

ANÁLISIS DE LA VARIACIÓN GENÉTICA DE ESPECIES DEL GRUPO REPLETA
PROVENIENTES DE ECOSISTEMAS SEMIARIDOS (Desierto de la Tatacoa –
Huíla y Valle del Patía - Nariño), MEDIANTE CRUCES INTERPOBLACIONALES
Y MORFOMETRÍA DE LA GENITALIA

ANA PATRICIA ESTRADA FLOREZ

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
PROGRAMA DE BIOLOGIA
SAN JUAN DE PASTO
2008

ANÁLISIS DE LA VARIACIÓN GENÉTICA DE ESPECIES DEL GRUPO *REPLETA*
PROVENIENTES DE ECOSISTEMAS SEMIARIDOS (Desierto de la Tatacoa –
Huíla y Valle del Patía - Nariño), MEDIANTE CRUCES INTERPOBLACIONALES
Y MORFOMETRÍA DE LA GENITALIA

ANA PATRICIA ESTRADA FLOREZ

Trabajo de grado Presentado como requisito parcial
para optar al Título de Biólogo

Director
M. Sc. RODRIGO PRIETO

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
PROGRAMA DE BIOLOGIA
SAN JUAN DE PASTO
2008

“Las ideas y conclusiones aportadas en el trabajo de grado, son responsabilidades exclusivas del autor”.

Artículo 1º del acuerdo No. 32 de Octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación

Director

Jurado

Jurado

Pasto, Colombia, 18 de Noviembre de 2008

AGRADECIMIENTOS

Al Sistema de Investigaciones VIPRI de la Universidad de Nariño por el financiamiento de la fase de campo en el concurso Alberto Quijano.

A mi asesor Rodrigo Prieto por sus sugerencias, enseñanza, apoyo y en especial por su amistad.

A los grupos de investigación en Genética de Poblaciones y evolución de las Universidades del Tolima y los Andes.

Al programa de Biología, especialmente a las profesoras Jaqueline Mena y Luz Estela Lagos por su orientación y sugerencias.

A Martha Sofía Gonzáles, Jhon Jairo Calderón y Elkin Noguera por su colaboración en estadística.

Al Dr. Ignacio Soto del departamento de Ecología, Genética y Evolución de la Universidad de Buenos Aires por facilitarme información.

A Mauricio Rodríguez por aceptarme en su laboratorio y brindarme su apoyo en el desarrollo de esta investigación.

Especialmente a mi familia por su comprensión y apoyo durante el desarrollo de mi carrera, y porque a ellos les debo todo lo que soy.

Gracias de todo corazón a mis compañeros y amigos William, Yulieth, Yuri, Pauline, Rubén y Elkin, por su colaboración, su apoyo, por todos esos momentos compartidos, en fin, por hacer parte de mi vida y mi formación.

TABLA DE CONTENIDO

Pág.		
	INTRODUCCIÓN	18
	1. OBJETIVOS	20
	1.1. OBJETIVO GENERAL	20
	1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
	2. ANTECEDENTES	21
	3. MARCO TEORICO	23
	3.1. GRUPO <i>repleta</i>	25
	3.2. MECANISMOS DE AISLAMIENTO REPRODUCTIVO	25
	3.2.1. Precigóticos	28
	3.2.2. Postcigóticos	28
	3.3. GENITALIA	28
	3.4. LA MORFOMETRÍA	31
	3.5. MODELOS DE ESPECIACIÓN.	33
	4. MATERIALES Y METODOS	35
	4.1. UBICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DE LA ZONA DE MUESTREO	35
	4.1.1. Desierto de la Tatacoa	36
	4.1.2. Valle del Patía (Nariño)	36
	4.2. TRABAJO DE CAMPO	36
	4.2.1. Captura de las moscas	36
	4.2.2. Selección y establecimiento del material biológico (cepario)	38

4.3. TRABAJO DE LABORATORIO.	38
4.3.1 Cruce intrapoblacional	38
4.3.2. Cruce interpoblacional	38
4.3.3. Retrocruza	39
4.3.4. Obtención de Genitalia	40
4.3.5. Análisis elíptico de Fourier.	40
4.3.6. Metodologías adicionales	41
4.4. ANÁLISIS DE AGRUPAMIENTO	42
4.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	43
4.5.1. Cruces inter e intrapoblacionales y retrocruza.	43
4.5.2. Genitalia externa (Claspers)	43
4.5.3. Morfometría de genitalia interna (aedeagus).	43
4.6. AGRUPAMIENTO.	44
5. RESULTADOS Y ANÁLISIS	45
5.1. IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES COLECTADAS EN LAS ZONAS DE MUESTREO.	45
5.2. DETERMINACIÓN DEL AISLAMIENTO REPRODUCTIVO POST-CIGOTICO	45
5.2.1. Análisis interpoblacional de <i>Drosophila mercatorum</i>	45
5.2.2. Análisis de <i>Drosophila sp</i> (Patía) vs <i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)	49
5.3. GENITALIA EXTERNA (Claspers)	50
5.4. GENITALIA INTERNA (aedeagus)	54
5.5. MANCHA ABDOMINAL	69
5.6. MORFOMETRÍA DEL ALA	72

5.7. AGRUPAMIENTO	74
5.8. ANÁLISIS INTRAESPECÍFICO	76
5.9. ANÁLISIS INTER-POBLACIONAL	78
5.10. ANÁLISIS EVOLUTIVO	79
CONCLUSIONES	82
RECOMENDACIONES	84
BIBLIOGRAFÍA	85
ANEXOS	93

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Ubicación taxonómica del genero <i>Drosophila</i> grupo <i>repleta</i> .	23
Tabla 2. Muestreos realizados en las Zonas de Estudio.	37
Tabla 3. Medio de cultivo de especies de <i>Drosophila</i> grupo <i>repleta</i> (modificado de Sans de la Rosa <i>et al</i> , 1988).	37
Tabla 4. Diseño de Cruces Realizados y número de replicas evaluadas de cada tipo.	39
Tabla 5. Cruces comparados con diferencia estadísticamente significativa en la descendencia según sexo de acuerdo al contraste de múltiple de rangos (HSD de Tukey - α 0,05).	48
Tabla 6. Resumen del análisis de varianza inter-específico realizado a partir de los coeficientes de Fourier de la genitalia interna (aedeagus).	59
Tabla 7. Resumen del análisis de varianza intra-específico realizado a partir de los coeficientes de Fourier del aedeagus de las especies del grupo <i>repleta</i> analizadas.	69

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Esquema general del ciclo de vida de las especies de <i>Drosophila</i> .	24
Figura 2. Evolución cromosómica de las especies del complejo <i>buzzatii</i> según Wasserman & Ruiz y (1993).	26
Figura 3. Relaciones filogenéticas de las especies del Grupo <i>repleta</i>	27
Figura 4. <i>Drosophila aldrichi</i> Patterson. a) Genitalia masculina aspecto lateral. b – d) aedeagus	30
Figura 5. <i>Drosophila uniseta</i> Wasserman, Koepfer & Ward. a) Genitalia masculina aspecto lateral. b – d) aedeagus	30
Figura 6. <i>Drosophila mercatorum</i> Patterson & Wheeler. 1942 a) Genitalia masculina aspecto lateral. b – d) aedeagus	31
Figura 7. <i>Drosophila martensis</i> Wasserman & Wilson. a) Genitalia masculina aspecto lateral. b – d) aedeagus	31
Figura 8. Mapa de sitios de muestreo de <i>Drosophila</i> (Grupo <i>repleta</i>) (Nariño y Huíla).	35
Figura 9. Claspers primarios y Secundarios de a) <i>Drosophila sp</i> (Patía) b) <i>D. mercatorum</i> (Patía).	40
Figura 10. Procedimiento y programas utilizados para la obtención de datos para el análisis morfométrico de genitalia interna.	41
Figura 11. Medición del tamaño de la genitalia interna y las alas mediante morfometría tradicional.	42
Figura 12. Clasper y aedeagus de las especies colectadas en el Desierto de la Tatacoa – Huíla y el Valle del Patía – Nariño con su respectivo dibujo de la forma del aedeagus usada para el análisis morfométrico.	46
Figura 13. Comparación del número de Hembra obtenidas en los diferentes tipos de cruce realizados con <i>Drosophila mercatorum</i> del Desierto de la Tatacoa (Huíla) y el Valle del Patía (Nariño).	47
Figura 14. Comparación del número de Machos obtenidos en los diferentes tipos de cruce realizados con <i>Drosophila mercatorum</i> del Desierto de la Tatacoa (Huíla) y el Valle del Patía (Nariño).	47
Figura 15. Comparación del número de Cerdas del Clasper primario de todas las especies y poblaciones colectadas.	50
Figura 16. Comparación interpoblacional del número de Cerdas del Clasper primario de <i>Drosophila mercatorum</i> .	51
Figura 17. Morfología de los claspers primario y Secundario. a) <i>D. aldrichi</i> (Tatacoa) y b) <i>D. sp</i> (Patía). 1= Clasper Primario 2 = Clasper Secundario.	52
Figura 18. Comparación del número de Cerdas del Clasper primario de <i>Drosophila sp</i> del Valle del Patía vs <i>D. aldrichi</i> Desierto de la Tatacoa	52

Figura 19. Comparación del número de Cerdas del Clasper secundario de <i>Drosophila sp</i> del Patía y <i>Drosophila aldrichi</i> de la Tatacoa.	53
Figura 20. Análisis Morfométrico de la Genitalia Interna de las dos especies de <i>Drosophila</i> del grupo <i>repleta</i> colectadas en el Valle del Patía (Nariño).	54
Figura 21. Análisis Morfométrico de la Genitalia Interna de las dos especies de <i>Drosophila</i> del grupo <i>repleta</i> colectadas en el Desierto de la Tatacoa (Huila).	55
Figura 22. Análisis Morfométrico de la Genitalia Interna de todas las especies de <i>Drosophila</i> (Grupo <i>repleta</i>) del Desierto de la Tatacoa – Huila.	56
Figura 23. Análisis Morfométrico de la Genitalia Interna de las especies de <i>Drosophila</i> del grupo <i>repleta</i> colectadas en el Desierto de la Tatacoa (Huila) y el Valle del Patía (Nariño).	57
Figura 24. Comparación del tamaño en milímetros de la genitalia interna de las especies colectadas.	58
Figura 25. Análisis Morfométrico de la Genitalia Interna de <i>Drosophila mercatorum</i> y <i>D. aldrichi</i> de las poblaciones de estudio.	59
Figura 26. Análisis Morfométrico de la Genitalia Interna de <i>Drosophila mercatorum</i> Desierto de la Tatacoa (Color Rojo) y Valle del Patía (Negro).	60
Figura 27. Genitalia interna de <i>D. mercatorum</i> tomada en microscopio 40x 1: Tatacoa. 2: Valle del Patía	61
Figura 28. Comparación interpoblacional del tamaño en milímetros de la genitalia interna de <i>D. mercatorum</i>	61
Figura 29. Comparación de la forma del aedeago de las dos poblaciones de <i>D. mercatorum</i> respecto a los híbridos A1.	62
Figura 30. Comparación de la forma del aedeago de los híbridos A1 respecto a: a) <i>D. mercatorum</i> (Tatacoa) y b) <i>D. mercatorum</i> (Patía)	63
Figura 31. Comparación de la forma del aedeago de las dos poblaciones de <i>D. mercatorum</i> respecto a los híbridos A2.	64
Figura 32. Comparación de la forma del aedeago de los híbridos A2 respecto a a) <i>D. mercatorum</i> (Patía) y b) <i>D. mercatorum</i> (Tatacoa)	65
Figura 33. Análisis Morfométrico de la Genitalia Interna de <i>Drosophila sp</i> Valle del Patía y <i>D. aldrichi</i> Desierto de la Tatacoa.	66
Figura 34. Morfología externa de <i>D. aldrichi</i> de Desierto de la Tatacoa (a y b) y <i>Drosophila sp</i> Valle del Patía (c y d). a) Vista ventral. b) Vista lateral.	67
Figura 35. Genitalia interna tomada en microscopio 40x	67
Figura 36. Comparación interpoblacional del tamaño en milímetros de la genitalia interna de <i>Drosophila sp</i> y <i>D. aldrichi</i>	68
Figura 37. Comparación de la forma de la mancha abdominal de machos y hembras de <i>D. mercatorum</i> de Tatacoa.	70
Figura 38. Comparación de la forma de la mancha abdominal de machos y hembras de <i>D. mercatorum</i> del Patía	70

Figura 39. Comparación de la forma de la mancha abdominal de los machos de <i>D. mercatorum</i> de Tatacoa y Patía	71
Figura 40. Comparación de la forma de la mancha abdominal de las hembras de <i>D. mercatorum</i> de Tatacoa y Patía	72
Figura 41. Comparación interpoblacional de la forma del ala de los machos de <i>D. mercatorum</i> de Tatacoa y Patía	73
Figura 42. Comparación interpoblacional del tamaño en milímetros del ala de <i>D. mercatorum</i> .	73
Figura 43. Fenograma de las especies de <i>Drosophila</i> Grupo <i>repleta</i> del Desierto de la Tatacoa (Huíla) y el Valle del Patía (Nariño).	75

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Contraste de Kruskal-Wallis para la descendencia (machos y hembras) según Tipo de cruce	93
Anexo B. Contraste Múltiple de Rango para número de Hembras según el Tipo de Cruce. Método: 95,0 porcentaje Duncan	94
Anexo C. Contraste Múltiple de Rango para número de Machos según el Tipo de Cruce. Método: 95,0 porcentaje Duncan	97
Anexo D. Prueba de Shapiro Wilk para verificar normalidad en los datos de conteo de claspers.	100
Anexo E. Contraste de Kruskal-Wallis para Clasper Primario según Especie	100
Anexo F. Contraste Múltiple de Rango para número de cerdas del Clasper Primario según Especie. Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey	101
Anexo G. Prueba U de Mann Whitney para clasper primario de <i>D. mercatorum</i>	101
Anexo H. Prueba U de Mann Whitney para <i>D. sp</i> (Patía) vs <i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)	102
Anexo I. Shapiro Wilk para tamaño del aedeagus de todas las especies.	102
Anexo J. Contraste de Kruskal-Wallis para tamaño del aedeagus según especie	102
Anexo K. Contraste Múltiple de Rango para tamaño del aedeagus según Especie. Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey	103
Anexo L. Prueba U de Mann Withney para tamaño del aedeagus entre poblaciones de Tatacoa y Patía.	103
Anexo M. Shapiro Wilk para tamaño del ala de <i>D. mercatorum</i> .	104
Anexo N. Contraste de Kruskal-Wallis para TAMAÑO del ala de <i>Drosophila mercatorum</i> según sexo y población.	104
Anexo O. Contraste Múltiple de Rango para tamaño del ala (mm) de <i>D. mercatorum</i> según sexo y población.	104
Anexo P. Prueba U de Mann Whitney para tamaño del ala de <i>D. mercatorum</i> (Patía vs Tatacoa)	105
Anexo Q. Correlaciones Canónicas para tamaño del ala y el aedeago de <i>D. mercatorum</i>	105

RESUMEN

La formación de especies es de gran importancia en países como el nuestro, clasificado como megabiodiverso. Para el estudio de estos procesos se realizó cruces interpoblacionales y análisis morfométrico de la genitalia externa e interna de *Drosophila martensis*, *D. uniseta*, *D. aldrichi* y *D. mercatorum* colectadas en el Desierto de la Tatacoa (Huíla) y *Drosophila sp* y *D. mercatorum* del Valle del Patía (Nariño), teniendo en cuenta que estos caracteres tienen criterio taxonómico válido incluso a nivel de subespecies y razas, y permiten evaluar la existencia de barreras precigótica o postcigóticas que impide la formación de híbridos no idóneos. A fin de comparar la variabilidad interpoblacional en características no sexuales y obtener sus correlaciones, se realizó el análisis morfométrico del ala y la mancha abdominal, usando al igual que en el caso del aedeagus, 28 individuos por especie y población para la morfometría geométrica y 20 para la tradicional, obteniendo menor variabilidad en estas estructuras y correlaciones positivas para el tamaño del ala y el aedeagus.

Según la prueba MANOVA-CVA con valores- $P > 0.05$ y la prueba de Kruskal Wallis existió diferencia significativa en la forma y el tamaño del aedeago de todas las especies lo que corrobora su identidad taxonómica y la existencia de polimorfismo y politipismo.

La genitalia externa resulto un carácter que varia entre especies pero no entre poblaciones, esta estructura junto a la morfometría del ala y la mancha presentaron poca variación en las dos poblaciones de *D. mercatorum*, sin embargo a pesar de que se logró obtener descendencia fértil en los cruces interpoblacionales, la existencia de diferencias en el aedeagus y la disminución de la descendencia en las retrocruzas permite diferenciarlas como razas geográficas. *Drosophila sp* se diferenció de *D. aldrichi* como otra especie debido a la alta variación inter-poblacional en forma y tamaño de la genitalia externa e interna y la ausencia de descendencia en los cruces interpoblacionales.

Mediante este estudio se amplió el rango de distribución de *Drosophila mercatorum* al desierto de la Tatacoa y el valle del Patía y se reportó una nueva especie del genero *Drosophila* (grupo *repleta*) para el Patía.

Palabras clave: Análisis morfométrico, Genitalia interna y externa, Cruces interpoblacionales, *Drosophila* (Grupo *repleta*), Aislamiento reproductivo, Especiación.

ABSTRACT

The emergence of the species is very important in countries like ours, classified as megadiverse. To study these processes there were made interpopulational crosses and morphometric analysis of the external and internal genitalia of *Drosophila martensis*, *D. uniseta*, *D. aldrichi* and *D. mercatorum* collected in the Tatacoa Desert (Huila) and *Drosophila sp* and *D. mercatorum* from the Patía Valley (Nariño), having on account that these characters have certain taxonomic approaches which are valid even to the level of subspecies and races, and allow to evaluate the existence of prezygotical or postzygotical barriers that impede the formation of not suitable hybrids. In order to compare the interpopulational variability in no sexual characteristics and obtain their correlations, it was made a morphometric analysis of the wing and the abdominal stain, using the same as in the case of the aedeagus, 28 individuals per specie and population for the geometric morphometry and 20 for the traditional, obtaining less variability in these structures and positive correlations for the size of the wing and the aedeagus.

According to the MANOVA-CVA test with values $-P > 0.05$ and Kruskal Wallis test there was a significant difference in the form and shape in the aedeago of all the species which corroborates their taxonomic identity and the existence of polymorphism and polypitism.

The external genitalia resulted to be a character that varies between species but not between populations, this structure together with the wing morphometry and the stain presented little variation in both species of *D. mercatorum*, however, in spite the fact that it was achieved to obtain fertile descendant in the populational crosses, the existence of differences in the aedeagus and the decrease of the descendant in the retrocrosses allows to differ them as geographic races.

Drosophila sp was differentiated from *D. aldrichi* as a new specie because of the high variation interpopulational according to the form and size of the external and internal genitalia and the absence of descendant in the interpopulational crosses.

By means of this study it was enlarged the distribution range of *Drosophila mercatorum* to the Tatacoa Desert and the Patía Valley and it was reported a new specie of the genus *Drosophila* (*repleta* group) for the Patía.

Keywords: Morphometric analysis, internal and external genitalia, interpopulational crosses, *Drosophila* (*replete* group), reproductive isolation, speciation.

INTRODUCCIÓN

"Nada tiene sentido en la Biología si no es a la luz de la Evolución"
T.Dobzhansky

Las especies del grupo *repleta* y en particular las del cluster *martensis*, han sido de gran interés para los evolucionistas, estudiosos de las filogenias y los procesos de especiación. En Colombia la distribución de este grupo no ha sido muy estudiada pero los pocos trabajos realizados han aumentado el interés por conocer las posibles nuevas especies que se encuentren en todo el país, puesto que posee zonas donde sería posible la permanencia de estas especies y aparición de nuevas especies, subespecies o razas geográficas.

Desde 1997, en la línea de investigación en Citogenética y Evolución de Poblaciones de *Drosophila*, que desarrollan conjuntamente la Universidad del Tolima, y el Instituto de Genética de la Universidad de los Andes, se viene realizando el estudio comparado de las poblaciones del cluster *martensis*, de dos ecosistemas, semiáridos, aislados: Costa Norte y Tatacoa. Los resultados obtenidos hasta el momento, permiten inferir procesos de formación de razas geográficas de las poblaciones problema. Con el presente trabajo se pretende complementar y apoyar estas investigaciones en la Universidad de Nariño, incluyendo la población del Valle del Patía (Nariño), donde aun no se han realizado estudios de este tipo.

El concepto de especie ha sido motivo de grandes debates durante los últimos años, sin embargo, existe un consenso acerca de la importancia del aislamiento reproductivo como característica para la definición de especies sexuales diploides, según esto, la aparición de nuevas especies depende de la existencia de mecanismos que conduzcan a un aislamiento reproductivo (precigótico o postcigótico) que impida el flujo genético. Esto puede evaluarse mediante cruces interpoblacionales ya que *Drosophila* es un organismo de fácil manejo en laboratorio, con posibilidad de realizar cruces en un tiempo relativamente corto y además, las especies a estudiar se encuentran en ecosistemas aislados lo cual favorece procesos de evolución independiente y desarrollo de mecanismos de aislamiento reproductivo, esto permitirá establecer en que punto se encuentra el proceso de especiación, identificando si las vías de fertilización se han alterado por dicho proceso.

La divergencia entre las poblaciones hasta la formación de especies es gradual, sin marcarse un momento exacto en que se pueda decir que ambas poblaciones

son ya dos especies diferentes, dándose situaciones intermedias de divergencia, sin embargo, esto puede resolverse ya que en organismos con fertilización interna, la divergencia en la morfología genital masculina es un carácter taxonómico aceptado para distinguir a nivel de especie e incluso de razas. Una alternativa válida utilizada para su estudio, es el análisis del aedeagus masculino de las especies, empleando la morfometría geométrica de contorno para monitorear procesos de especiación en marcha, siendo una herramienta que permite entender si las variaciones morfométricas observadas en una investigación son divergencia intraespecífica o son parte de la plasticidad fenotípica propia de la población y el ambiente en que se encuentra.

Jaramillo y Dujardin (2002), explican que la morfometría provee las técnicas para cuantificar dicha variación y separar los componentes genético y ambiental de los rasgos examinados, ya que en gran parte el factor ambiental puede controlarse, bajo condiciones de laboratorio, de manera que la variabilidad observada se pueda atribuir principalmente al componente genético.

