cabrero, Josefa .....	1.7	Morales, Manuel B. ....	5.8
Camacho, Juan Pedro M. ....	1.7	Morán, Tomás .....	2.1
Cánovas, Fernando .....	3.3	Moreno, Juan .....	5.2
Carazo, Pau .....	5.1, 5.9	Moya, Andrés .....	6.3, 8.1
Carreiera, Valeria .....	4.2	Muñoz, Irene .....	3.3
Castro, Laureano .....	5.10, 9.2	Navarro, Arcadi .....	2.4
Chamero, Beatriz .....	7.4	Nuño de la Rosa, Laura .....	9.1
Comas, Iñaki .....	1.9, 6.2	Ortiz-Jaureguizar, Edgardo .....	7.2
Coscollá, Mireia .....	1.9	Pascual-García, Alberto .....	6.5
Costas, Eduardo .....	8.3	Pereda Suberbiola, Xabier .....	7.3
Cuevas, José M. ....	6.1, 8.1	Peretó, Juli .....	6.3
De la Gándara Gómez, M. ....	9.3	Pérez García, Adán .....	7.5
de la Rúa, Pilar .....	3.3	Pérez-Enciso, Miguel .....	6.4
De Renzi, Miquel .....	4.4	Perfectti, Francisco .....	1.7
Díez Díaz, Verónica .....	7.3	Piñero, Ana .....	3.3
Domínguez, Jorge .....	5.6	Posada, David .....	1.1
Dopazo, Hernán .....	1.6	Rasskin Gutman, Diego .....	4.5
Etxeberria, Arantza .....	9.1	Riutort, Marta .....	3.4
Eyras, Eduardo .....	1.3	Rolán Alvarez, Emilio .....	2.3
Fanara, Juan José .....	4.2	Rozas, Julio .....	1.5
Faría, Rui .....	2.4	Ruiz-Trillo, Iñaki .....	3.5
Flores-Moya, Antonio .....	8.3	Ruiz, Carlos .....	2.2
Font, Enrique .....	5.1, 5.9	Sánchez-Gracia, Alejandro .....	1.5
Fontdevila, Antonio .....	1.4, 2.1	Sánchez, José .....	2.2
Gagneux, Sebastien .....	6.2	Sanjuán, Rafael .....	8.1
Galián, José .....	2.2, 3.3	Sanz, José Luis .....	7.3
García-González, Francisco .....	5.5, 8.2	Sentandreu, Vicente .....	6.1
García Guerreiro, M <sup>a</sup> Pilar .....	1.4	Serra, François .....	1.6
García-Mudarra, Juan Luís .....	3.2	Serrano, José .....	2.2, 3.3
García-París, Mario .....	3.1	Soto, Ignacio M. ....	4.3
Gil Quílez, María José .....	9.3	Tejedo, Miguel .....	1.8
Gomez-Mestre, Ivan .....	1.8	Tierno de Figueroa, José M. ....	2.5
González Candelas, Fernando .....	1.9, 6.1	Toro, Miguel A. ....	5.10, 9.2
Hasson, Esteban .....	4.2, 4.3	Torres, Roxana .....	5.4
Hernández-García, Raquel .....	3.3	Traba, Juan .....	5.8
Ibáñez, Carlos .....	3.2	Tropea, Ana L. ....	7.1
Irimia, Manuel .....	1.3	Umerez, Jon .....	9.3
Juste, Javier .....	3.2	Velando, Alberto .....	5.4, 5.6
Latorre, Amparo .....	6.3	Vieira, Filipe G. ....	1.5
Lavagnino, Nicolás .....	4.2		
López-Labrador, Francisco X. ....	6.1		
López-León, María Dolores .....	1.7		

**Evolución y Adaptación: 150 años después del Origen de las Especies** es un homenaje a la figura de Charles Darwin al cumplirse 200 años de su nacimiento y 150 años de la publicación que lo hiciese mundialmente famoso. En esta edición 101 autores convocados por la Sociedad Española de Biología Evolutiva han resumido su trabajo de investigación en 51 artículos. Estos se han agrupado en temáticas que abarcan los problemas de la evolución molecular, el cambio morfológico, la evolución del desarrollo, el origen de las especies y su interacción, la diversidad biológica, la evolución del comportamiento, la paleobiología, la evolución experimental, la evolución cultural y la evolución en la filosofía y la docencia. Muchos de estos trabajos representan décadas de constante investigación en el laboratorio y en el campo. El común denominador de los artículos que contiene este libro es el esfuerzo por transmitir a un público no necesariamente experto investigaciones actuales en el campo de la adaptación y la evolución. Esta obra resume por lo tanto, gran parte de las investigaciones que en materia de evolución biológica se realiza en España. Esta edición deja constancia entonces del "Hecho de la Evolución", y de la actualidad de teoría evolutiva moderna como cuerpo explicativo del mundo biológico 150 años después del origen de las especies.

**Hernán Dopazo** (Buenos Aires, 1964) cursó sus primeros estudios de Biología Evolutiva en la Universidad de Buenos Aires (Argentina) y obtuvo su doctorado en la Universidad Autónoma de Madrid (España). Es secretario de la Sociedad Española de Biología Evolutiva (SESBE) e Investigador Principal de la Red Española de Diversidad Biológica, Evolución y Sistemática (REDES). Desde el año 2005 dirige la Unidad de Genómica Comparativa del Departamento de Bioinformática y Genómica del Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF) en Valencia. Su investigación se ha centrado en el desarrollo de herramientas bioinformáticas en evolución molecular y el estudio de la adaptación en genomas completamente secuenciados.

**Arcadi Navaro i Cuartiellas** (Sabadell, 1969) obtuvo el doctorado en la Universitat Autònoma de Barcelona y pasó unos años en la Universidad de Edimburgo como investigador postdoctoral. Se incorporó a la Universitat Pompeu Fabra (UPF) de Barcelona en 2002 como miembro del programa Ramón y Cajal. Ha obtenido diversos premios por su trayectoria académica y científica. Sus publicaciones tratan principalmente sobre temas relacionados con la genética y la evolución desde una perspectiva teórica. Ha escrito y editado varios libros y actualmente es Profesor de Investigación ICREA, Catedrático de Genética de la UPF y Director del Nodo de Genómica de Poblaciones del Instituto Nacional de Bioinformática.

ISBN 978-84-92910-06-9



**Diseño de portada:** Uno de los árboles evolutivos realizado por Charles Darwin en el primero de los cuatro cuadernos que escribió sobre Transmutación de las especies (1837-1838). Cortesía de José Carbonell Caballero.