Con base en lo anterior se plantea contribuir al esclarecimiento de los procesos de formación de razas, subespecies o especies en el grupo *repleta*, mediante cruces intra e interpoblacionales y el análisis morfométrico de la genitalia de los machos.

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el posible proceso de especiación entre las poblaciones del género *Drosophila* pertenecientes al grupo *repleta* colectadas en dos regiones semiáridas aisladas geográficamente.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ∅ Determinar la existencia de aislamiento reproductivo mediante cruces interpoblacionales.
- ∅ Analizar las diferencias morfométricas a nivel de genitalia interna y externa y su posible relación con el aislamiento reproductivo.
- ∅ Contribuir al esclarecimiento del cuadro evolutivo de estas especies a través de un análisis de agrupamiento.
- ∅ Establecer el grado de aislamiento reproductivo entre las dos poblaciones con el fin de catalogar en que punto se encuentra el proceso de especiación.

2. ANTECEDENTES

En las especies sinmórficas o gemelas, la identificación de caracteres diagnósticos permite diferenciarlas tanto inter como intraespecíficamente. Coyne, (1984) examinó morfométricamente algunas características externas de tres especies pertenecientes al género *Drosophila*: *D. melanogaster*, *D. simulans* y *D. mauritiana*, encontrando que diferían solo a nivel del arco genital posterior de los machos.

Gibert *et al.* (1996) utilizó como modelo biológico a *D. melanogaster* y *D. simulans*, y analizó la plasticidad de su fenotipo, es decir la interacción del genotipo con el medio ambiente en el que se desarrollan, encontrando que con el incremento de la temperatura, la pigmentación oscura de los segmentos abdominales se hacía más tenue. Capy. (1988) reportó lo mismo para estas especies, pero en el patrón de coloración torácica.

Laurie *et al.*, (1997) analizó dos especies estrechamente relacionadas *D. simulans* y *D. mauritiana*, con el fin de dilucidar las bases genéticas de su diferenciación morfológica a nivel de la genitalia interna. Los resultados muestran un mínimo de ocho loci característicos (QTL) que afectan este rasgo.

Las especies del grupo *repleta* y en particular las del cluster *martensis*, han sido de gran interés para los evolucionistas, estudiosos de las filogenias y los procesos de especiación que se pueden evidenciar en ellas. El grupo de investigación en Genética y evolución de poblaciones de las universidades del Tolima y Los Andes ha venido realizando trabajos que permiten ampliar el conocimiento científico de dichas especies desde diferentes ángulos: citogenética, morfología, aislamiento reproductivo, coevolución y distancia genética entre otros (Prieto, 2006), que a su vez pueden complementarse con los datos derivados de proyectos como el que se propone en este documento.

Entre los trabajos desarrollados por el mencionado grupo de investigación pueden citarse el de Castañeda (2000), quien realizó un análisis morfométrico tradicional de 7 caracteres de *D. starmeri* de dos poblaciones, la Costa Norte y el desierto de la Tatacoa, encontrando diferencias significativas en los claspers, patas, quetas y alas. Esto podría estar reflejando diferencias genéticas asociadas con el aislamiento geográfico.

Los resultados de Castañeda, son congruentes con los de Rojas (2001), quien a través de cruces circulares entre *D. starmeri* y *D. martensis* de poblaciones pertenecientes a las dos regiones, logró demostrar una reducción en el número de híbridos provenientes de los cruces entre *D. starmeri* de Santa Marta y de la Tatacoa. Al analizar los resultados de Rojas podría pensarse que la distancia

obligada entre las dos regiones (Costa norte y Tatacoa) ha permitido que las poblaciones hayan evolucionado hacia razas geográficas, caracterizadas por una diferenciación genética que puede traducirse en una disminución del número de híbridos.

Pérez (2002), en el Instituto de Genética de la Universidad de los Andes, determinó las características del cortejo en *D. starmeri*, concluyendo que si bien los resultados no fueron estadísticamente significativos se registra un reconocimiento preferencial entre las parejas de la población de Santa Marta, así como entre las del Desierto de la Tatacoa. Florez, (2003) estudió el efecto del tipo de dieta en la productividad de tres cepas mutantes de *Drosophila starmeri*, estableciendo que existe una relación entre el componente genético y la utilización diferencial del medio de cultivo por parte de las moscas, al encontrar diferencias significativas a nivel de productividad para cada una de las cepas en los distintos medios de cultivo.

Prada, (2003), encontró que las poblaciones de la Costa Norte Colombiana y las del Desierto de la Tatacoa presentan variaciones cromosómicas debido a las inversiones descritas en la filogenia del cromosoma 2 Estándar (2ABCDEFGabcda'b'c'd') que él propone para las poblaciones estudiadas, el cual a su vez se deriva del Estándar de *D. martensis* propuesto por De Polanco (1997).

El estudio más reciente en el grupo de investigación es el realizado por De Polanco *et al*, (2004), quienes plantean a partir del análisis morfométrico de la genitalia interna y externa de las especies *D. martensis*, *D. starmeri*, *D. uniseta* y *D. aldrichi*, que al hacer la comparación de las cuatro especies y sus respectivas poblaciones, se reflejan diferencias significativas a este nivel, sin embargo, cuando se realizó el análisis canónico discriminante (CVA) comparando a *D. aldrichi* con cada una de las especies restantes, se encontró, que esta se diferencia perfectamente de *D. starmeri* y *D. uniseta*, pero no de *D. martensis*, con la que se sobrepone totalmente como si fueran la misma especie. Con lo anterior se plantea la posibilidad de reubicar alguna de las dos especies dentro del cluster correspondiente, es decir, juntas en el enjambre *mulleri* o en el enjambre *martensis*, esto teniendo en cuenta el apoyo que se pueda brindar a estos resultados, con los datos obtenidos de otros estudios morfométricos como el aquí propuesto.

3. MARCO TEORICO

Las especies de *Drosophila* pertenecientes al grupo *repleta* son un modelo *biológico* adecuado para el discernimiento de procesos evolutivos, por esta razón los organismos a estudiar en este trabajo son moscas cactofílicas de este grupo cuya clasificación taxonómica actual se encuentra en la tabla 1.

Tabla 1. Ubicación taxonómica del genero *Drosophila* grupo *repleta*.

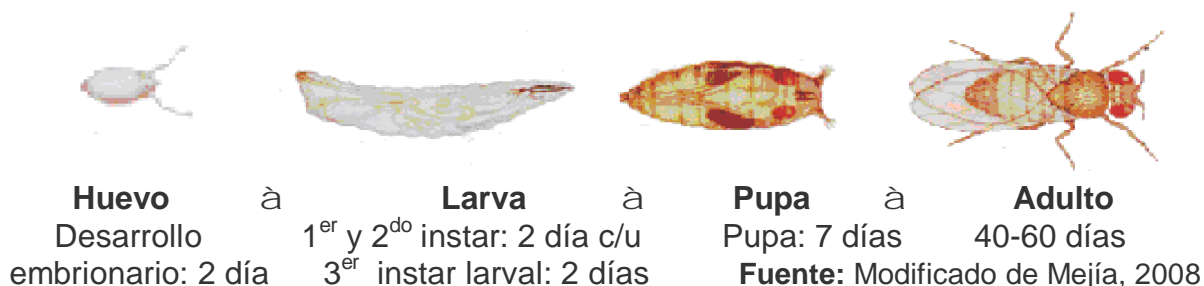
Reino	Animal	Subfamilia	Drosophilinae
Phylum	Artrópoda	Tribu	Drosophilini
Clase	Insecta	Subtribu	Drosophilina
Subclase	Pterigota	Infratribu	Drosophiliti
Orden	Díptera	Género	<i>Drosophila</i>
Suborden	Clorofa	Subgenero	<i>Drosophila</i>
Familia	Drosophilidae	Grupo	<i>repleta</i>
Fuente: TAXODROS (The database on Taxonomy of Drosophilidae)			

En general, *Drosophila melanogaster* o mosca de la fruta fue uno de los primeros animales que se estudió genéticamente. En el laboratorio de T.H. Morgan, poco después del redescubrimiento del trabajo de Mendel, fue identificada como el animal experimental ideal para realizar estudios genéticos debido a su tamaño manejable, a que es fácil de cultivar en el laboratorio, tiene una progenie numerosa, pocos cromosomas y gigantes (politénicos). Con *Drosophila* es posible obtener una progenie grande a partir de pocos parentales en aproximadamente dos semanas (Mejía, 2008).

En cuanto a la morfología del adulto, las *Drosophilas*, son insectos muy pequeños cuyo tamaño oscila entre 1 y 4 mm. Pertenecen al orden Díptera, uno de los más complejos y diversos; que incluye todos aquellos individuos que presentan un primer par de alas funcionales y el segundo reducido a dos estructuras llamadas halterios o balancines (Roldan, 1996). Las especies pertenecientes al grupo *repleta* de *Drosophila* se caracterizan por que cada cerda o pelo del tórax aflora de un punto oscuro, sus testículos presentan forma de espiral, tienen receptáculo ventral, bandas y manchas dorsales discontinuas en el mesonoto, escutelo y abdomen y ojos generalmente de color rojo (Ramos, 1993; Wasserman, 1982 a).

Drosophila pertenece a los insectos holometabólos los cuales sufren una metamorfosis completa. La secuencia y la duración aproximada de los diferentes estadios de su ciclo de vida (figura 1) a una temperatura óptima de 25°C, son los siguientes:

Figura 1. Esquema general del ciclo de vida de las especies de *Drosophila*.



El huevo es de forma ovoide con una cubierta fina pero fuerte denominada corión, del cual sobresalen dos finas proyecciones aplanadas en sus extremos, las cuales previenen que el huevo se hunda en un medio semilíquido. En el extremo contrario se encuentra un poro pequeño, por donde entra el esperma al huevo y pasa por el oviducto al útero. El desarrollo empieza inmediatamente después de la fertilización y esta es dividida en dos períodos: el período embrionario que transcurre dentro del huevo hasta la eclosión de la larva, y el período post-embrionario que consiste en la larva, la pupa y el adulto (Strickberger, 1962; Breitenbach, 1997; Mejía, 2008).

La larva es blanca, vermiforme, segmentada y con piezas bucales más oscuras, muda periódicamente su cutícula para alcanzar un tamaño adulto, el cuerpo de la larva se reduce y su cutícula se transforma en una pared pigmentada, dura y rígida, que constituye el pupario donde se transforma en adulto. Poco después de que los machos salen del pupario ya son fértiles y maduros sexualmente. Las hembras tardan un poco más de 6 a 12 horas y al ser sexualmente maduras, se aparean repetidamente con diferentes machos, almacenan el semen en los receptáculos ventrales y lo utilizan para fecundar los huevos más tarde. Bajo condiciones ideales (25°C y 60% de humedad relativa) el desarrollo desde el huevo hasta el adulto se lleva a cabo en 10 días. A temperaturas más bajas el ciclo de vida se alarga, y a temperaturas mayores de 30°C las moscas se vuelven estériles (Strickberger, 1962; Levine, 1973).

Se cree que fue en Asia tropical en donde el género *Drosophila* tuvo sus orígenes e inició su radiación hacia los continentes Americano y Europeo a través de linajes tropicales (De Polanco, 1997). Las especies del grupo *repleta* ocupan diferentes hábitats, sin embargo, una de las características más notables del grupo, es el uso de los cactus en descomposición como nicho trófico, lo cual les ha permitido invadir los desiertos y zonas áridas del continente americano (Ruiz & Fontdevila, 1982).

3.1. GRUPO *repleta*

El grupo *repleta*, se ubica en el genero *Drosophila* junto con otros 21 grupos de especies, por compartir características como huevos de 3 a 4 filamentos, largos y finos, receptáculo ventral, testículos en forma de espiral y bandas abdominales dorsales no continuas (Wasserman, 1982 b). Este grupo es uno de los más grandes del genero pues comprende 91 especies descritas y posiblemente existan otras aún sin describir (Etges, Armella, O'Grady & Heed, 2001).

El grupo es originario del nuevo mundo en donde se encuentran todas sus especies sin excepción, aunque cinco de ellas, *D. repleta*, *D. hidey*, *D. marcatorum*, *D. buzzatii* y *D. aldrichi*, se hallan fuera del continente americano, a donde posiblemente han llegado acompañando las actividades del hombre (Ruiz & Fontdevila, 1981).

Actualmente el grupo *repleta* se encuentra conformado por seis subgrupos o complejos: *repleta* (antes *melanopalpa*), *hidey*, *marcatorum*, *fasciola*, *mulleri* y *buzzatii*, en este último se encuentran ubicadas las especies suramericanas, pertenecientes anteriormente al subgrupo *mulleri* (Wasserman & Ruiz, 1993).

Las especies de grupo *repleta* tienen en común los mismos cromosomas y, gran parte de su proceso evolutivo puede verse en las inversiones, especialmente paracéntricas, que se han ido acumulando a lo largo de la historia, constituyéndose en uno de los principales criterios de división del grupo en complejos o subgrupos, que reúnen las especies según el número de inversiones compartidas (Figura 2 y 3), además de ciertas características morfológicas. Los subgrupos se dividen a su vez en clusters, utilizando los mismos criterios (Prieto, 2006).

3.2. MECANISMOS DE AISLAMIENTO REPRODUCTIVO.

Aunque el aislamiento reproductivo es un criterio claro para decidir si dos individuos pertenecen a la misma especie, se dan ambigüedades en la práctica por dos razones: la primera, es que veces no se sabe si individuos que viven en distintas regiones pertenecen a la misma especie, porque se desconoce si podrían cruzarse, la segunda razón se relaciona con el criterio de la evolución gradual: el origen de nuevas especies ocurre cuando dos poblaciones que antes pertenecían a la misma especie, divergen una de la otra y se convierten en dos especies diferentes; pero el proceso es gradual, y no hay un momento exacto en que se pueda decir que ambas poblaciones son ya dos especies diferentes. De este modo, se dan situaciones intermedias de divergencia (Moran, L. 1993).

El origen de una nueva especie implica la evolución de mecanismos o barreras biológicas que impidan el entrecruzamiento con individuos de otras especies. Las propiedades biológicas que impiden el apareamiento se llaman mecanismos de aislamiento reproductivo, y se pueden clasificar en dos grupos:

Figura 2. Evolución cromosómica de las especies del complejo *buzzatii* según Wasserman & Ruiz y (1993).

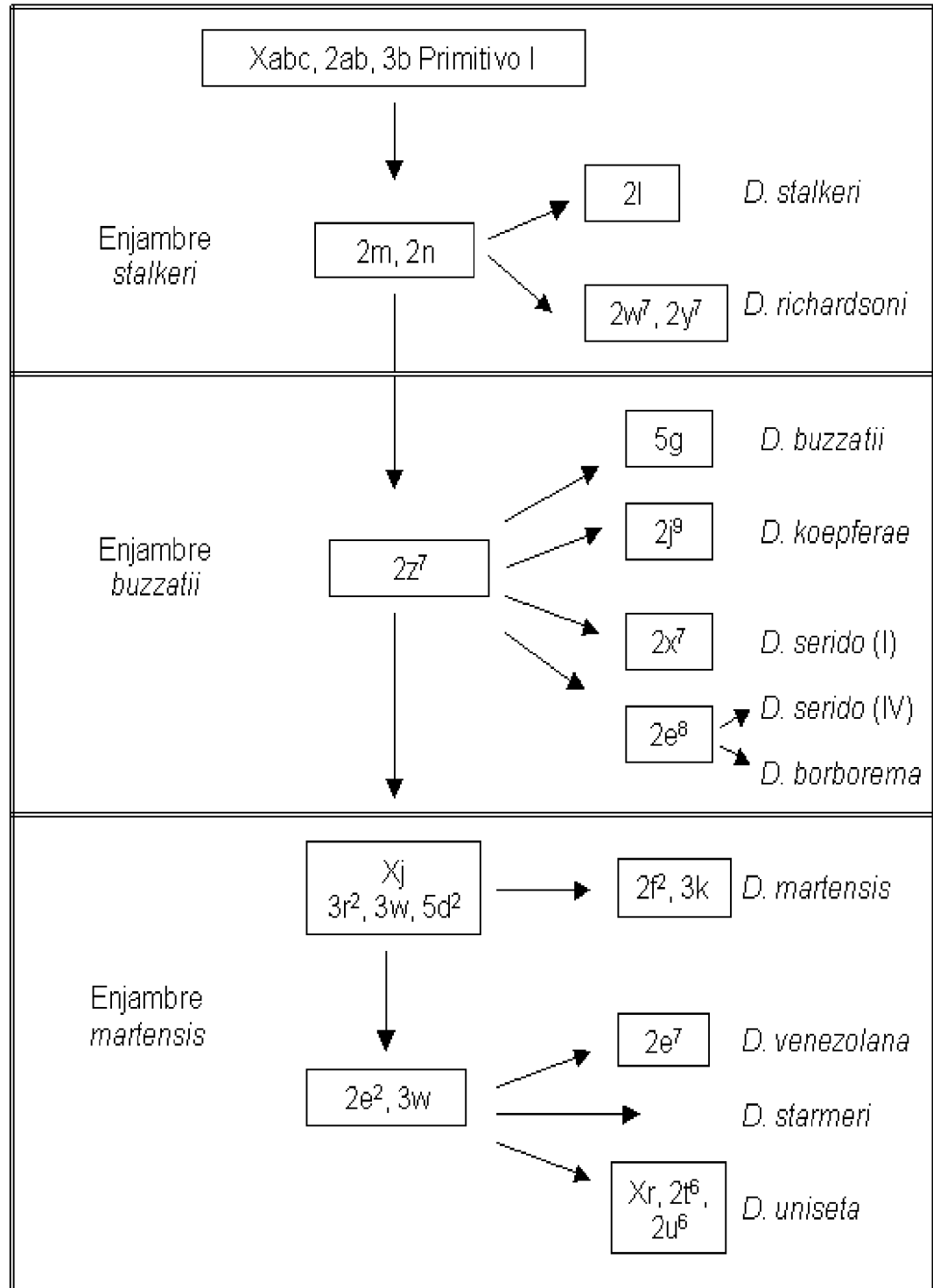
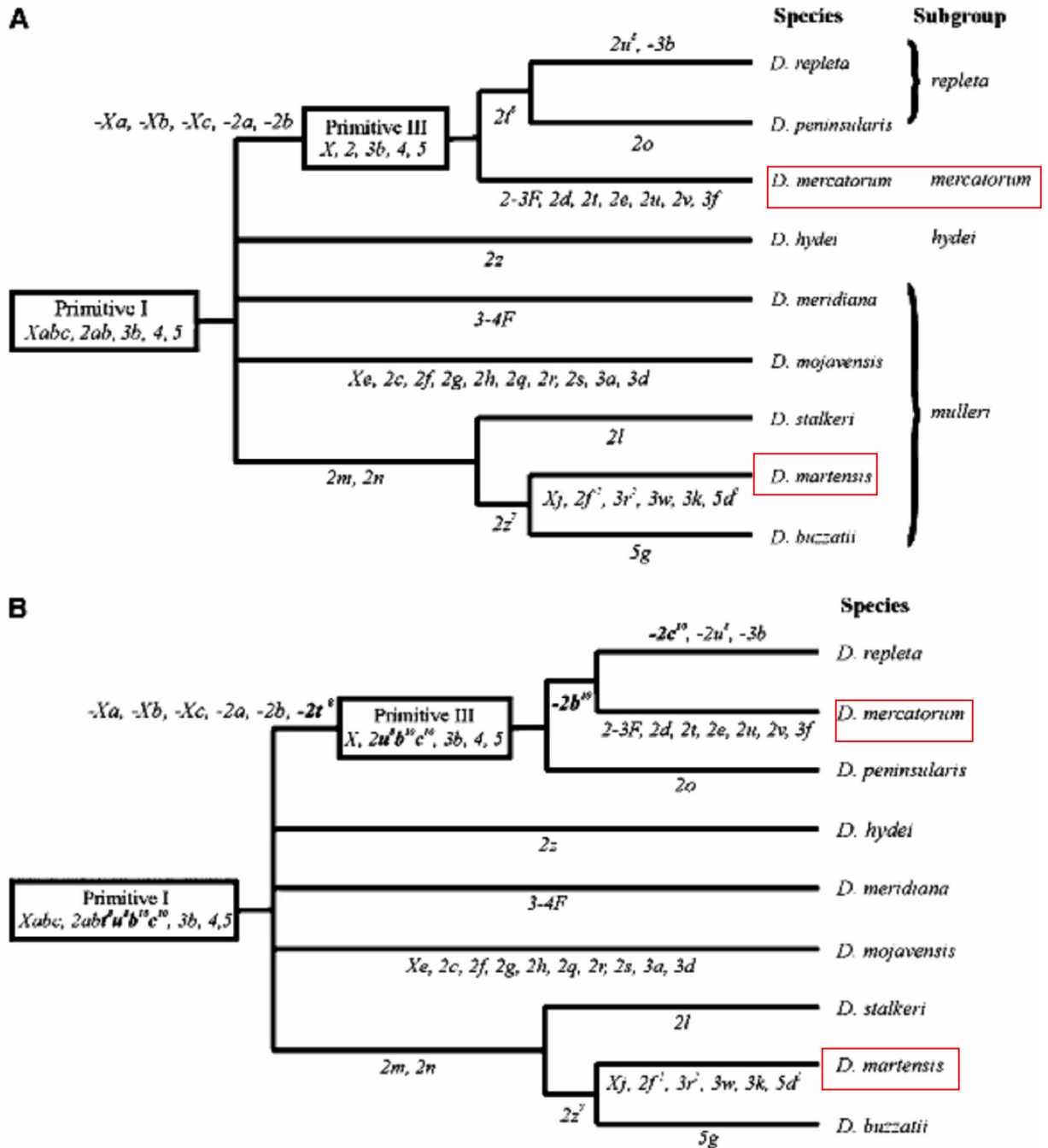


Figura 3. Relaciones filogenéticas de las especies del Grupo *repleta*

A) A partir de inversiones cromosómicas en cromosomas politénicos. (Wasserman, 1992; Ruiz y Wasserman, 1993). B) Filogenia inferida de los resultados de hibridación situ de ADN en cromosomas politénicos. (González, Casals & Ruiz, 2003).



3.2.1. Precigóticos, aquellos que impiden la fecundación del óvulo, y que pueden ser ecológicos, estacionales, conductuales, mecánicos y gaméticos. La fuerza del aislamiento ecológico entre las especies gemelas ha sido comprobada en el laboratorio agrupando machos y hembras de diferentes especies. Estos pueden ser de varios tipos:

1. *Aislamiento ecológico*. A veces, individuos que ocupan el mismo territorio viven en diferentes hábitats y, por tanto, no tienen oportunidad de cruzarse.

2. *Aislamiento estacional*. Los organismos pueden madurar sexualmente en diferentes estaciones u horas del día.

3. *Aislamiento conductual*. La atracción entre machos y hembras, o entre gametos masculinos y femeninos, en el caso de plantas y organismos acuáticos, es necesaria para que se produzca la unión sexual. Entre los animales es, quizá, el más poderoso. Por ejemplo, existen tres especies gemelas de *Drosophila*, casi indistinguibles morfológicamente (*D. serrata*, *D. birchii* y *D. dominicana*), nativas de Australia, Nueva Guinea y Nueva Bretaña, que en muchas regiones coexisten geográficamente. A pesar de su semejanza genética y proximidad evolutiva, no existen híbridos en la naturaleza (Curtis & Barnes, 2000).

4. *Aislamiento mecánico*. La cópula es a veces imposible entre individuos de diferentes especies, ya sea por el tamaño incompatible de sus genitales, o por variaciones en la estructura floral.

5. *Aislamiento gamético*. En los animales con fecundación interna los espermatozoides son inviables en los conductos sexuales de las hembras de diferentes especies.

3.2.2. Postcigóticos, los que interfieren, tras la formación del cigoto, en el desarrollo del individuo o lo hacen estéril, de manera que no pueda dejar descendencia, y pueden ser clasificados en diferentes categorías: inviabilidad, esterilidad de los híbridos y reducción de ambas (Azurduy, H, 2006).

3.3. GENITALIA

La rápida divergencia evolutiva de la morfología genital masculina representa una de las tendencias más notables en animales con fertilización interna. En muchos casos, los órganos genitales proveen caracteres taxonómicos útiles para distinguir entre organismos en el nivel de especies donde ningún otro rasgo morfológico es válido (Eberhard, 1985). La evolución genital ha fascinado a los biólogos por más de 150 años y se ha usado para establecer diferencias incluso en el ámbito de estudios intraespecíficos (Arnqvist, 1997).

Existen tres hipótesis principales para explicar la diversificación morfológica de órganos genitales animales:

Ø *El aislamiento reproductivo*, cuando la divergencia genital causa aislamiento mecánico e hibridación que impide el reconocimiento genital, como en el caso de un cerrojo y una llave (Eberhard, 1985). Según Arnqvist (1998), la genitalia evolucionó para evitar la hibridación como estrategia de aislamiento pre-copulativo.

Ø *La Pleiotropía*, cuando los órganos genitales son selectivamente neutrales y evolucionan por efectos pleiotrópicos, es decir cuando un mismo gen afecta varios caracteres y por tanto, se dan procesos de selección en otros rasgos (Mayr, 1963). La pleiotropía da cuenta de los cambios correlativos que tienen lugar a lo largo de la evolución. Si la selección natural actúa sobre un rasgo controlado por un gen que a su vez determina otros rasgos, esos otros rasgos se verán también afectados por el proceso selectivo.

Ø *Selección sexual*, si las estructuras genitales óptimas confieren una ventaja reproductiva a los organismos (Eberhard, 1985).

El interés en el potencial para que la evolución de rasgos reproductivos generen aislamiento reproductivo y evolución de las especies ha aumentado por lo cual se propone que la divergencia genital está bajo selección como un mecanismo para evitar la hibridación por tanto el aislamiento reproductivo y la evolución de las especies, podrían ocurrir a consecuencia de la variación morfológica genital (Sota, & Kubota, 1998).

En las Figuras 4 a 7 se observan las ilustraciones de genitalias de *Drosophila* utilizadas para la identificación de las especies colectadas para este trabajo tomadas de la revisión de especies del grupo *repleta* de Vilela (1983).

3.4. LA MORFOMETRÍA

La palabra morfometría se deriva del radical griego – *morphos* – que significa forma, asociado al radical griego – *metrikós* – o del latín – *metricum* – que significa acto de medir o establecer dimensiones. Es considerada como una técnica que permite medir y cuantificar las estructuras morfológicas de cualquier organismo u objeto. La descripción cuantitativa de la forma es llamada morfometría, haciendo alusión a ésta como una serie de procedimientos que facilitan cartografiar la información visual del objeto dentro de una representación matemática simbólica (Prieto, 2006).

Al campo de la morfometría le competen los métodos para la descripción de la variación y el análisis estadístico de los cambios de la forma, dentro y entre muestras de organismos, ocasionados por el crecimiento, los tratamientos experimentales o la evolución (Rohlf & Marcus, 1993).

Figura 4. *Drosophila aldrichi* Patterson, 1940. a) Genitalia masculina aspecto lateral. b – d) aedeagus

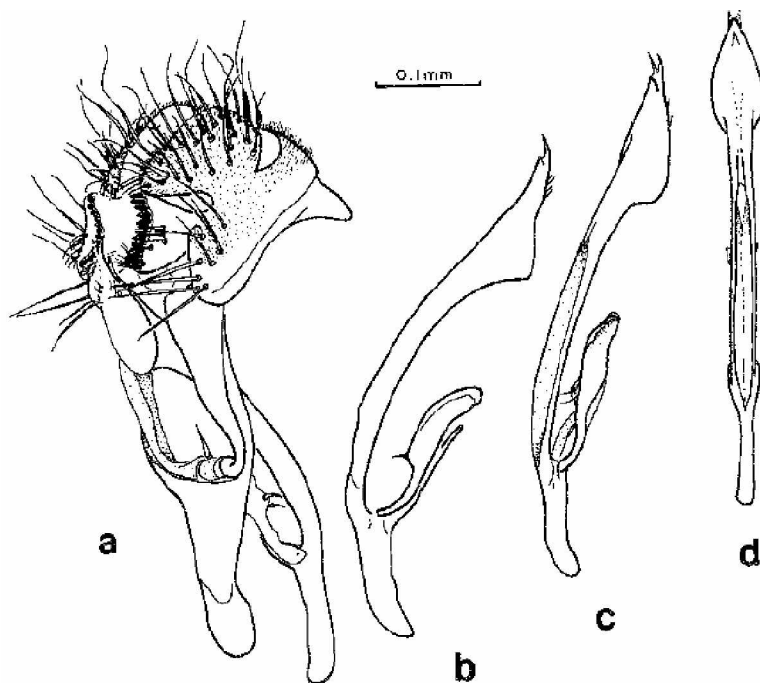


Figura 5. *Drosophila uniseta* Wasserman, Koepfer & Ward, 1973 a) Genitalia masculina aspecto lateral. b – d) aedeagus

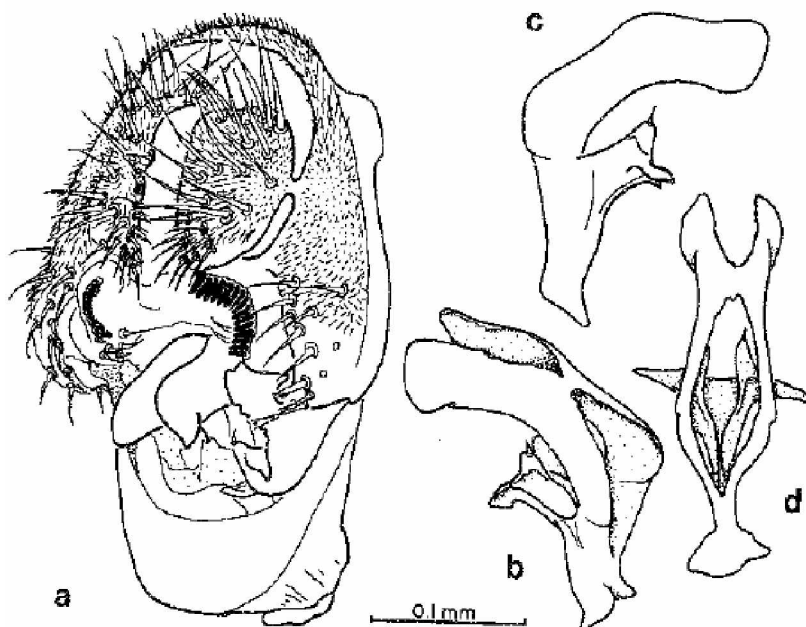


Figura 6. *Drosophila mercatorum* Patterson & Wheeler, 1942 a) Genitalia masculina aspecto lateral. b – d) aedeagus

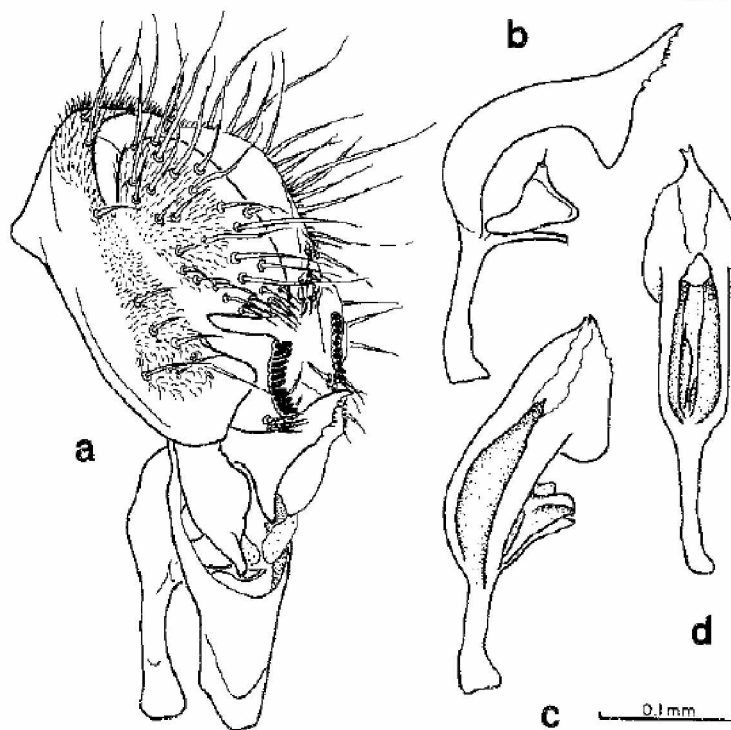
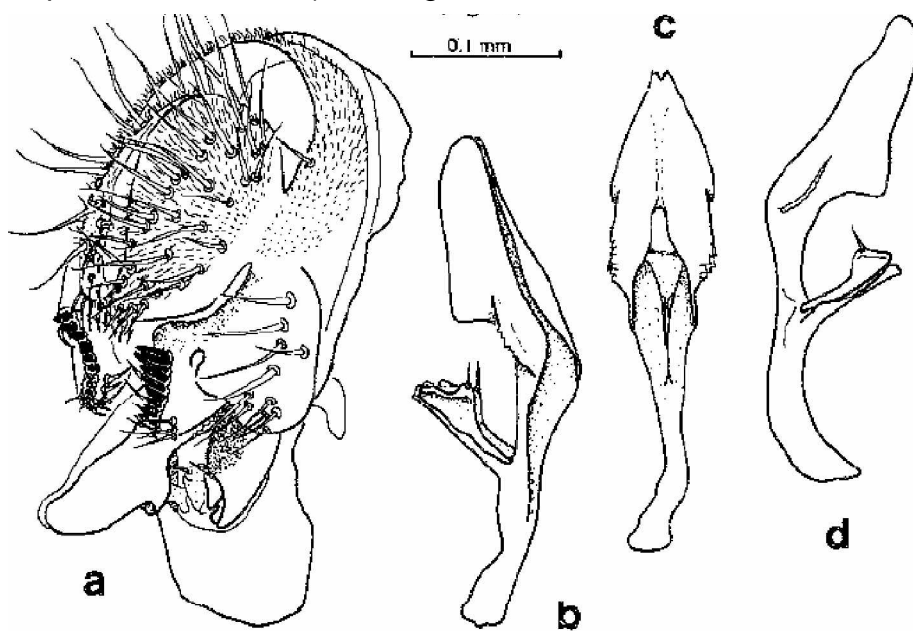


Figura 7. *Drosophila martensis* Wasserman & Wilson, 1957 a) Genitalia masculina aspecto lateral. b – d) aedeagus



En el momento de entender si las variaciones morfométricas observadas en una investigación son simples polimorfismos o trascienden a divergencia intraespecífica, si tienen base genética o son sólo parte de la plasticidad fenotípica propia de las variaciones del ambiente, es importante tener en cuenta que las respuestas corresponden a los atributos biológicos del total de individuos en estudio y no a los organismos individualmente porque la selección natural actúa sobre las poblaciones en su conjunto. La morfometría provee las técnicas para cuantificar dicha variación y separar los componentes genético y ambiental de los rasgos examinados, porque el factor ambiental puede controlarse, en gran parte, bajo condiciones de laboratorio y la variabilidad observada se puede atribuir principalmente al componente genético (Jaramillo, 2000; Jaramillo & Dujardin, 2002).

El uso de diferentes métodos cuantitativos para medir las formas se ha simplificado bastante. Los computadores, cada vez más eficientes, han permitido la aplicación de paquetes estadísticos para análisis multivariados, de funciones discriminantes de grupos, que han facilitado mucho la morfometría, automatizando las mediciones, permitiendo la manipulación de grandes matrices de datos y la elaboración de gráficas. Todo lo anterior converge en la rápida evolución de los métodos, a partir de la década de los sesenta del siglo pasado (Adams, *et al*, 2004) y desde el inicio de la morfometría tradicional, basada principalmente en medidas de las estructuras en términos de distancias lineales entre diferentes puntos y análisis estadísticos (Rohlf & Marcus, 1993).

Según Jaramillo y Dujardin (2003), la morfometría tradicional define las longitudes o mediciones con el objetivo de registrar aspectos biológicos significativos del organismo. Se emplea para eliminar el cambio alométrico (derivado del cambio de tamaño) y estudiar las diferencias de conformación libres de alometría, mediante análisis multivariados, haciendo combinaciones lineales, de todas las variables originales, en unas pocas no relacionadas entre sí, cada una de las cuales da cuenta de una porción de la varianza original. Todo esto se hace a partir de matrices de varianza - covarianza construidas con las distancias transformadas a logaritmos naturales. La morfometría geométrica, es una técnica que preserva la información de la geometría o arreglo espacial de la estructura a través de coordenadas, graficadas en un espacio cartesiano, que permiten visualizar las diferencias de las formas entre grupos e individuos. La parte multivariada se lleva a cabo en un espacio planar, tangente a un espacio de conformación curvo (no euclidiano de Kendall) (Jaramillo & Dujardin, 2002).

En el análisis geométrico, se utilizan variables de conformación (forma), generadas a través del primer tratamiento estadístico de las configuraciones, que elimina el componente isométrico, llamado tamaño – centroide. Lo que se extrae antes del análisis, es el tamaño isométrico, no la conformación, ya que se conserva la alometría (Jaramillo & Dujardin, 2002).

El método geométrico Series de Fourier elípticas, ha sido probado en otras investigaciones que involucran la genitalia de los machos, para tratar de evidenciar tipos de selección sexual postcopulatoria y herencia aditiva en caracteres cuantitativos, Laurie *et al* (1997), se basa en la toma de coordenadas del contorno de la estructura a analizar “Outlines” y en el ajuste de los puntos con la función matemática de la ecuación:

$$f(\theta) = A_0 + \sum_{n=1}^N a_n \cos n\theta + \sum_{n=1}^N b_n \sin n\theta$$

Esta ecuación reproduce gráficamente la forma de la imagen de la estructura originalmente digitalizada, luego de varias repeticiones. Las curvas se comparan, usando los coeficientes que representan la forma en una matriz comprendida por las variables producto de las repeticiones en las armónicas, en un análisis multivariado (Galindo, 2004; Adams, *et al*, 2004, Rohlf & Marcus, 1993).

El método, utiliza la forma de la estructura conservando su relación geométrica a lo largo del análisis, como una configuración de datos en un espacio, invariante con respecto a los efectos de la rotación, la escala y el desplazamiento de la estructura, que toma en cuenta la información proveniente de las relaciones espaciales entre las variables estudiadas, en este caso las coordenadas que definen la forma. En resumen, tal como lo plantea Galindo (2004), puede decirse que los coeficientes de Fourier, se expresan a través de dos armónicas, cada una de las cuales contiene dos parámetros, lo que hace que luego de una repetición de una serie se obtengan 4 variables. El programa EFAWIN utilizado en este y en otros trabajos con especies de *Drosophila*, calcula cuantas series se deseen, dependiendo del número de individuos que se tengan. El objetivo es lograr reproducir la forma inicial para proceder con los análisis estadísticos, sin que el número de variables multiplicado por cuatro, sea mayor al número de individuos por especie que se dispongan para el estudio para no incurrir en errores estadísticos por fallas en el muestreo de los datos (Prieto, 2006).

3.5. MODELOS DE ESPECIACIÓN.

Una especie está formada por grupos de organismos (poblaciones) que están reproductivamente aislados de individuos de otras especies. Por tanto, la cuestión del origen de las especies se centra en determinar cómo se genera el aislamiento reproductivo. Para ello, se han propuesto dos teorías (Azurduy, H, 2006).

La teoría incidental considera que dos poblaciones que están separadas divergen genéticamente como consecuencia de su adaptación al entorno local. La teoría selectiva considera el aislamiento reproductivo como un producto directo de la selección. En el caso de que dos poblaciones estén ya genéticamente un tanto diferenciadas, los híbridos estarán menos adaptados que los no híbridos.

Las dos teorías anteriores no son necesariamente incompatibles, el aislamiento reproductivo puede aparecer como subproducto accidental de las barreras geográficas y de la adaptación a los medios diferentes. En otras ocasiones se requiere de una explicación por ambas teorías.

El aislamiento reproductivo se inicia como consecuencia de la divergencia genética que tiene lugar en poblaciones geográficamente separadas; pero es completado por la selección natural una vez que surge de nuevo la oportunidad de apareamiento, cuando los híbridos tienen baja eficacia biológica. La ausencia de flujo genético hace posible que las dos poblaciones se diferencien genéticamente como consecuencia de la adaptación y de la deriva genética.

El patrón más común de especiación se conoce como especiación geográfica o especiación alopátrica. La primera etapa se inicia como resultado de la separación geográfica de poblaciones, si la separación continúa durante algún tiempo, aparecerán mecanismos de aislamiento reproductivo postcigóticos, como resultado de la divergencia genética entre las dos poblaciones. La segunda etapa comienza cuando se presenta la oportunidad para el cruzamiento debido a un cese del aislamiento geográfico. Si la eficacia de los híbridos es suficientemente reducida, la selección natural promoverá el desarrollo de mecanismos de aislamiento reproductivo precigóticos y las dos poblaciones pueden evolucionar hasta convertirse en especies diferentes (Curtis & Barnes, 2000).

4. MATERIALES Y METODOS

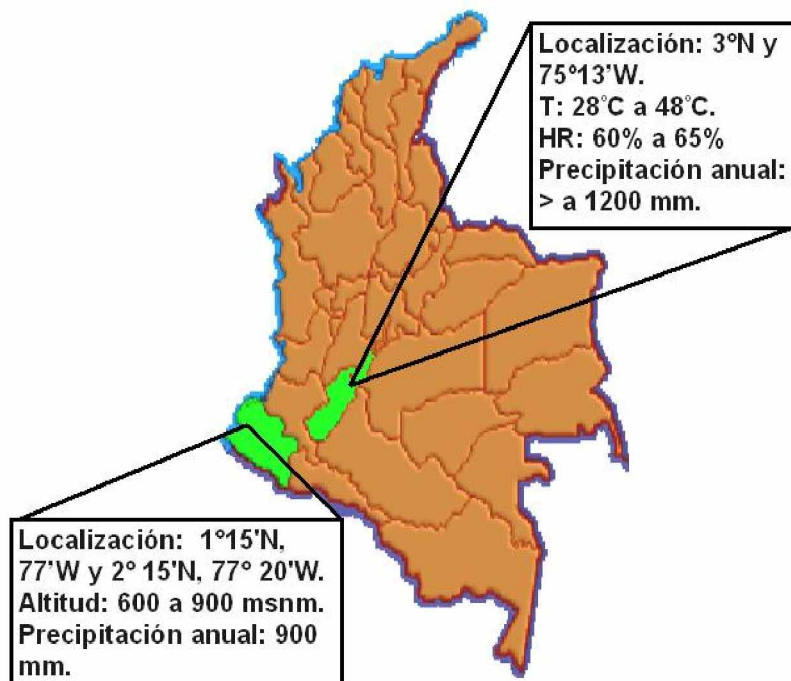
En este trabajo se sostuvo como hipótesis nula que las poblaciones de *Drosophila* (del grupo *repleta*) provenientes de las localidades Valle del Patía – Nariño y Desierto de la Tatacoa – Huíla son completamente interfértiles, no exhiben diferencias significativas en su genitalia y no presentan aislamiento reproductivo. Como hipótesis alterna se planteó que las poblaciones mencionadas exhiben algún grado de aislamiento reproductivo pre o postcigótico como resultado de procesos evolutivos independientes.

Las anteriores hipótesis se pusieron a prueba mediante la siguiente metodología:

4.1. UBICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DE LA ZONA DE MUESTREO

Como se observa en la Figura 8, se trabajó en dos sitios de muestreo, el Desierto de la Tatacoa, en el departamento del Huíla y el Valle del Patía, en el departamento de Nariño, zonas aisladas geográficamente caracterizadas por sus condiciones subxerofíticas y vegetación cactácea que hace posible la existencia de especies del genero *Drosophila* del grupo *repleta*.

Figura 8. Mapa de sitios de muestreo de *Drosophila* (Grupo *repleta*) (Nariño y Huíla)



4.1.1. Desierto de la Tatacoa. se encuentra ubicado en el Municipio de Villavieja, hacia el noroeste de la cabecera municipal, a los 3° de latitud norte y 75°13' de longitud oeste, en el departamento del Huila a 38km de Neiva.

La temperatura oscila entre los 28°C en las horas de la mañana hasta 48°C a medio día. La humedad relativa del aire es del 60% al 65%, con una precipitación anual que sobre pasa los 1200 mm (Ibarra, 2000).

Presenta una extensión de 330km² dentro de los cuales se encuentra la población de colecta en el área denominada Rosalía a 1Km del sitio conocido como "El Cusco". Como vegetación predominante se encuentran las cactáceas, algunos de los cuales alcanzan cuatro y hasta cinco metros de altura, destacándose las especies *Lemairucereus griseus* (Cardón), *Opuntia wentiana* (Tuna), *Acanthocereus sp* (cabeza de negro), *Melocactus sp* (pitahaya)

4.1.2. Valle del Patía (Nariño). Es una zona seca rodeada por bosques de niebla de la cordillera Central y del Oeste, atravesado por el río Patía, proveniente del macizo Central hacia el oeste y rompe la cordillera del Oeste desembocando en el océano Pacífico. Este valle está localizado entre 1°15'N, 77°W y 2° 15'N, 77° 20'W. Tiene una altitud promedio entre 600 y 900 msnm. Su clima es altamente estacional, presentando las mayores precipitaciones entre los meses de abril, junio, octubre y noviembre. La precipitación promedio anual es de 900 mm. Los terrenos son de origen sedimentario y cenizas volcánicas.

El Patía es el principal río que lo irriga pero también recibe las aguas del Quilcacé, Guachicono, Mayo, Juanambú, Pasto y Guaitara. La vegetación original ha sido desplazada por actividades humanas de agricultura ganadería, junto con las constantes quemadas inducidas. Hoy, la vegetación predominante, además de cactáceas como *Pilosocereus colombianus* y *Opuntia sp*, es representada por *Crescentia cujete*, *Guazuma ulmifolia*, *Cassia fistula*, *Bursera graveolens*, *Spondias mombin*, *Bauhinia picta*, *Ceiba pentandra* y *Gliricidia sepium* (Constantino, 2006).

4.2. TRABAJO DE CAMPO

4.2.1. Captura de las moscas. Se realizaron dos colectas en el Desierto de la Tatacoa y 7 en el Valle del Patía (tabla 2). Para atraer y coleccionar las moscas se montaron trampas usando como cebo fruta en descomposición (bananos muy maduros, cáscaras de piña y naranja) ubicadas sobre plásticos (para evitar la pérdida de lixiviado), en lugares con alta densidad de cactus.

La recolección se realizó en la mañana a partir de las 5:00 am hasta las 7:00 am y en la tarde desde las 17:00 hasta las 18:30 horas; teniendo en cuenta que las moscas muestran mayor actividad y afluencia en las horas frescas del día. Las moscas capturadas se transportaron en frascos de vidrio con tapón de gasa y

medio de cultivo modificado del de Sans de la Rosa *et al*, 1988 (Tabla 3) al Laboratorio de Entomología de la Universidad de Nariño.

Tabla 2. Muestreos realizados en las Zonas de Estudio.

Zona de muestreo	Fecha	Ubicación
Desierto de la Tatacoa	12 - 13/ Julio /2006	Rosalía 3° 14' 13.8 " N 75° 9' 52.9" W Altura: 560msnm
	13/ Julio /2006	Hoyos 3°13'57"N, 75°7'44"W Altura: 523msnm
Valle del Patía	19 - 20/ Agosto /2006	Remolino 1 1°39'19,3"N 77°20'53,1"W Altura: 735msnm
	10 -11/ Septiembre /2006	
	7 - 8 / Octubre /2006	
	12 - 13 / Mayo /2007	Remolino 2 1°39'17,1"N 77°20'47,3"W Altura: 732msnm
	15 - 16 /Agosto /2007	
	16 - 17 / Febrero /2008	
	13-14/ Septiembre /2008	

Tabla 3. Medio de cultivo de especies de *Drosophila* grupo *repleta* (modificado de Sans de la Rosa *et al*, 1988).

ITEM / 1000ml	Modificado
Harina de trigo	35g
Harina de maíz	35g
Miel	150ml
Azúcar	0g
Levadura	30g
Ácido Propiónico	3.5ml
Agar	10g
Cactus	40g

4.2.2. Selección y establecimiento del material biológico (cepario). En laboratorio, después de narcotizar las moscas colectadas con éter, se realizó el sexado y separación de los individuos, los cuales se trasvasaron a frascos de vidrio con medio de cultivo nuevo.

Los individuos colectados, se identificaron y sexaron según las características morfológicas descritas por Gil en De Polanco (1997) y Wasserman (1982 b). Para distinguir los machos de las hembras se utilizaron características como el tamaño mayor de las hembras, el abdomen que termina en punta y que las bandas oscuras que presenta en todo el abdomen están mucho más separadas que en los machos (Mejía, 2008) estos además presentan claspers.

4.3. TRABAJO DE LABORATORIO.

El cepario se mantuvo en el laboratorio de Entomología de la Universidad de Nariño, a 25°C en medio de cultivo específico para el grupo *repleta*, modificado del de Sans de la Rosa *et al.* (1988) que se presenta en la Tabla 2.

Para tener la certeza de que los individuos son de la especie correspondiente, se trabajó con los descendientes de la tercera generación en adelante.

En todos los cruces realizados de acuerdo a los siguientes protocolos se utilizaron hembras vírgenes estableciendo 10 parejas por frasco y 5 replicas de cada tipo de cruce, aunque en algunos casos se realizaron mas replicas para remplazar los frascos en caso de contaminación.

4.3.1 Cruce intrapoblacional. Se realizó con el fin de establecer un estándar reproductivo de cada población para lo cual se cruzó individuos machos y hembras vírgenes pertenecientes a cada población y se contó el número de descendientes adultos diferenciando sexos. Esto se constituye en los cruces control.

4.3.2. Cruce interpoblacional. Mediante esta cruce se determinó la posible existencia de aislamiento reproductivo entre las poblacionales del Valle del Patía (Nariño) y el Desierto de la Tatacoa (Huíla). Para esto se cruzó:

1. Hembras vírgenes de *Drosophila* (grupo *repleta*) del Desierto de la Tatacoa (Huíla) y machos colectados en el Valle del Patía (Nariño).
2. Hembras vírgenes de *Drosophila* (grupo *repleta*) del valle del Patía y Machos del Desierto de la Tatacoa (Huíla).

Se comparó el número de individuos estandarizado para cada población (controles) con los obtenidos mediante cruce interpoblacional para establecer el grado de aislamiento reproductivo entre las dos poblaciones y con el fin de establecer la fertilidad de los híbridos, se realizó un cruce de Machos y hembras obtenidos en la cruce interpoblacional entre sí.

4.3.3. Retrocruza. En los casos en que se obtuvo descendencia fértil en los anteriores cruces, se realizó la retrocruza con el fin de catalogar en que punto se encuentra el proceso de especiación de la siguiente manera:

Hembras vírgenes de la población del Valle del Patía (Nariño) con machos obtenidos en la F1 del cruce interpoblacional.

Machos de la población del Valle del Patía (Nariño) con hembras vírgenes obtenidas en la F1 del cruce interpoblacional.

Hembras silvestres de la población del Desierto de la Tatacoa (Huila) con machos obtenidos en la F1 del cruce interpoblacional.

Machos de la población del Desierto de la Tatacoa (Huila) con hembras obtenidos en la F1 del cruce interpoblacional.

De cada uno de los cruces se realizó el conteo de los individuos fértiles tanto machos como hembras. Para determinar la fertilidad de la descendencia híbrida se obtuvo nuevamente progenie resultado de su entrecruzamiento.

En la siguiente tabla se resume el número de cruces realizados con las especies encontradas en las zonas de muestreo.

Tabla 4. Diseño de Cruces Realizados y número de replicas evaluadas de cada tipo.

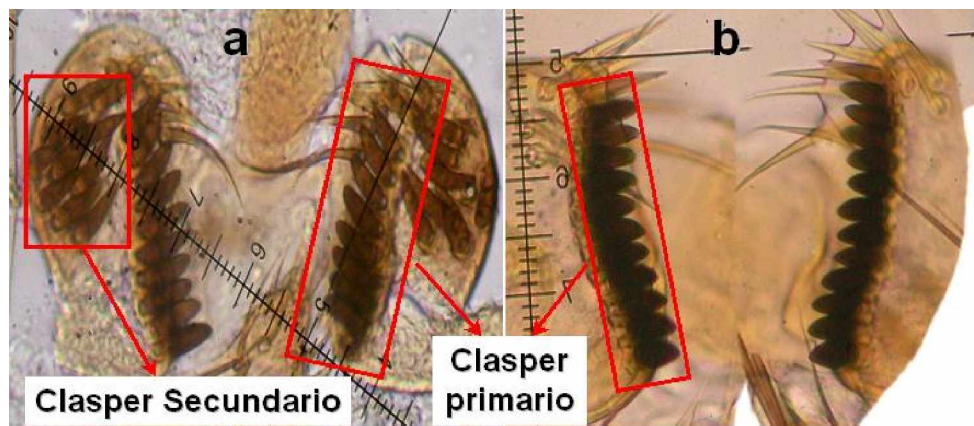
♀ \ ♂	<i>D. mercatorum</i> (Tatacoa)	<i>D. mercatorum</i> (Patía)	<i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)	<i>D. sp</i> (Patía)	A1	A2	B1	B2
<i>D. mercatorum</i> (Tatacoa)	5 Control	5 A2			3	3		
<i>D. mercatorum</i> (Patía)	5 A1	5 Control			3	3		
<i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)			5 Control	15 B2			*	*
<i>D. sp</i> (Patía)			9 B1	5 Control			*	*
A1	3	3			3			
A2	3	3				3		
B1			*	*			*	
B2			*	*				*

Azul = cruce intrapoblacional à Control Verde = Cruce de Híbridos interpoblacionales entre sí. Amarillo = Cruce de Híbridos con su población original. Gris = Cruce interpoblacional
 * = Cruces no realizados por ausencia de descendencia en el cruce interpoblacional.

4.3.4. Obtención de Genitalia. Para la preparación de placas de genitalia, se utilizaron 60 machos adultos de tres días de nacidos de cada población, se dejaron en inmersión en KOH 1N durante 6 días, y posteriormente, se guardaron en frascos con alcohol, de acuerdo a las modificaciones realizadas por Prieto, R. *et al* (2005), al método de Brower (Prieto, 2006). Para la obtención de datos del número de cerdas en los claspers (Figura 9), se realizó un conteo de cada una de estas cerdas en los broches de la genitalia previamente tratada con KOH y se tomaron fotografías digitales con cámara Kodak 603, de 6,1 MP en microscopio de luz, Carl Zeiss, con un aumento de 400X. Posteriormente se ejecutó la disección del abdomen directamente en una gota del KOH para la obtención de la genitalia interna.

El *aedeagus* (estructura quitinosa) se limpió en un estereoscopio con ayuda de agujas de disección delgadas e inmediatamente, se llevaron al microscopio y se fotografiaron con cámara digital, en objetivo de 40X, aproximadamente 50 *aedeagus* de cada población de donde se escogieron las 28 mejores fotografías de acuerdo al estado de la estructura y su posición (Prieto, 2006).

Figura 9. Claspers primarios y Secundarios de a) *Drosophila sp* (Patía) b) *D. mercatorum* (Patía).



En la Figura 10 se muestran los programas utilizados para obtener y procesar los datos para el análisis morfométrico de genitalia interna (*aedeagus*):

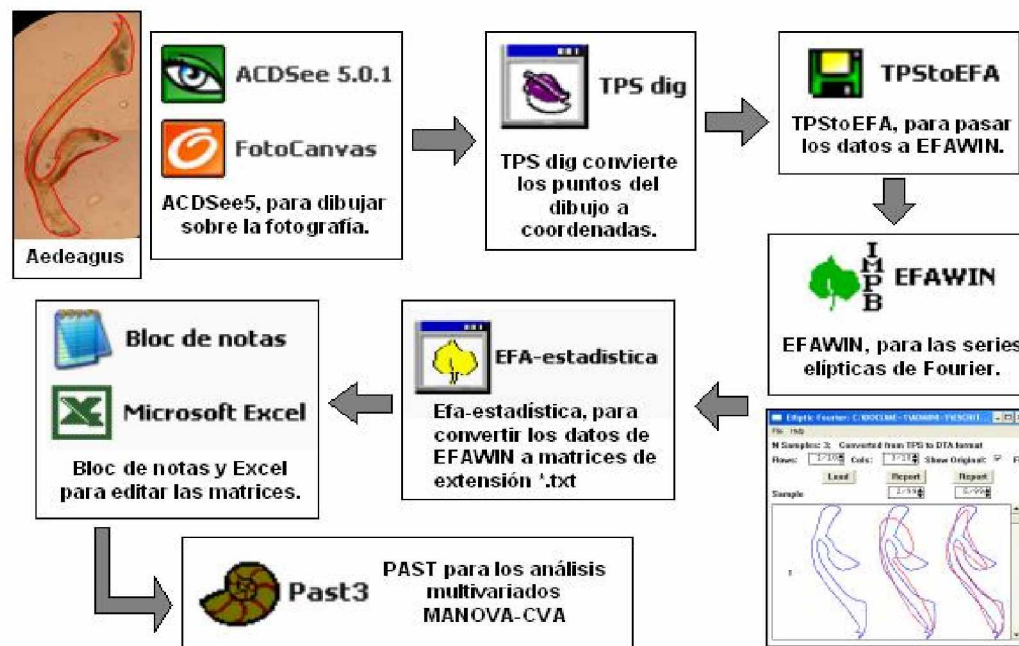
4.3.5. Análisis elíptico de Fourier. Los descriptores elípticos de Fourier trabajan sobre las múltiples deformaciones que puede sufrir una elipse. Constituyen una manera matemática de reducir formas complejas de un carácter en sus componentes de frecuencia espaciales. Los coeficientes de Fourier son obtenidos a partir de una representación paramétrica de las coordenadas X y Y (que describen la forma analizada) las cuales son observadas como función de la longitud del arco. Las formas analizadas a través de los coeficientes de Fourier son reconstruidas a partir de la siguiente fórmula (Fajardo, 2000):

$$(a) \quad X(s) = a_0 + \sum_{i=1}^n (a_i \cos (is) + b_i \sin (is))$$

$$(b) \quad Y(s) = c_0 + \sum_{i=1}^n (c_i \cos (is) + d_i \sin (is))$$

En donde (s) es la longitud del arco estandarizado para el intervalo 2π ($0\pi - \pi 2$) y n es el número de armónicas, de esta manera cada forma o estructura es representada por un vector de 4n componentes de coeficientes ($a_1, \dots, a_n, b_1, \dots, b_n, c_1, \dots, c_n, d_1, \dots, d_n$) (Liu, *et al*, 1996). Para computar los coeficientes de Fourier a partir de pares de coordenadas (X, Y) se utiliza el algoritmo de Kuhl y Giardina (1982) el cual no exige uniformidad de las distancias entre los puntos que configuran la forma de la estructura que se va analizar (Prieto, 2006).

Figura 10. Procedimiento y programas utilizados para la obtención de datos para el análisis morfométrico de genitalia interna.



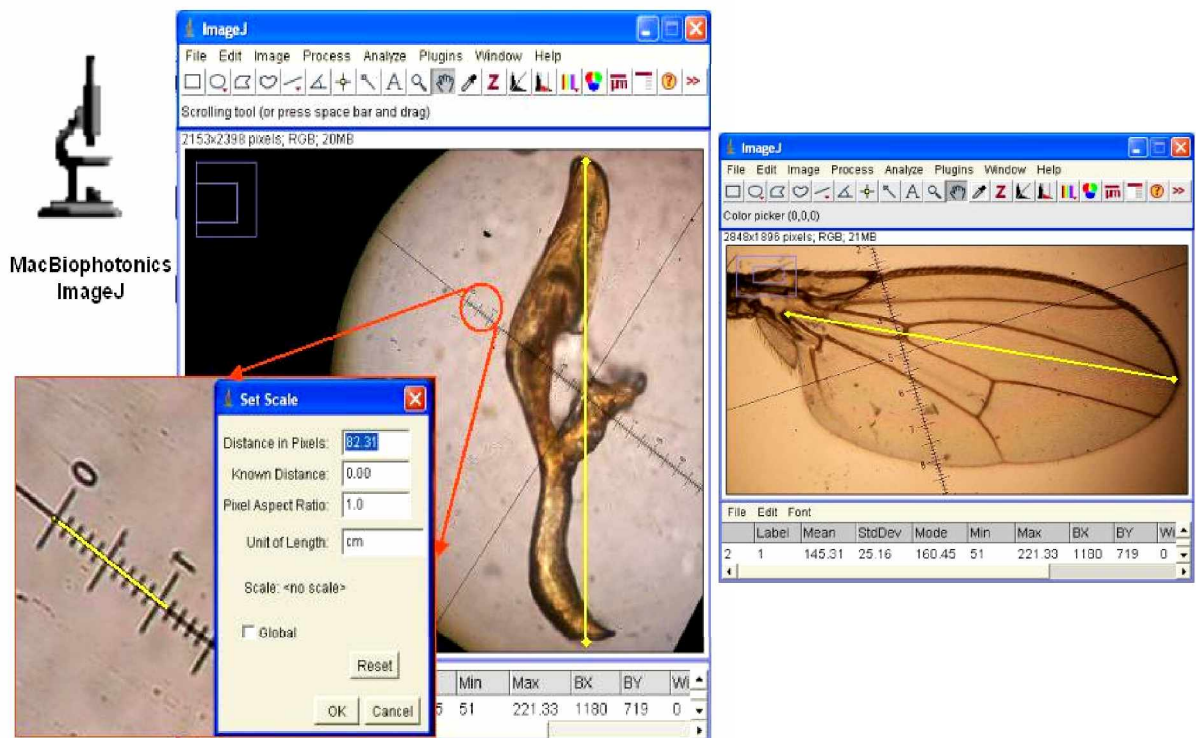
4.3.6. Metodologías adicionales. Se realizó análisis morfométrico de la mancha de *Drosophila mercatorum* de las dos poblaciones, *D. aldrichi* de Tatacoa y *D. sp* de Patía. Para esto se utilizó la misma metodología propuesta para la morfometría de aedeagus usando las fotografías de manchas de 20 hembras y 20 machos de cada población a fin de establecer diferencias en este carácter entre sexos y poblaciones.

Adicional a la morfometría geométrica, se determino el tamaño del aedeagus y del ala por medio de morfometría tradicional midiendo, de extremo a extremo el aedeagus, y para las alas desde la base hasta el ápice de la vena M en el programa MacBiophotonics ImageJ versión 1.39o de 2008 que permite dar la escala de medida a partir de la regla micrométrica del microscopio (Figura 11) la distancia del micrómetro se calculó mediante la formula:

$$k' = \frac{99}{100} \times 10\mu\text{m} = 9,9\mu\text{m}$$

Donde el número 99 corresponde a las subdividíosles de la escala del micrómetro de 10 μm cada una,

Figura 11. Medición del tamaño de la genitalia interna y las alas mediante morfometría tradicional.



4.4. ANÁLISIS DE AGRUPAMIENTO

Para contribuir al esclarecimiento del cuadro evolutivo de las especies y poblaciones en estudio se realizó un agrupamiento utilizando el método UPGMA con el programa NTSYSpc 2.0. a partir de las matrices de datos obtenidas en el análisis elíptico de Fourier de la genitalia interna de los machos.

4.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

4.5.1. Cruces inter e intrapoblacionales y retrocruza. Se realizó contraste de Kruskal Wallis usando el software StatGraphics 5.0, para establecer la existencia de diferencias estadísticamente significativa entre la progenie obtenida mediante cruces intrapoblacionales (estandarizada mediante promedio de las 5 repeticiones evaluadas) y la obtenida en los cruces íterpoblacionales y retrocruzas (tabla 4).

Para establecer entre que tipos de cruces se presentaban diferencias en el número de descendientes se realizó el Contraste Múltiple de Rangos (método de Duncan para 95% de confianza) usando el software StatGraphics 5.0.

4.5.2. Genitalia externa (Claspers). En el análisis de la genitalia externa (claspers) se usaron conteos de las cerdas en el clasper primario y secundario de 20 machos de cada población.

Los datos interespecíficos de clasper primario se procesaron con el software Statgraphics 5.0 para realizar Contraste de Kruskal-Wallis y para verificar los pares de especies entre los cuales había diferencia significativa se realizó el Contraste Múltiple de Rango (HSD de Tukey)

En los análisis interpoblacionales por ser pareados y no mostrar homogeneidad de varianza, se uso la Prueba U de Mann Whitney para comparar el número de cerdas del clasper primario de *D. mercatorum* y primario y secundario de *D. aldrichi*, usando el software Past 1.38. copyright Hammer y Harper 2005.

4.5.3. Morfometría de genitalia interna (aedeagus). Para el análisis morfométrico de la genitalia interna se utilizaron 28 machos adultos, este tamaño de muestra se designó, teniendo en cuenta que para obtener las elípticas de Fourier en el programa EFAWin se usaron 5 armónicas lo cual genera 16 variables (4 variables por cada armónica = 20 variables menos las 4 primeras que se eliminan por ser de baja significancia o las que representan la forma con menor exactitud) y por tanto, el número de individuos utilizados como muestra debe ser superior al número de variables generadas para darle validez estadística.

En el análisis estadístico para el método "Outline" las matrices obtenidas a través de los coeficientes de Fourier, se desarrollaron utilizando MANOVA-CVA en el programa Past 1.38 copyright Hammer y Harper 2005. Este Análisis canónico variado discriminante permitió observar las relaciones de similitud o diferencia entre los grupos basado en una técnica de ordenamiento que produce una distribución (scatter plot) de los especímenes a lo largo de los primeros ejes canónicos, magnificando la separación entre todos los grupos (análisis discriminante multigrupos), donde los ejes del "scatter plot", son combinaciones lineales de las variables que tienen como objetivo la estructuración de un conjunto de datos (multivariado), mediante la reducción del número de variables.

Para establecer la existencia de diferencias en el tamaño de la genitalia interna se utilizaron las medidas de 20 aedeagus fotografiados de manera estándar en aumento de 400X de cada especie o población y se realizó Contraste de Kruskal-Wallis usando el software StatGraphics 5.0. Para verificar entre que grupos de especies o poblaciones se observaban diferencias significativas se uso el Contraste Múltiple de Rango (HSD de Tukey).

Las comparaciones interpoblacionales (pareados) del tamaño del aedeagus se realizaron mediante la prueba U de Mann Withney realizada en el programa Past 1.38. copyright Hammer y Harper 2005.

4.6. AGRUPAMIENTO.

Para el agrupamiento de las especies y poblaciones en estudio se uso el método UPGMA con el programa NTSYSpc 2.0. a partir de los promedios de los coeficientes obtenidos en el análisis elíptico de Fourier de la genitalia interna de los machos y se obtuvo el coeficiente de correlación cofenética (r) de Sokal y Rohlf, (1994).

5. RESULTADOS Y ANÁLISIS

5.1. IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES COLECTADAS EN LAS ZONAS DE MUESTREO.

A partir de las colectas realizadas en los dos ecosistemas se identificaron 4 especies del grupo *repleta* para el Desierto de la Tatacoa (Huila): *Drosophila martensis*, *D. uniseta*, *D. mercatorum* y *D. aldrichi* y 2 especies para el Valle del Patía (Nariño), *D. mercatorum* y una especie que se identificó inicialmente como *D. aldrichi*, de acuerdo a su morfología externa, pero que de acuerdo al posterior análisis de la genitalia externa e interna, presenta diferencias notorias con esta especie, por lo tanto se denominó *Drosophila sp.* Las imágenes de clasper y aedeagus, utilizadas para la determinación de las especies, se encuentran en la Figura 12.

La especie denominada *Drosophila sp.* presenta coloración amarilla en los testículos a diferencia de *D. aldrichi* que los tiene rojizos. Se destaca que *Drosophila mercatorum* (Patterson & Wheeler, 1942) es reportada por primera vez para los dos ecosistemas y se describe una nueva especie del género *Drosophila* perteneciente al grupo *repleta* para Colombia colectada en el Valle del Patía.

5.2. DETERMINACIÓN DEL AISLAMIENTO REPRODUCTIVO POST-CIGOTICO

5.2.1. Análisis interpoblacional de *Drosophila mercatorum*

Después de realizar el cruzamiento de las poblaciones de *D. mercatorum* del Desierto de la Tatacoa y el Valle del Patía, se hizo el conteo de la descendencia diferenciando machos y hembras, y con estos datos, se realizó el contraste de Kruskal Wallis cuyo resultado se encuentra en el anexo A.

En el caso de las hembras (figura 13) se observó un promedio 415 adultos y no existe una diferencia significativa en el número de descendientes de acuerdo al tipo de cruce realizado (valor $P = 0,131157$), para los machos (figura 14) el número promedio fue de 405 y tampoco hay una diferencia significativa (valor $P = 0,140659$), esto indica que ninguna de las vías de fertilidad, ni masculina ni femenina ha sido afectada aun a pesar de la acumulación de variabilidad propia de cada población asociada con el aislamiento geográfico y las diferencias que pueden observarse en otras características como la forma de la genitalia interna y lo encontrado en análisis preliminares de la mancha abdominal.

Figura 12. Clasper y aedeagus de las especies colectadas en el Desierto de la Tatacoa – Huíla y el Valle del Patía – Nariño con su respectivo dibujo de la forma del aedeagus usada para el análisis morfométrico.

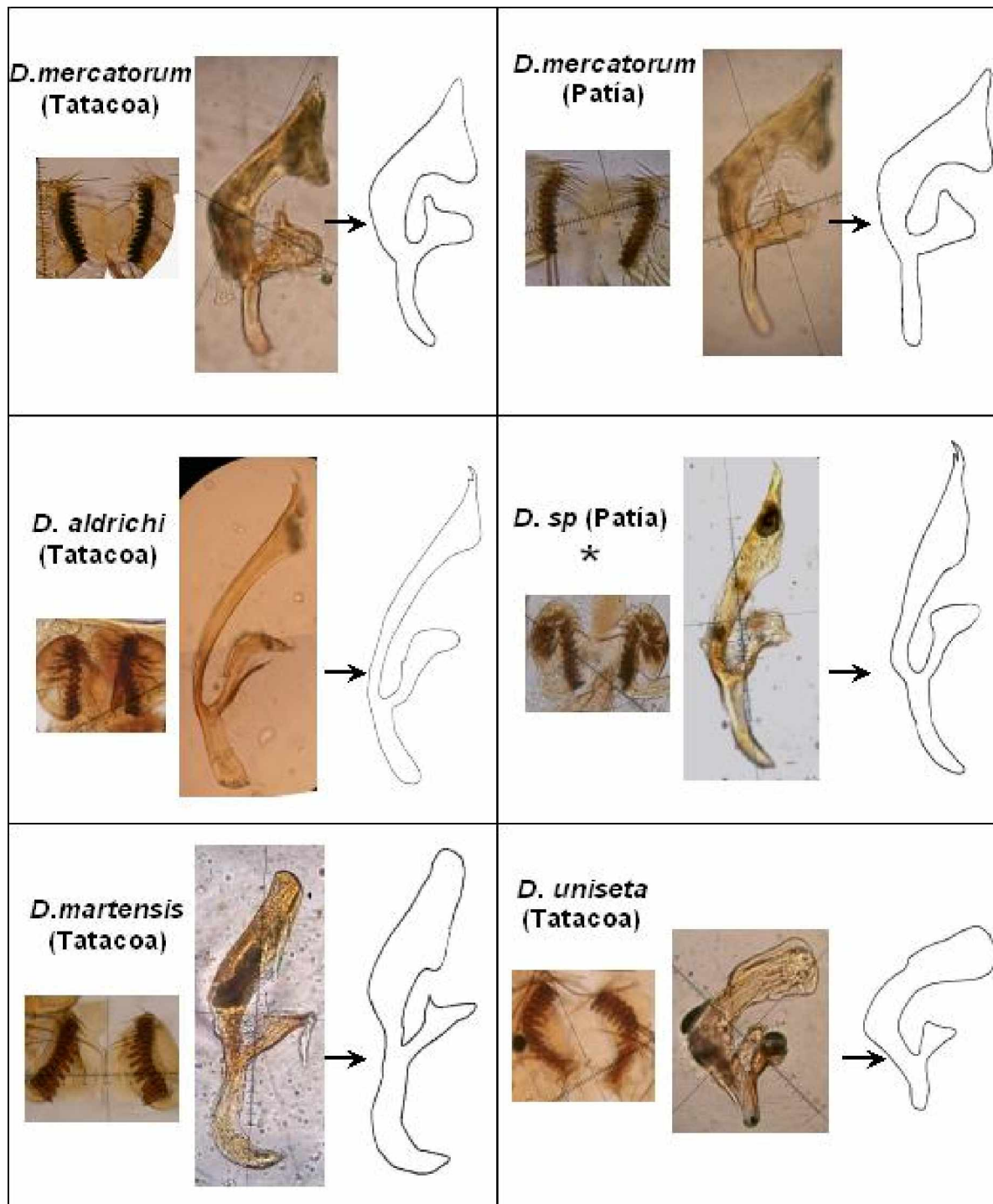
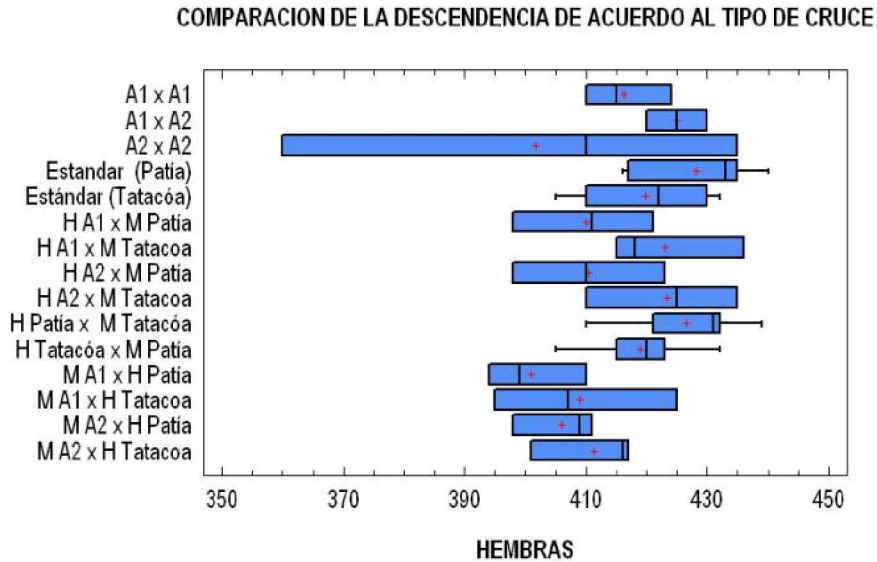
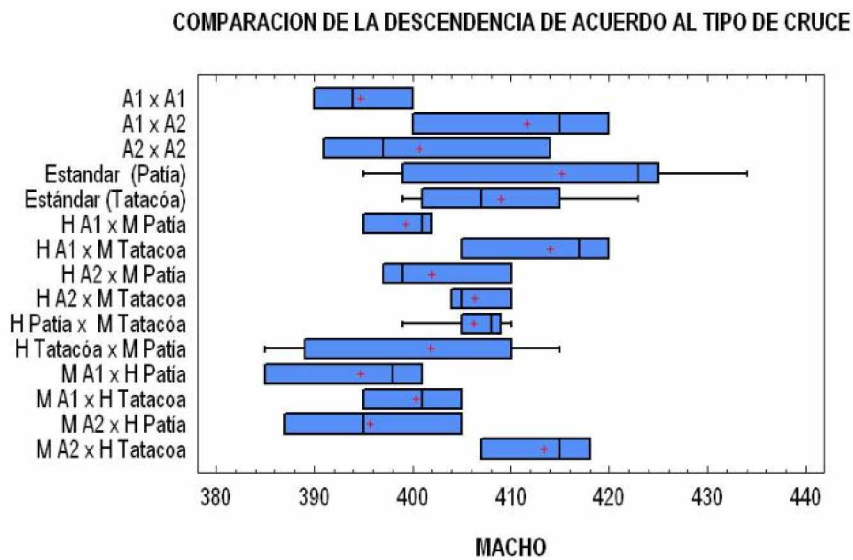


Figura 13. Comparación del número de Hembra obtenidas en los diferentes tipos de cruce realizados con *Drosophila mercatorum* del Desierto de la Tatacoa (Huíla) v el Valle del Patía (Nariño).



H = Hembras M = Machos A1 = Híbridos cruce: Hembras (Patía) x Machos (Tatacoa) A2 = Híbridos cruce: Hembras (Tatacoa) x Machos (Patía) ESTANDAR PATÍA = cruce de hembras y machos de Patía entre sí. ESTANDAR TATACOA = cruce de hembras y machos de Tatacoa entre sí.

Figura 14. Comparación del número de Machos obtenidos en los diferentes tipos de cruce realizados con *Drosophila mercatorum* del Desierto de la Tatacoa (Huíla) v el Valle del Patía (Nariño).



H = Hembras M = Machos A1 = Híbridos cruce: Hembras (Patía) x Machos (Tatacoa) A2 = Híbridos cruce: Hembras (Tatacoa) x Machos (Patía) ESTANDAR PATÍA = cruce de hembras y machos de Patía entre sí. ESTANDAR TATACOA = cruce de hembras y machos de Tatacoa entre sí.

En la tabla 5 se observa que existen diferencias significativas entre el número de hembras y machos descendientes de los cruces intrapoblacionales (estándar) respecto a las resultantes de los cruces entre híbridos, y entre los híbridos con sus parentales (retrocruzas). La disminución del número de híbridos descendientes probablemente se relaciona con la presión exogámica en las poblaciones, y puede ser evidencia del inicio del aislamiento reproductivo, que de mantenerse y acentuarse llevaría a un proceso de formación de subespecies o especies (Mayr, 1942, Hey, *et al.* 2005).

Tabla 5. Cruces comparados con diferencia estadísticamente significativa en la descendencia según sexo de acuerdo al contraste de múltiple de rangos (HSD de Tukey - α 0,05).

Descendencia Femenina	
Contraste	Diferencias
A2 x A2 - Estándar Patía	*-26,5333
Estándar Patía - M A1 x H Patía	*27,2
H Patía x M Tatacoa - M A1 x H Patía	*25,6
Descendencia Masculina	
Contraste	Diferencias
A1 x A1 - Estándar (Patía)	*-20,5333
A1 x A1 - H A1 x M Tatacoa	*-19,3333
A1 x A1 - M A2 x H Tatacoa	*-18,6667
Estándar (Patía) - M A1 x H Patía	*20,5333
Estándar (Patía) - M A2 x H Patía	*19,5333
H A1 x M Tatacoa - M A1 x H Patía	*19,3333
H A1 x M Tatacoa - M A2 x H Patía	*18,3333
M A1 x H Patía - M A2 x H Tatacoa	*-18,6667
* indica una diferencia significativa.	

Los resultados del análisis global muestran que ninguno de los cruces interpoblacionales en *D. mercatorum* manifiesta incapacidad reproductiva, es decir que independientemente de la procedencia del macho o de la hembra, se obtuvo descendencia similar en el número de individuos y sexo, sin embargo, en la comparación pareada, se encontró disminución en el número de descendientes principalmente en los cruces entre los híbridos interpoblacionales y parejas de sus poblaciones de origen, cuyos resultados son estadísticamente significativos y apoyan los datos reportados para otras especies del grupo *repleta*, es el caso de *D. starmeri* que presenta una reducción en el número de híbridos interpoblacionales provenientes de los cruces entre individuos de Santa Marta

(Magdalena) y Tatacoa (Rojas, 2000), así como diferencias a nivel precigótico que ocasionan disminución en los híbridos o probabilidades nulas de apareamientos entre individuos de Santa Marta (Magdalena), Camarones (Guajira), Tatacoa (Huila), Los Vados (Norte de Santander) y La Vega (Cundinamarca) (Betancourt, 2007).

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

5.2.2. Análisis de *Drosophila sp* (Patía) vs *D. aldrichi* (Tatacoa). Dada la similaridad en la morfología externa entre la especie *D. aldrichi* (Tatacoa) y la especie colectada en el Valle del Patía, se realizaron los ensayos de cruces a fin de conocer si entre estos dos grupos existía compatibilidad reproductiva o si se pueden catalogar como especies diferentes.

En el caso de *Drosophila aldrichi*, se realizó el cruce intrapoblacional o control, para los individuos de Tatacoa mediante 5 replicas evaluadas con un promedio de 390 hembras y 375 machos. Para lograr evaluar el estándar reproductivo de la población del Patía fue necesario realizar 15 replicas del cruce intrapoblacional porque se presentaba contaminación por hongos, a pesar de esto, solo se obtuvo un promedio de 115 hembras y 98 machos por frasco, en 5 frascos evaluados.

Se realizaron 9 replicas del cruce de hembras de *Drosophila sp* del Valle del Patía con machos de *D. aldrichi* de la Tatacoa, de los cuales se evaluaron 6 y 15 replicas del cruce reciproco, que se evaluaron en su totalidad, encontrando que en ninguno de los casos se observó descendencia ni siquiera en estadio larval. Este resultado indica que pueden existir alteraciones en la fertilidad lo cual se puede relacionar con diferencias en el cortejo, en las señales químicas de apareamiento, o incompatibilidad genital como se puede comprobar en las diferencias encontradas en la genitalia externa (clasper) e interna (aedeagus).

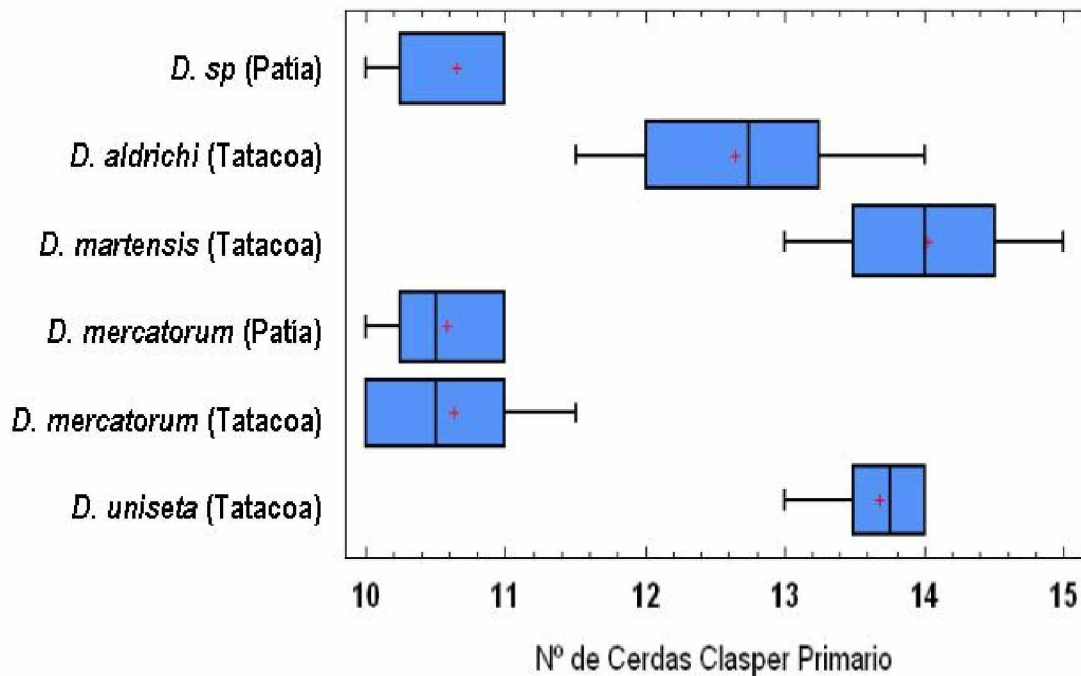
El hecho de no encontrar descendencia en ninguno de los cruces realizados evidencia que entre los grupos analizados hay un marcado aislamiento precigótico, producto de la divergencia entre estos y el permanente aislamiento geográfico que favorece la interrupción del flujo genético (Huxley, 1943). Con base en lo anterior y teniendo en cuenta que el aislamiento reproductivo es uno de los criterios de separación entre especies bajo el concepto biológico (Mayr, 1963), se propone para el resto del documento tomar a los individuos colectados en el Valle del Patía como una especie diferente a *D. aldrichi*, pero perteneciente, junto con esta, al subgrupo *mulleri* dado el sinmorfismo a nivel de las características externas entre los individuos de ambas zonas de muestreo.

5.3. GENITALIA EXTERNA (Claspers)

Se comprobó la normalidad en los datos del conteo de claspers mediante la prueba de Shapiro Wilk en el programa Past 1.8 cuyo resultado se encuentra en el anexo D y posteriormente se realizó la prueba de Kruskal Wallis como se muestra en el anexo E, para verificar diferencias significativas en las medianas muestrales.

Figura 15. Comparación del número de Cerdas del Clasper primario de todas las especies y poblaciones colectadas.

COMPARACION DEL NUMERO DE CLASPER EN LAS POBLACIONES COLECTADAS

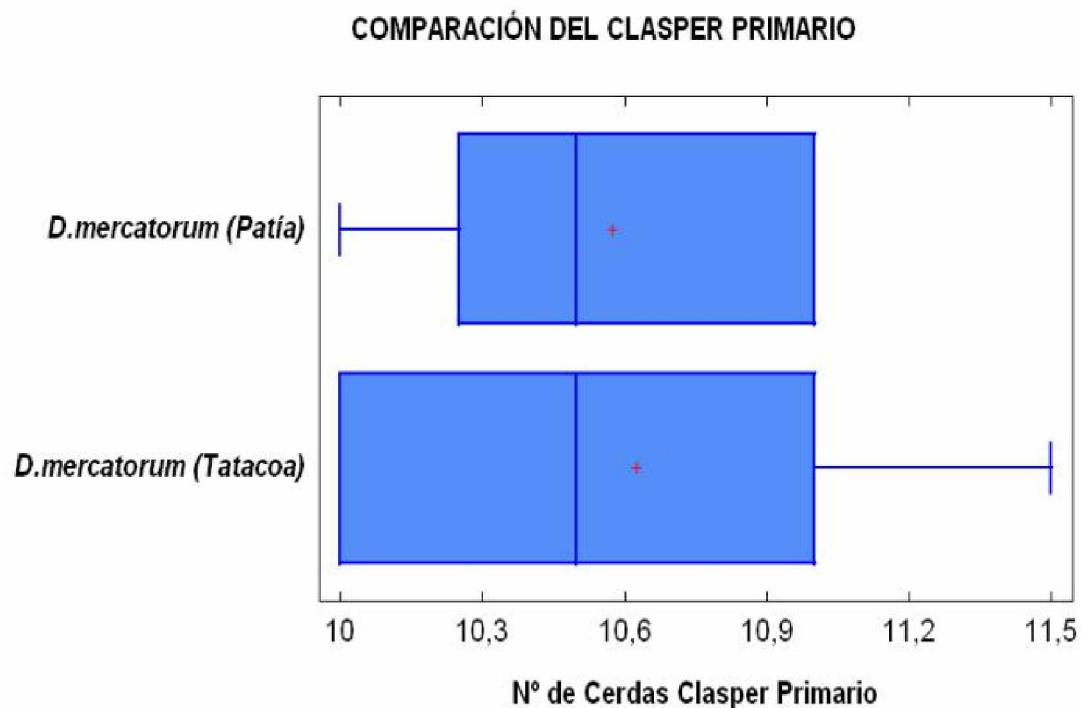


A nivel interespecífico, el número de cerdas en el clasper primario tiene diferencias significativas en las medianas de al menos uno de los grupos respecto a los demás (valor $P = 7,69E-19$). El contraste múltiple de rangos (HSD de Tukey) (anexo F) indica que la media del número de cerdas del clasper primario tiene diferencias significativas en todas las comparaciones, excepto en *Drosophila martensis* versus *D. Uniseta*, donde a pesar de la similitud en el número de cerdas, la forma del clasper es fácilmente diferenciable (Figura 12) y entre *Drosophila sp* de Patía y *D. mercatorum* de Tatacoa y Patía. En este último caso, se destaca que *Drosophila sp*, presenta clasper secundario además de clasper primario lo cual hace una mayor diferenciación en la forma y la especificidad de esta estructura para la sujeción y/o estimulación de la hembra de su especie en el momento de la copula.

La existencia de diferencias significativas en el número de cerdas en el clasper ratifica que esta es una característica que se constituye en una ayuda preliminar para separar los individuos machos a nivel de especies, sin embargo, es más certero el análisis teniendo en cuenta la presencia de clasper primario y secundario y la forma que toma este de acuerdo a la posición de las cerdas, ver Figuras 12 y 17.

Drosophila mercatorum

Figura 16. Comparación interpoblacional del número de Cerdas del Clasper primario de *Drosophila mercatorum*.



La prueba U de Mann-Whitney (anexo G) para el análisis interpoblacional de *Drosophila mercatorum* no mostró diferencias estadísticamente significativas (p -Valor = 0,7972) a nivel de conteo de cerdas en el clasper (figura 16) lo cual indica ausencia de variación y una compatibilidad completa para la sujeción y/o estimulación de la hembra de cualquiera de las poblaciones analizadas. En *D. mercatorum* de Tatacoa se encontró un rango más amplio, de entre 10 y 13 cerdas, lo cual indica la existencia de mayor variación intrapoblacional.

Drosophila aldrichi (Tatacoa) vs. *Drosophila sp* (Patía)

En la comparación de *Drosophila aldrichi* de Tatacoa con la especie *Drosophila sp.* colectada en el Patía (Figuras 18 y 19), se encontró diferencias altamente significativas en el número de cerdas del clasper primario y secundario lo cual también se evidencia en la forma (Figura 12 y 17), en el caso de los individuos colectados en Tatacoa se encontró además una alta variación intrapoblacional ya que el clasper primario varía entre 11 y 14 cerdas.

Figura 17. Morfología de los claspers primario y Secundario.

a) *D. aldrichi* (Tatacoa) y b) *D. sp* (Patía). 1= Clasper Primario 2 = Clasper Secundario.

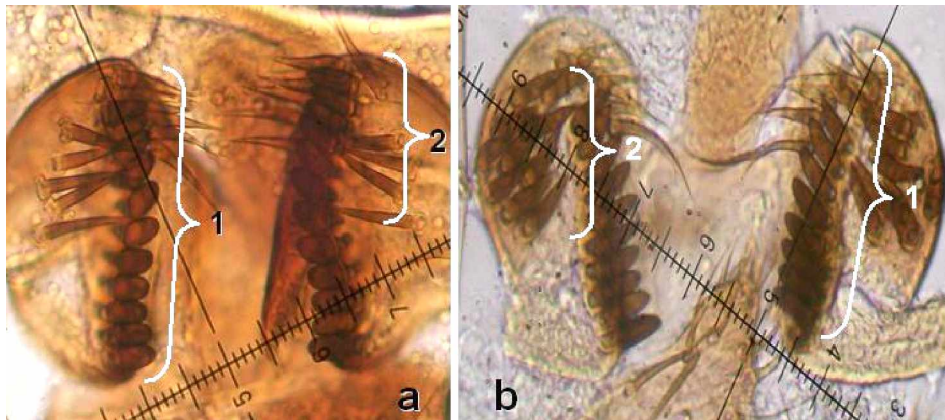
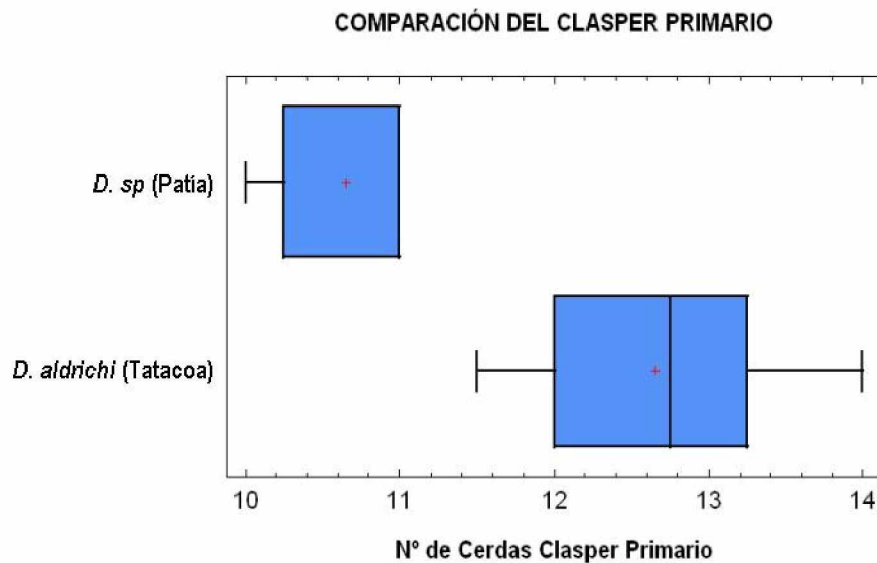
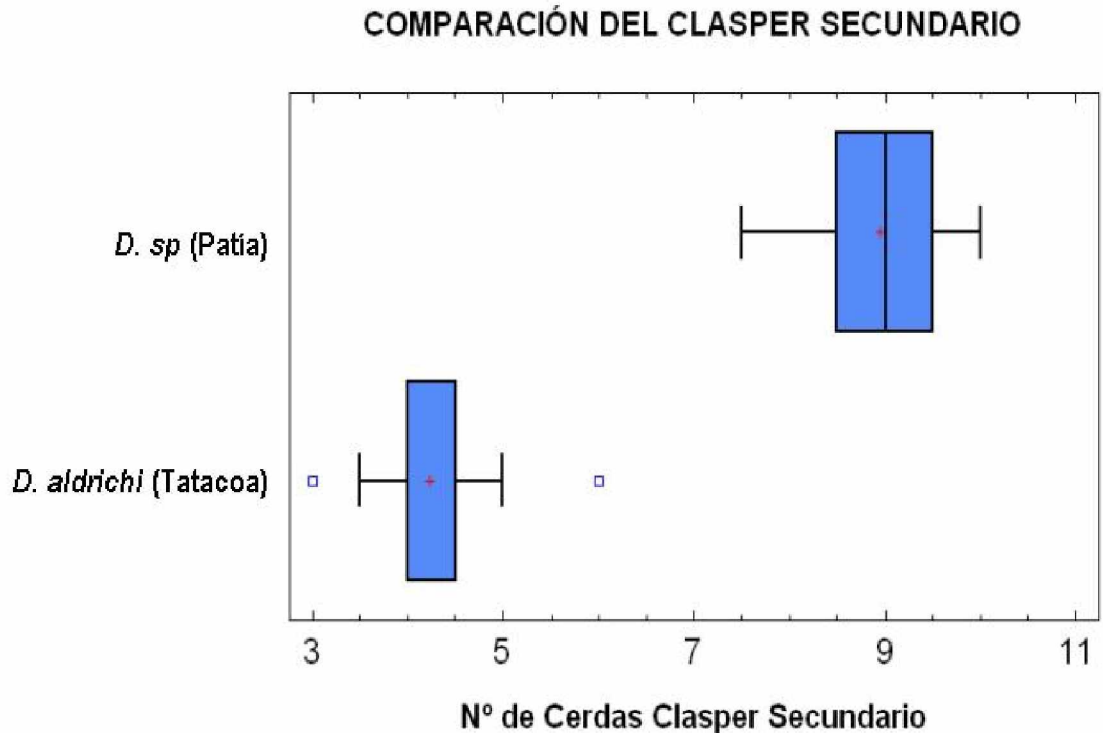


Figura 18. Comparación del número de Cerdas del Clasper primario de *Drosophila sp* del Valle del Patía vs *D. aldrichi* Desierto de la Tatacoa



La prueba U de Mann-Whitney con $p\text{-same} = 1,54E-07$ para el clasper primario y $p\text{-same} = 6,80E-08$ para clasper secundario (ver anexo H) comprueba que la diferenciación morfológica tiene además significancia estadística en lo referente al número de cerdas de ambos claspers.

Figura 19. Comparación del número de Cerdas del Clasper secundario de *Drosophila sp* del Patía y *Drosophila aldrichi* de la Tatacoa.



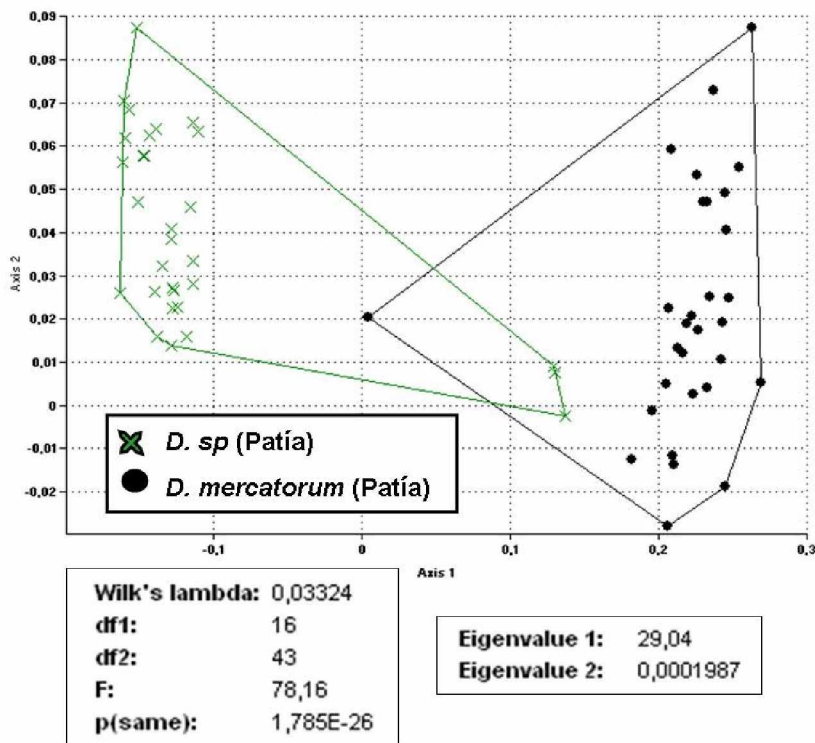
El clasper secundario de *Drosophila sp* (Patía) tuvo mayor variación intrapoblacional (de 7 a 11 cerdas), lo cual hace que sea más evidente y fácil de identificar que el de *D. aldrichi* de Tatacoa que solo varió entre 5 y 7 cerdas, siendo por tanto más pequeño, esta diferenciación hace que exista una posible disminución en la compatibilidad a nivel de genitalia externa entre las dos poblaciones que podría ocasionar dificultad en la sujeción y/o estimulación de la hembra al momento de copular y por ende afectar la fecundación, como se ha observado en trabajos realizados con *Enallagma damselflies* (Odonata: Coenagrionidae), donde existe un reconocimiento táctil de la hembra hacia el macho, a través del clasper, por estimulación mecánica de los apéndices superiores anales (Robertson & Paterson, 1982).

5.4. GENITALIA INTERNA (aedeagus)

En la figura 12, la forma del aedeagus de todas las especies del Desierto de la Tatacoa y el Valle del Patía presentan diferencias fácilmente observables, el análisis morfométrico respalda esta diferenciación visual dándole validez estadística debido a que transforma la imagen a coeficientes numéricos analizables cuantitativamente y de esta manera se elimina el sesgo generado por la subjetividad de la observación.

Drosophila mercatorum y *D. sp* del Valle del Patía (figura 20) presentan diferencias estadísticas según el índice de Shapiro Wilk (valor $P = 1,785E-26$), por lo tanto, las dos especies presentan formas particulares en su estructura genital interna, indicando que hay especificidad de esta estructura para la cópula con las hembras de su propia especie.

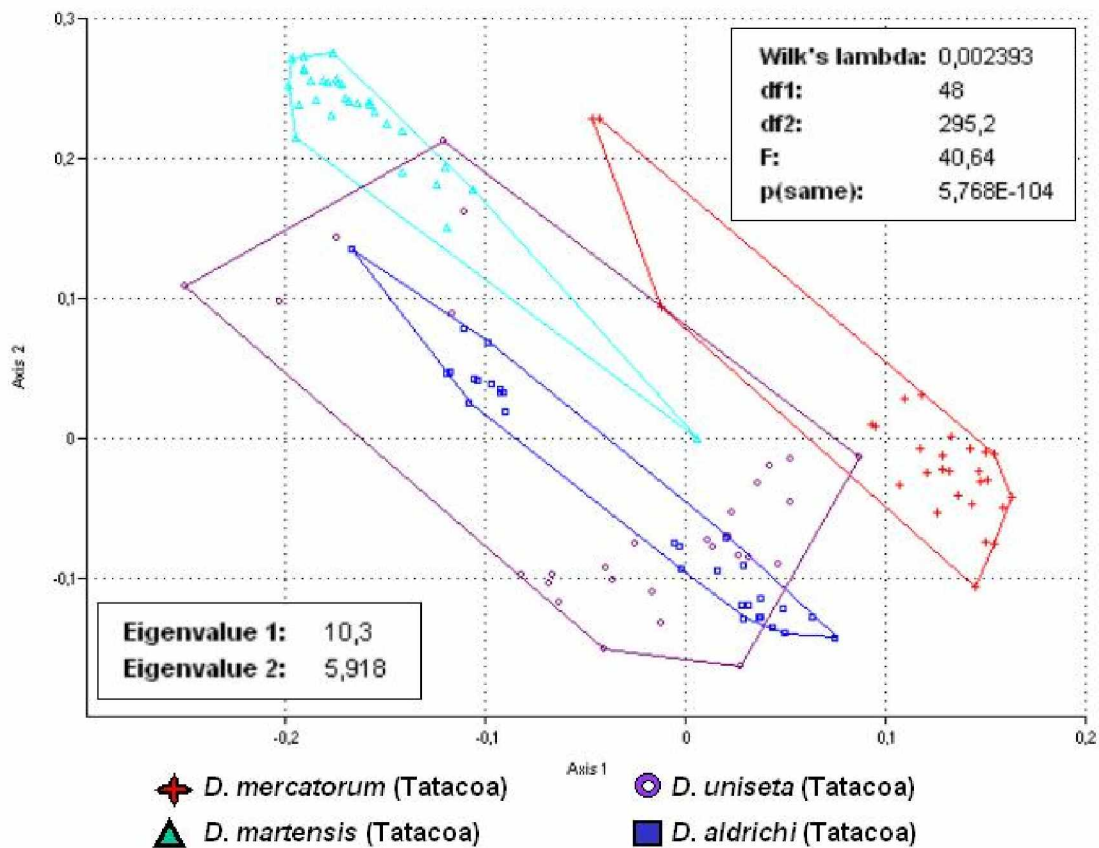
Figura 20. Análisis Morfométrico de la Genitalia Interna de las dos especies de *Drosophila* del grupo *repleta* colectadas en el Valle del Patía (Nariño).



Las cuatro especies de *Drosophila* colectadas en el Desierto de la Tatacoa (figura 21) presentan diferencias en la forma del aedeagus (valor $P = 5,76E-104$) indicando la existencia de aislamiento reproductivo por barreras mecánicas en estas especies simpátricas siendo una característica importante para descartar la posibilidad de cópula entre especies diferentes (Sota, *et al.* 1998).

Se observa una marcada diferenciación entre *Drosophila mercatorum*, *D. martensis* y *D. aldrichi* que se separan en 3 grupos, mientras que *Drosophila uniseta* se solapa en las dos ultimas, con lo que se interpretaría que comparte similitud con sus estructuras, sin embargo, al realizar un análisis pareado entre esta especie versus las demás, se observa la agrupación aislada y la existencia de diferencias estadísticamente significativas, dado que los individuos de *D. uniseta* poseen también una forma particular de aedeagus para la copula con hembras de su misma especie.

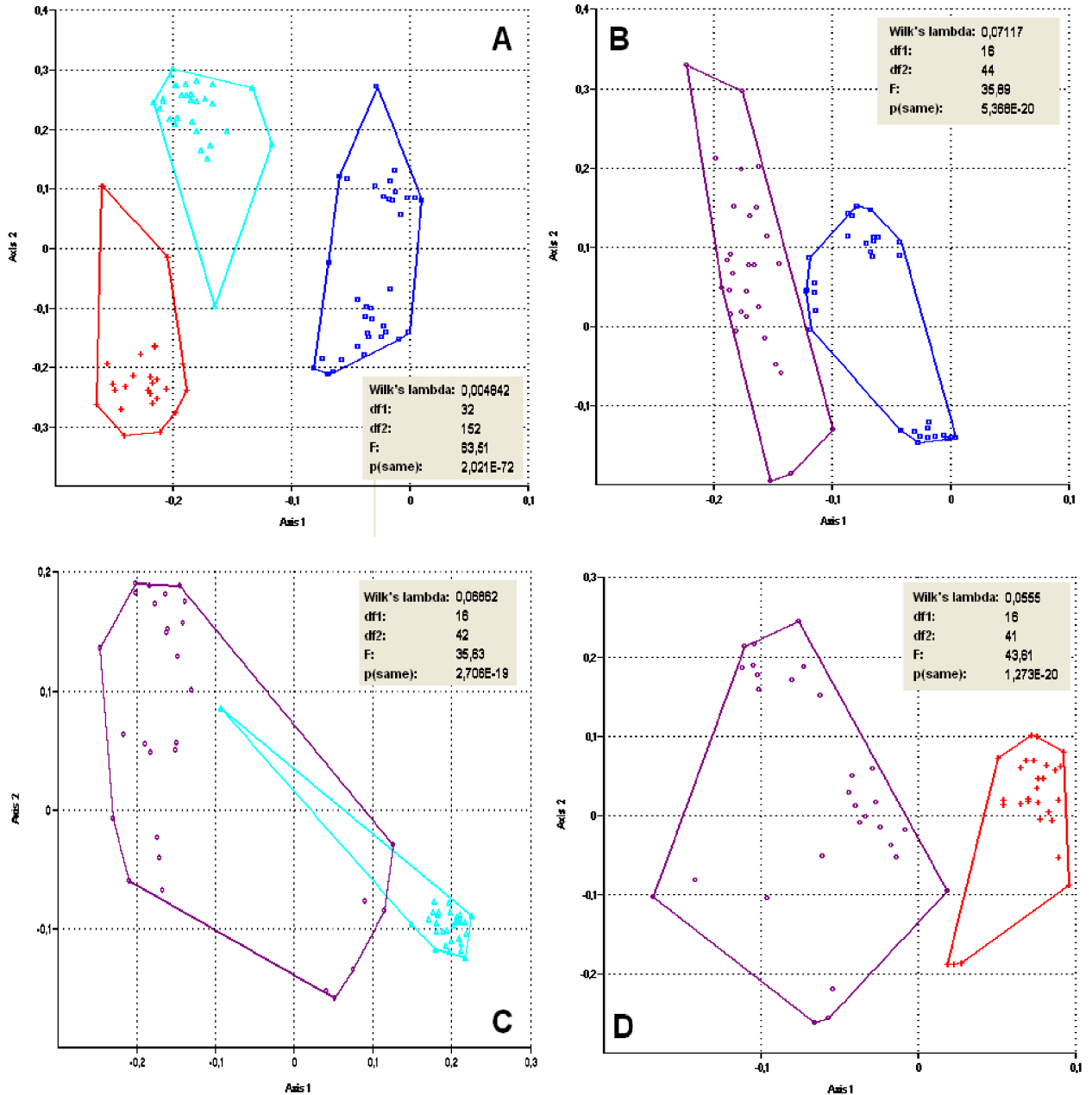
Figura 21. Análisis Morfométrico de la Genitalia Interna de las dos especies de *Drosophila* del grupo *repleta* colectadas en el Desierto de la Tatacoa (Huila).



En las Figura 21 y 22 se evidencia que *D. martensis* presenta poca variación a nivel intrapoblacional en la forma del aedeagus dada la agrupación de la mayor parte de sus individuos en un solo grupo homogéneo, contrario a lo observado en *D. mercatorum* que presenta un solo grupo de puntos pero más ampliamente distribuidos. *D. aldrichi* presenta una división en dos grupos discontinuos lo que indica posible polimorfismo.

Figura 22. Análisis Morfométrico de la Genitalia Interna de todas las especies de *Drosophila* (Grupo *repleta*) del Desierto de la Tatacoa – Huila.

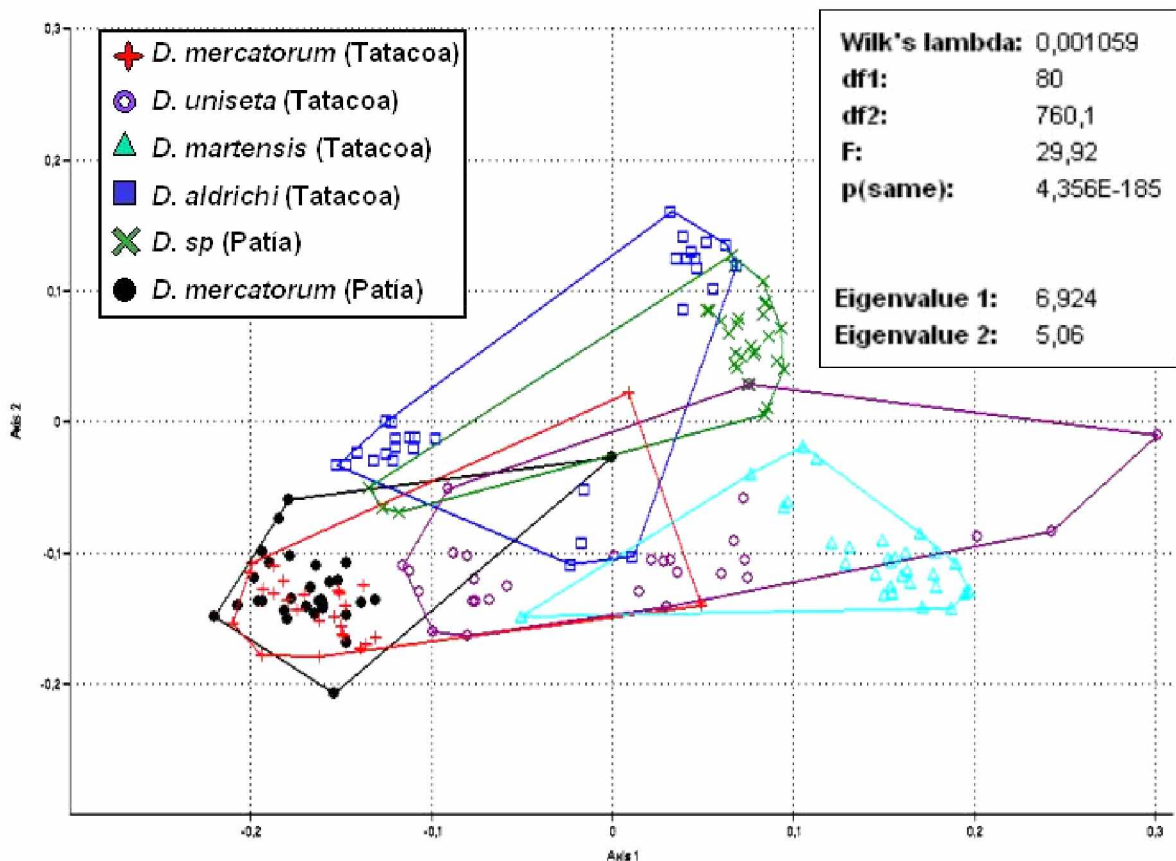
A) Comparación del aedeagus de *D. mercatorum*, *martensis* y *aldrichi*, B) *D. uniseta* vs. *D. aldrichi* C) *D. uniseta* vs. *D. martensis*. D) *D. uniseta* vs. *D. mercatorum*.



✚ *D. mercatorum* (Tatacoa) ○ *D. uniseta* (Tatacoa) ▲ *D. martensis* (Tatacoa) ■ *D. aldrichi* (Tatacoa)

En la figura 23 se encuentran las especies de Tatacoa y Patía, con un $p(\text{same})$ de $4,356E-185$, indicando diferencias significativas en la forma del aedeago, adicional a esta prueba, se realizó la medición del tamaño de esta estructura por medio de morfometría tradicional. En la figura 24 está la comparación de la longitud total del aedeagus de cada especie y población.

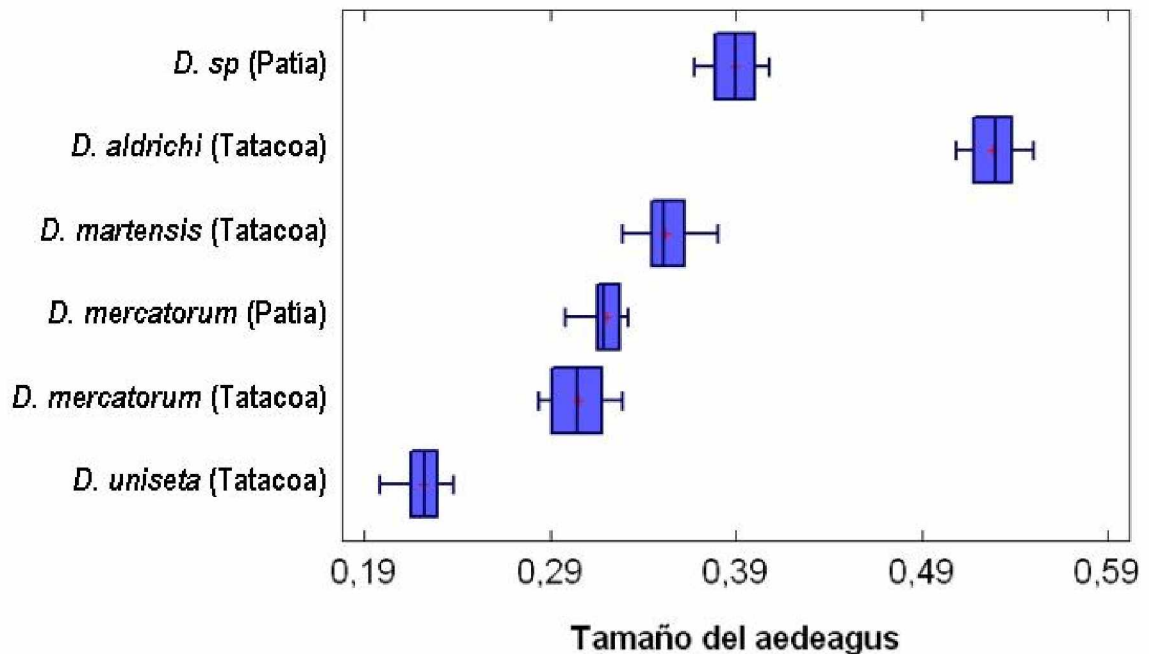
Figura 23. Análisis Morfométrico de la Genitalia Interna de las especies de *Drosophila* del grupo *repleta* colectadas en el Desierto de la Tatacoa (Huila) y el Valle del Patía (Nariño).



Se realizó la prueba de Shapiro-Wilk (anexo I) a fin de comprobar la normalidad de los datos y una prueba F para determinar la homogeneidad de varianza, dada la existencia de normalidad pero no de homogeneidad de varianza se aplicó la prueba de Kruskal Wallis (anexo J), para determinar la variación del tamaño según la especie y la prueba U de Mann-Whitney para los análisis pareados interpoplacionales (anexo L).

Figura 24. Comparación del tamaño en milímetros de la genitalia interna de las especies colectadas.

COMPARACIÓN DEL TAMAÑO DEL AEDEAGUS



En el contraste múltiple de rangos (anexo K) se observa diferencias entre todas las poblaciones, siendo mas altas en las comparaciones interespecíficas lo que indica que también existe diferenciación marcada en el tamaño del aedeagus además de su forma, siendo una barrera mecánica que evita copulas interespecíficas y producción de híbridos poco aptos (Huxley, J. 1943).

En la figura 25 se observa la agrupación de las dos poblaciones de *Drosophila mercatorum* demostrando la similitud morfológica del aedeagus de poblaciones de la misma especie, además, se observa la cercanía taxonómica de *Drosophila aldrichi* de Tatacoa con *Drosophila sp* del Valle del Patía, respaldando la similitud observada en otras características como la presencia de clasper secundario y color del cuerpo.

Figura 25. Análisis Morfométrico de la Genitalia Interna de *Drosophila mercatorum* y *D. aldrichi* de las poblaciones de estudio.

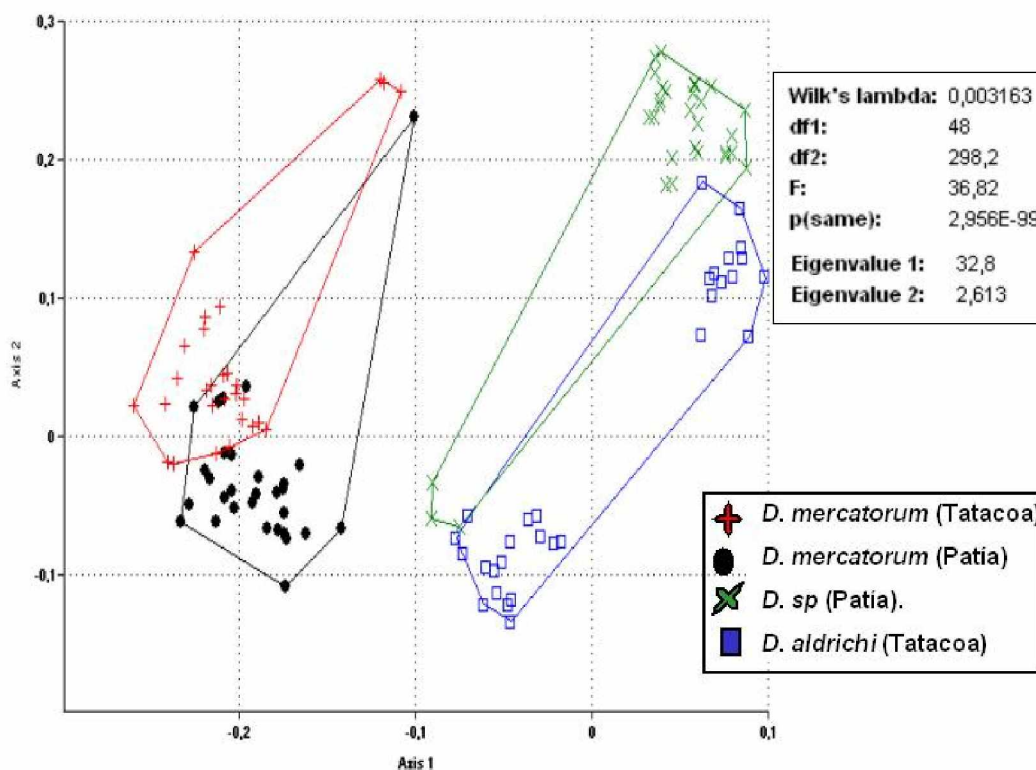


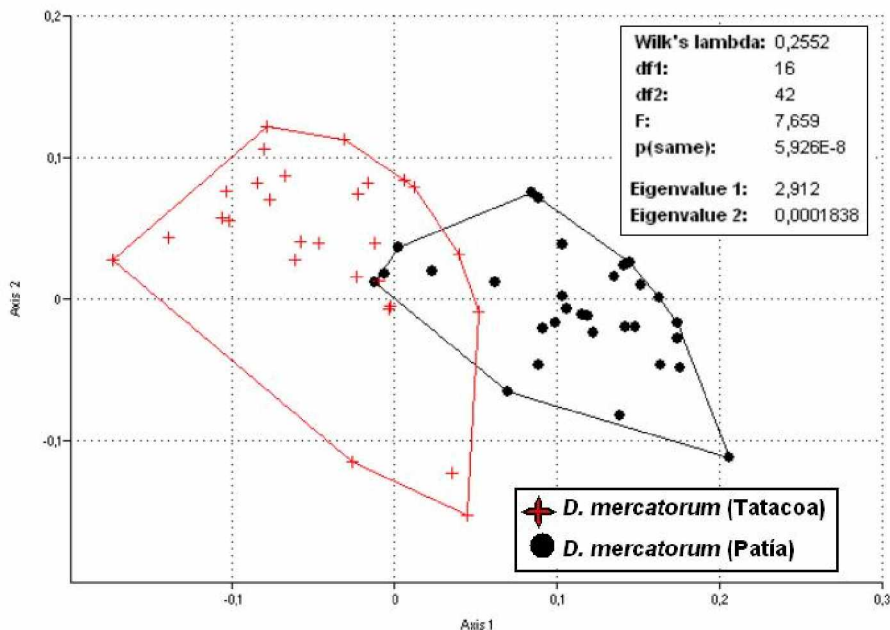
Tabla 6. Resumen del análisis de varianza inter-específico realizado a partir de los coeficientes de Fourier de la genitalia interna (aedeagus).

POBLACIÓN	RESULTADO
Valle del Patía	En esta población <i>D. mercatorum</i> y <i>D. sp</i> manifiestan diferencias significativas, que se evidencian en la distribución de los grupos separados en el “scatter plot” y en la observación de las formas particulares de sus genitalias.
Desierto de la Tatacoa	Aunque al realizar el análisis de todas las especies de esta población de forma conjunta <i>D. uniseta</i> se sobrepone con <i>D. martensis</i> y <i>D. aldrichi</i> al realizar el análisis pareado se hace evidente que todas las especies presentan una diferencia altamente significativa en la forma del aedeagus.
En todas las comparaciones inter-especificas se encontró diferencias significativas, mostrando en todos los casos la identidad taxonómica de cada especie, comprobando que la genitalia externa e interna y más aun, el aedeagus son las características taxonómicas más fuertes a la hora de diferenciar estas especies.	

Drosophila mercatorum

El índice de Shapiro Wilk muestra diferencias significativas (valor $P < 0,05$) para el análisis morfométrico de la genitalia interna de los machos de las dos poblaciones de *D. mercatorum* (figura 26), la variación morfológica de los individuos puede darse como consecuencia de la existencia de un acervo genético particular de cada población por la imposibilidad de flujo causada por el aislamiento geográfico, siendo el inicio de una divergencia evolutiva, pero que al ser gradual, no es aun tan marcada como para impedir la cópula y fertilización, es decir, aun no existe aislamiento precigótico de tipo mecánico que impida la fecundación del óvulo (Futuyma, 1998, Rojas, 2001).

Figura 26. Análisis Morfométrico de la Genitalia Interna de *Drosophila mercatorum* Desierto de la Tatacoa (Color Rojo) y Valle del Patía (Negro).



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

Tatacoa y del Valle del Patía se vean reflejados a través de las variaciones en la forma de la genitalia interna (aedeagus).

Figura 27. Genitalia interna de *D. mercatorum* tomada en microscopio 40x
1: Tatacoa. 2: Valle del Patía

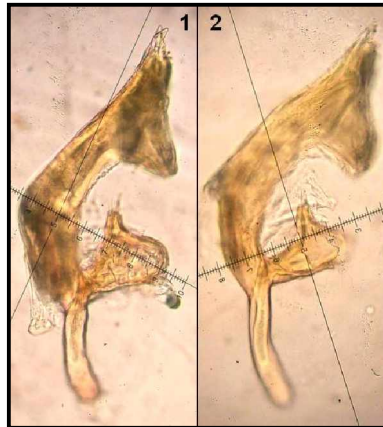
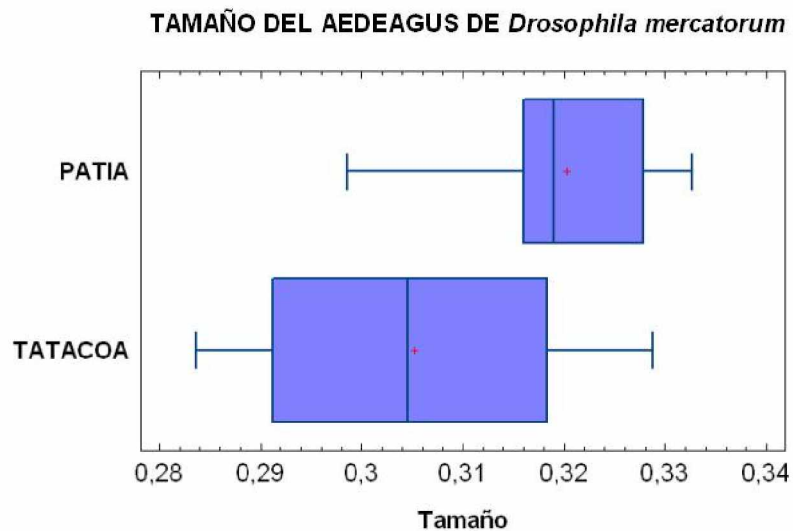


Figura 28. Comparación interpoblacional del tamaño en milímetros de la genitalia interna de *D. mercatorum*



La divergencia evolutiva rápida de la morfología genital masculina (figura 27) representa una de las tendencias más notables a través del taxa animal con fertilización interna (Arnquist, 1999), por esto, los órganos genitales proveen caracteres taxonómicos útiles para distinguir entre organismos en el nivel de especies donde ningún otro rasgo morfológico es válido (Eberhard, 1985), sin embargo, la diferencia entre las dos poblaciones indica la posibilidad de un proceso de divergencia morfológica aun no acentuado entre las mismas, por lo

que se concluye que se trata de la misma especie, con un grado de variación que no logra el *aislamiento reproductivo*.

En el análisis morfométrico tradicional del tamaño de la genitalia de *D. mercatorum* (figura 28) se encontró que los machos del Valle del Patía presentan un aedeagus de mayor tamaño que los de Tatacoa y pese a que esta diferencia es según la prueba U de Mann-Whitney (anexo J) estadísticamente significativa ($p\text{-same} = 0,001413$) se produjo descendencia en todos cruces, por lo tanto se asume que existe compatibilidad total para la copula y fertilización.

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

En la figura 29 se observa que, aunque existe diferencia estadísticamente significativa en la forma de la genitalia de los híbridos A1 respecto a los parentales de ambas poblaciones (valor $P = 2,013E-28$), estos presentan una mayor cercanía morfológica con la población de Tatacoa, lo cual es más evidente en la figura 30a donde los individuos híbridos A1 se solapan con los de Tatacoa (valor $P = 1,962E-9$), mientras que al compararlos con los machos de Patía, no se observa una zona de intersección (figura 30b, valor $P = 3,402E-12$).

Figura 29. Comparación de la forma del aedeago de las dos poblaciones de *D. mercatorum* respecto a los híbridos A1.

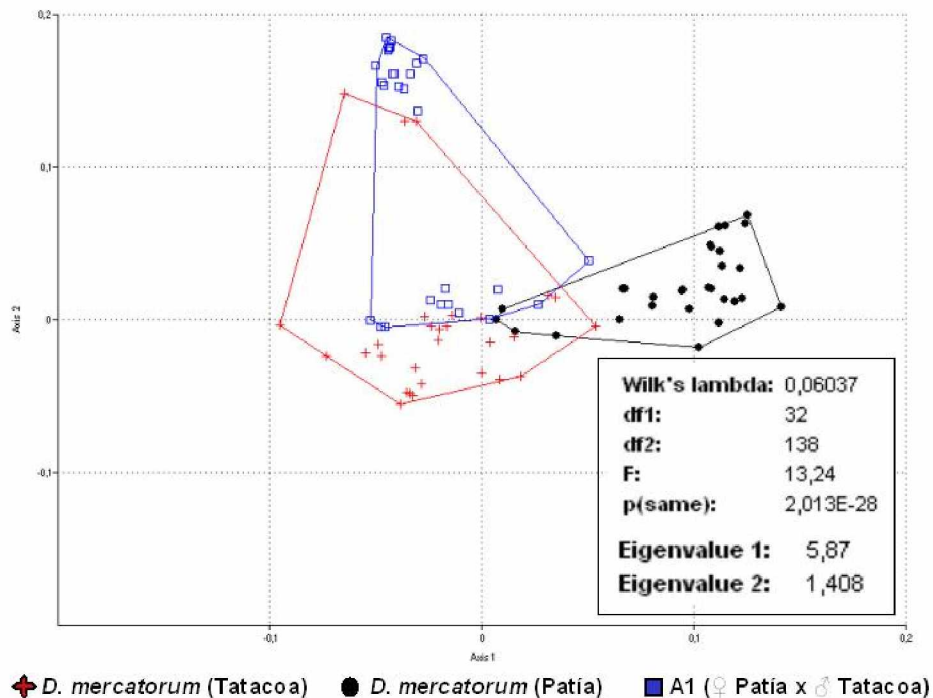
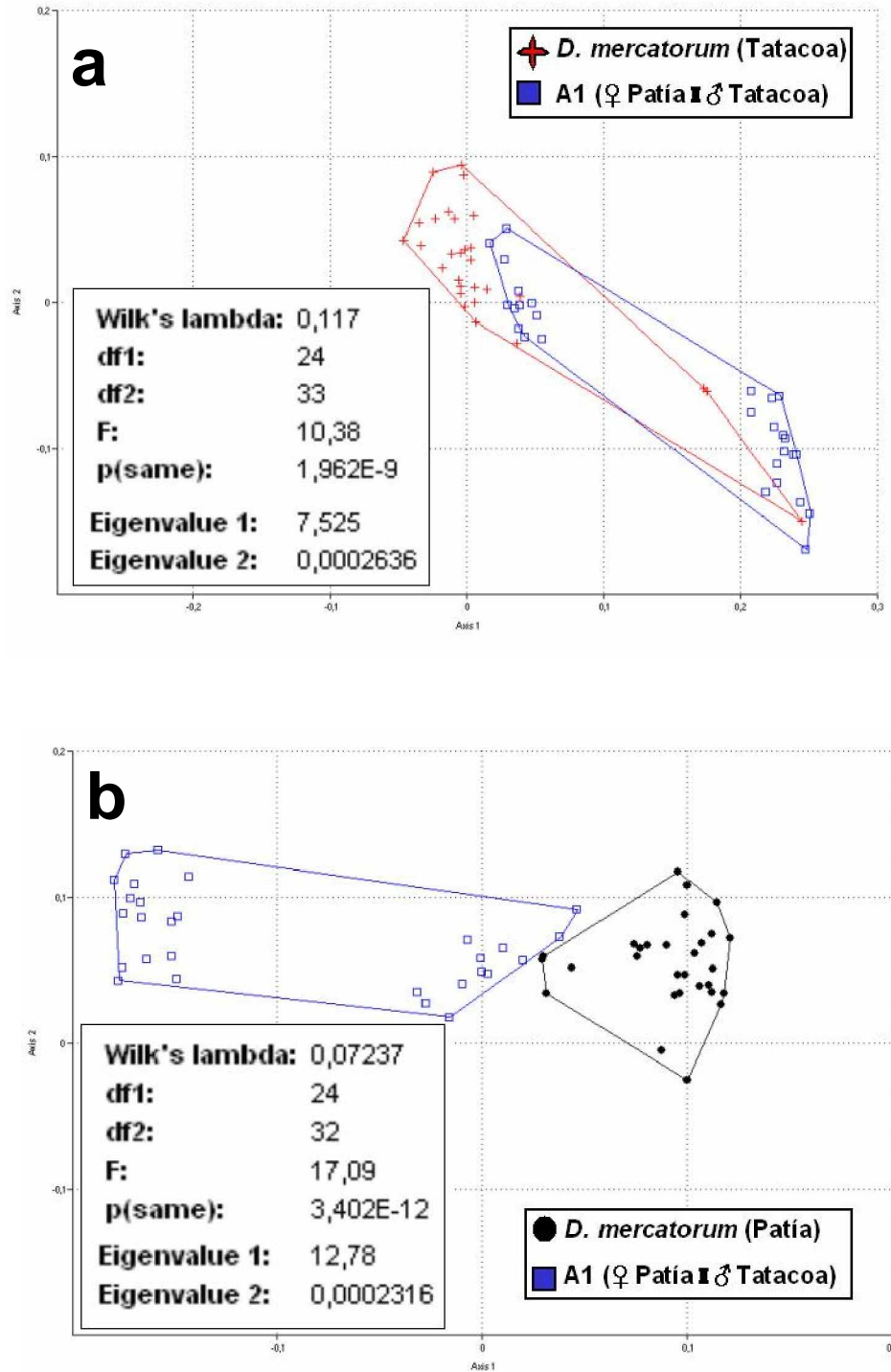


Figura 30. Comparación de la forma del aedeago de los híbridos A1 respecto a: a) *D. mercatorum* (Tatacoa) y b) *D. mercatorum* (Patía)



En la figura 31 se observa que existen diferencias significativas en la comparación de la forma del aedeagus de los individuos híbridos A2, respecto a las dos poblaciones parentales (valor $P= 1,182E-29$), sin embargo, se evidencia la agrupación entre los híbridos A2 con la población de Patía, esta agrupación se hace evidente en la figura 32a donde a pesar de la diferencia significativa en la comparación (valor $P= 2,737E-8$), existe una zona de unión, a diferencia de lo observado en la figura 32b donde hay una mayor separación de los híbridos A2 con la población del Patía (valor $P= 1,294E-11$).

Un aspecto interesante que se puede observar sobre las gráficas comparativas es la formación de un grupo claramente diferenciado de los híbridos A2 con respecto a los parentales. Esta situación particular es generalmente asociada al componente genético distinto de los híbridos y al que puede presentarse en cada uno de los parentales, teniendo en cuenta que el resultado fenotípico para este carácter depende de las múltiples interacciones de los genes responsables de la forma en esta estructura y la combinación específica que resulta de la herencia de los dos genomas distintos (Soto, 2008 c).

Figura 31. Comparación de la forma del aedeago de las dos poblaciones de *D. mercatorum* respecto a los híbridos A2.

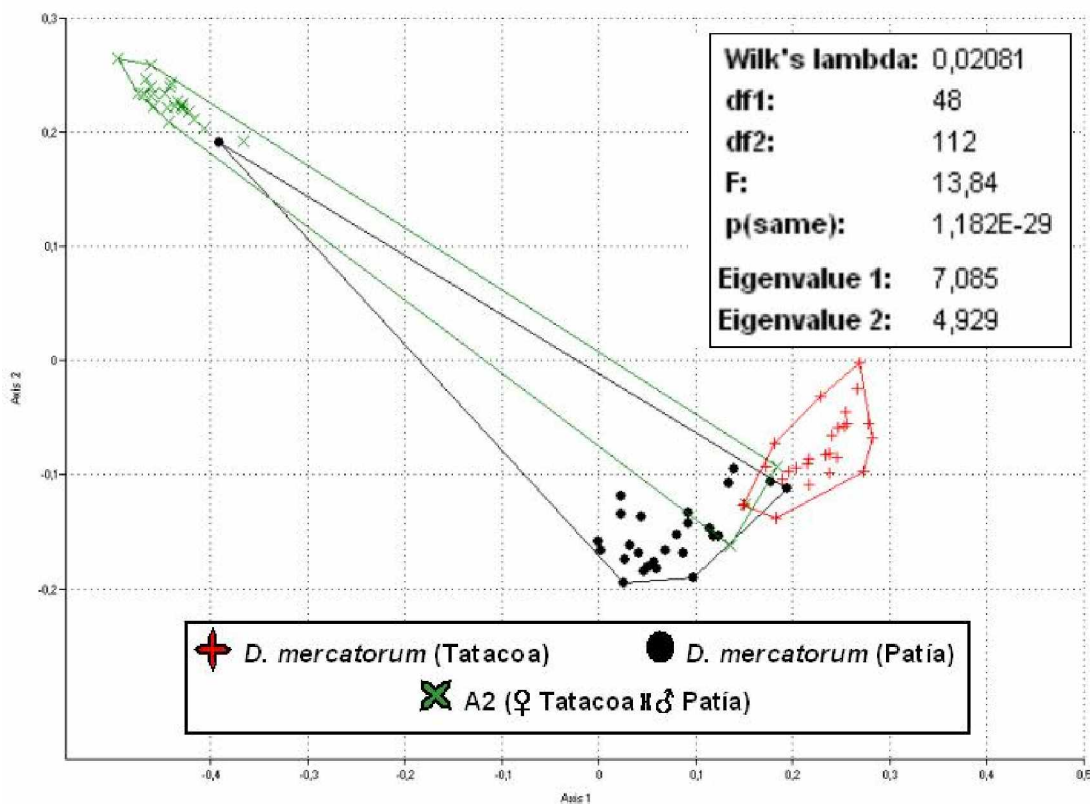
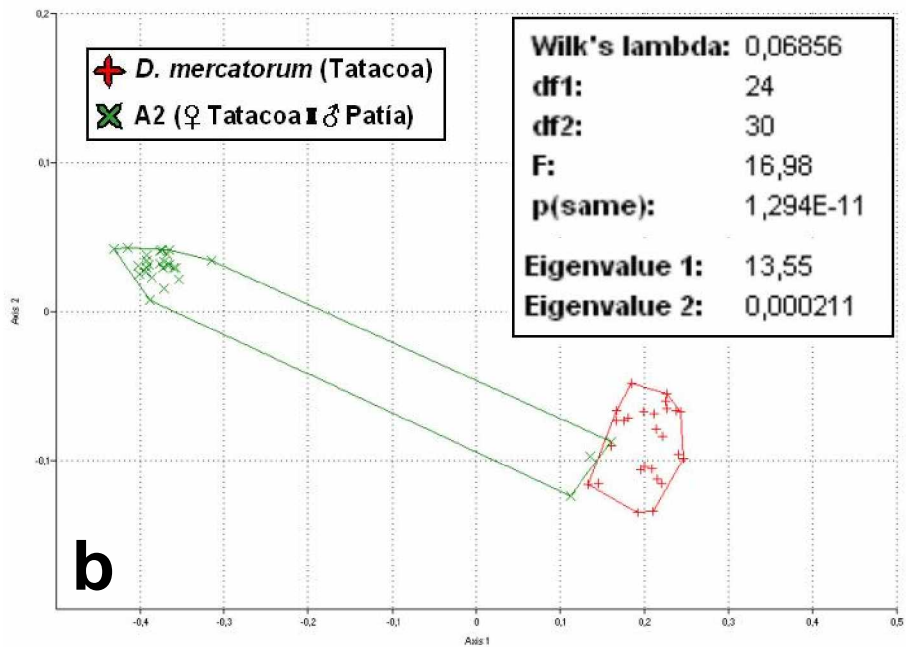
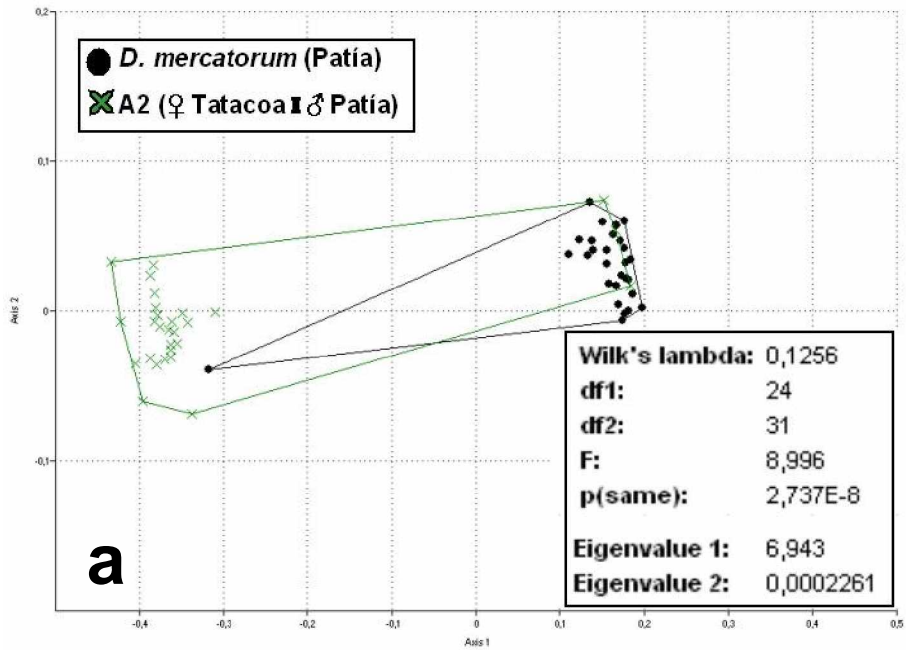


Figura 32. Comparación de la forma del aedeago de los híbridos A2 respecto a a) *D. mercatorum* (Patía) y b) *D. mercatorum* (Tatacoa)

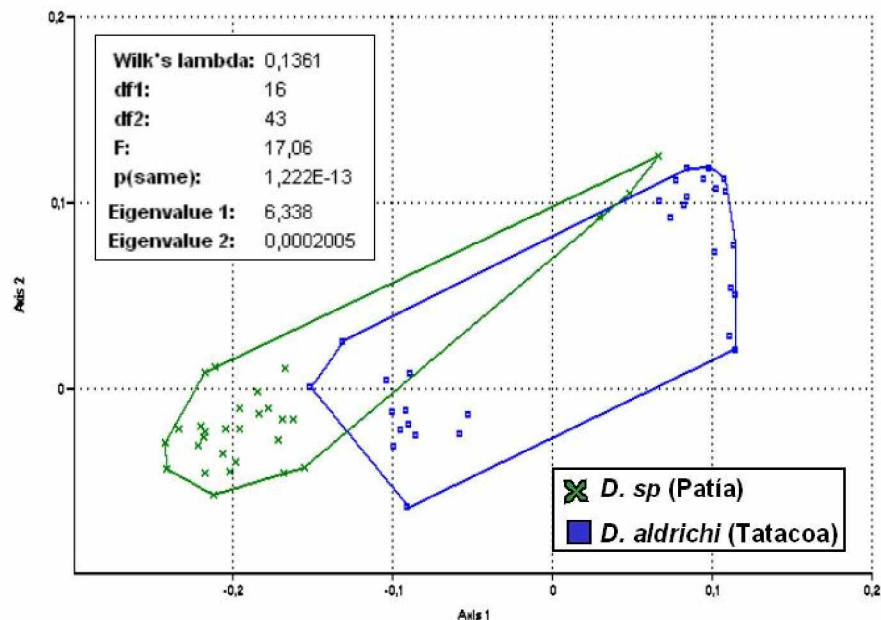


Drosophila aldrichi (Tatacoa) vs. *Drosophila sp* (Patía)

El análisis morfométrico muestra que existen diferencias estadísticamente significativas en la genitalia interna de *Drosophila sp* respecto a *D. aldrichi*, lo cual es congruente con lo encontrado para genitalia externa, donde la forma del clasper también se distingue claramente y presenta diferente número de cerdas.

En la figura 33, se observa la separación intrapoblacional en 2 grupos lo cual demuestra la presencia de polimorfismo en ambas especies, tal polimorfismo es más marcado en *D. aldrichi* (Tatacoa).

Figura 33. Análisis morfométrico de la Genitalia Interna de *Drosophila sp* Valle del Patía y *D. aldrichi* Desierto de la Tatacoa.



Se evidencia que existe una diferenciación genética alta entre estas especies dada la imposibilidad de generar descendencia en los cruces realizados, esto se refleja en las diferencias de la genitalia interna (figura 35) y externa, por lo tanto, es posible que a pesar de tener similar morfología externa (figura 34), presenten imposibilidad de cruzarse al generarse barreras mecánicas que impiden la cópula y fecundación (Galindo. 2004).

Figura 34. Morfología externa de *D. aldrichi* de Desierto de la Tatacoa (a y b) y *Drosophila* sp Valle del Patía (c y d). a) Vista ventral. b) Vista lateral.

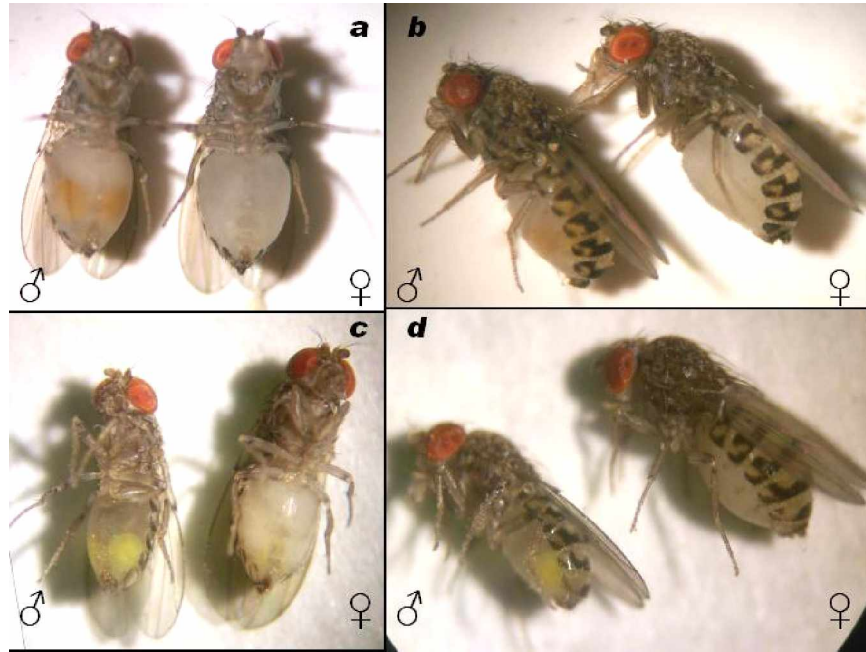


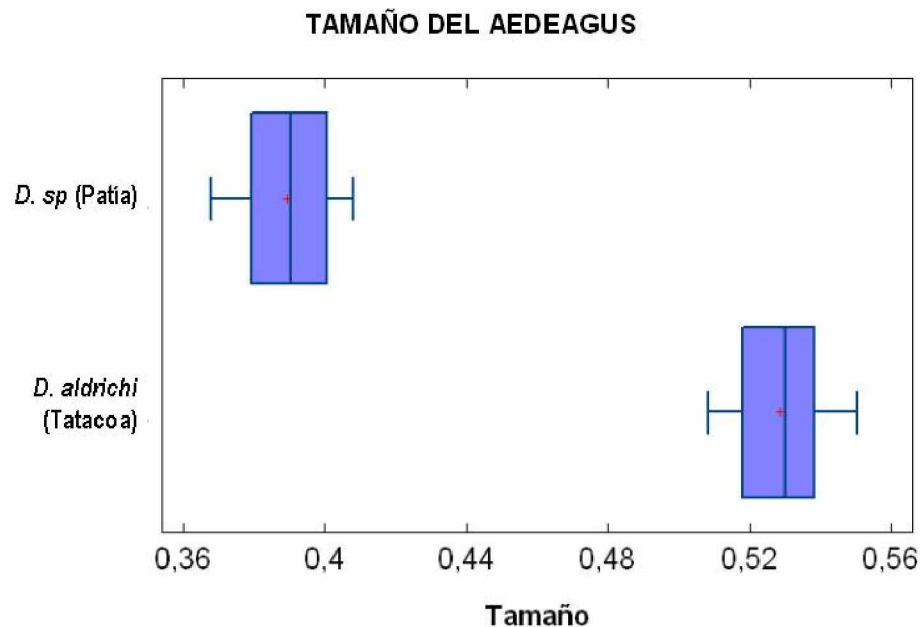
Figura 35. Genitalia interna tomada en microscopio 40x 1: *D. aldrichi*Tatacoa. 2: *Drosophila* sp Valle del Patía



En el análisis morfométrico del tamaño de la genitalia de *D. aldrichi* vs *D. sp* (figura 36) según la prueba U de Mann-Whitney (anexo K), se encontró diferencias estadísticamente significativas ($p\text{-same} = 6,80\text{E-}08$) entre los machos del Desierto de la Tatacoa que presentan un aedeagus de mayor tamaño (entre 0.501 y 0.550mm) que los del Valle del Patía (entre 0,368 y 0,41), por lo tanto, existe la posibilidad de que, en caso de ocurrir cópula, los machos del Patía no logren fecundar a las hembras de Tatacoa al no llegar hasta la espermateca y en

el caso contrario el problema podría estar relacionado con el rompimiento de la membrana genital interna de la hembra o en el caso de los machos el daño de su propia estructura copulatoria, impidiéndoles copulas posteriores (Sota, *et al.* 1998).

Figura 36. Comparación interpoblacional del tamaño en milímetros de la genitalia interna de *Drosophila sp* y *D. aldrichi*



La variación morfológica de la genitalia de los individuos puede darse como consecuencia de la existencia de un acervo genético particular de cada población por la imposibilidad de flujo causada por el aislamiento geográfico (Dobzhanky, 1975), que da paso al inicio de una divergencia evolutiva entre las poblaciones, el hecho de que no se haya producido descendencia indica que tal divergencia es fuerte y puede afectar, además de la compatibilidad genital, características en la conducta o en la viabilidad de los gametos (Coyne y Orr, 2004).

La genitalia interna es un rasgo sobre el que se ejerce presión de selección natural por ser una de las barreras más fuertes a la hora de impedir el cruzamiento entre individuos de especies diferentes, siendo un carácter que puede presentar cambios importantes durante los procesos de formación de razas y subespecies, por tanto, la acumulación de mutaciones y la interrupción del flujo genético y el aislamiento reproductivo conllevan a la formación de nuevas taxa (Dobzhansky *et al.* 1937). En el caso de *D. aldrichi* de Tatacoa en comparación con la especie que se ha denominado *Drosophila sp* es clara la existencia de diferencias en esta estructura, con lo que se puede dar un mayor argumento a la división como especies diferentes.

Tabla 7. Resumen del análisis de varianza intra-específico realizado a partir de los coeficientes de Fourier del aedeagus de las especies del grupo *repleta* analizadas.

Especie	Politipismo	Polimorfismo	Variación
<i>D. mercatorum</i> (Tatacoa)	Sí. Diferencias significativas entre las poblaciones	No, los individuos no forman sub-grupos claramente definidos	Sí. Se observa una distribución amplia y continua de los individuos de acuerdo a la población de origen.
<i>D. mercatorum</i> (Patía)			
<i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)		Sí	Sí. En las poblaciones se observa dispersión de los individuos, propio de los caracteres cuantitativos
<i>Drosophila sp.</i> (Patía)		Sí	

5.5. MANCHA ABDOMINAL

Drosophila mercacorum

Teniendo en cuenta el componente genético asociado con la pigmentación en las especies de *Drosophila* (Brisson *et al*, 2004) y con el fin de tener evidencias de la variación genética de las dos poblaciones de *D. mercatorum* en este carácter, se realizó el análisis morfométrico de la mancha abdominal, encontrando que esta no presenta diferencias en ninguna de las dos poblaciones a nivel de sexo, es decir, la forma de la mancha no es un carácter que pueda ser tomado en análisis de dimorfismo sexual, como se muestra en las figuras 37 y 38 donde existe sobreposición de los individuos machos y hembras y se comprueba la similitud estadísticamente, puesto que el índice de Shapiro Wilk's tiene un valor P de 0,09761 para la población de Tatacoa y de 0,39 para la población de Patía.

En la figura 39 se observa que la mancha abdominal de los machos de ambas poblaciones no presentan diferencias estadísticamente significativas, por lo tanto, este es un carácter que además de no variar entre sexos intrapoblacionalmente, tiene la misma forma en los machos en comparaciones interpoblacionales, sin embargo, en la figura 40, a pesar del solapamiento que se evidencia en el scatter plot, existen diferencias significativas en la comparación interpoblacional de las hembras (valor P = 0,004652), esto puede ser evidencia de la diferenciación genética entre las dos poblaciones, que para esta estructura es muy baja y por tanto, no permite diferenciar a que población pertenece cada individuo.

Figura 37. Comparación de la forma de la mancha abdominal de machos y hembras de *D. mercatorum* de Tatacoa.

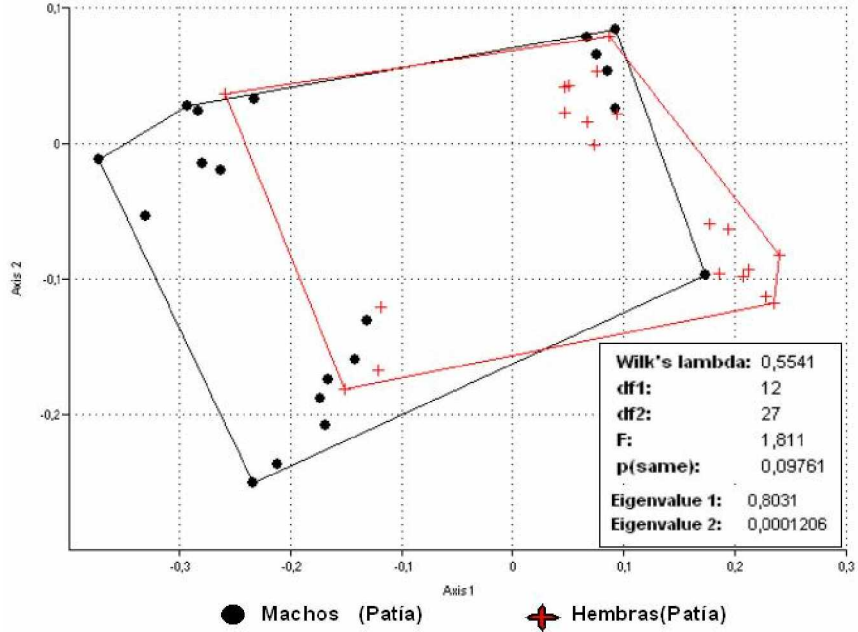
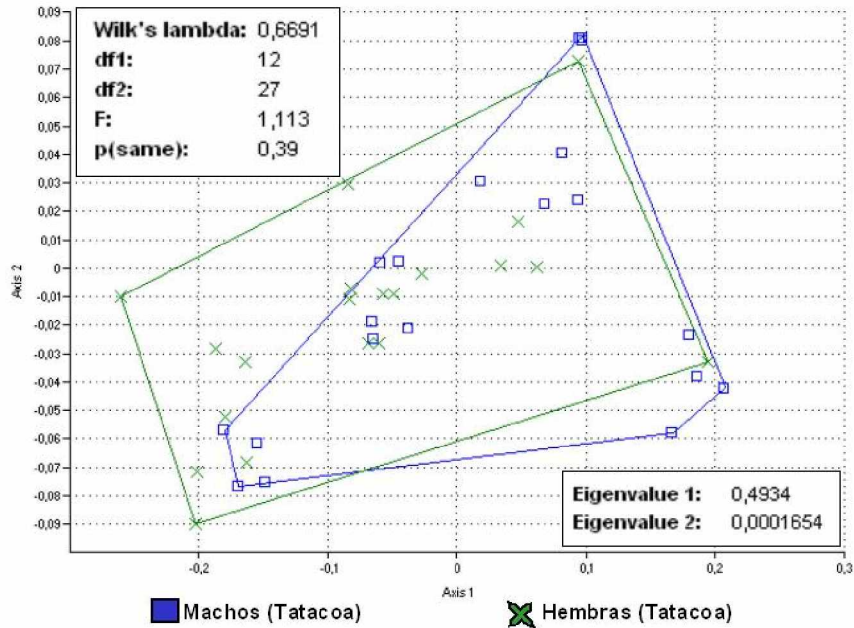


Figura 38. Comparación de la forma de la mancha abdominal de machos y hembras de *D. mercatorum* del Patía



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

Figura 39. Comparación de la forma de la mancha abdominal de los machos de *D. mercatorum* de Tatacoa y Patía

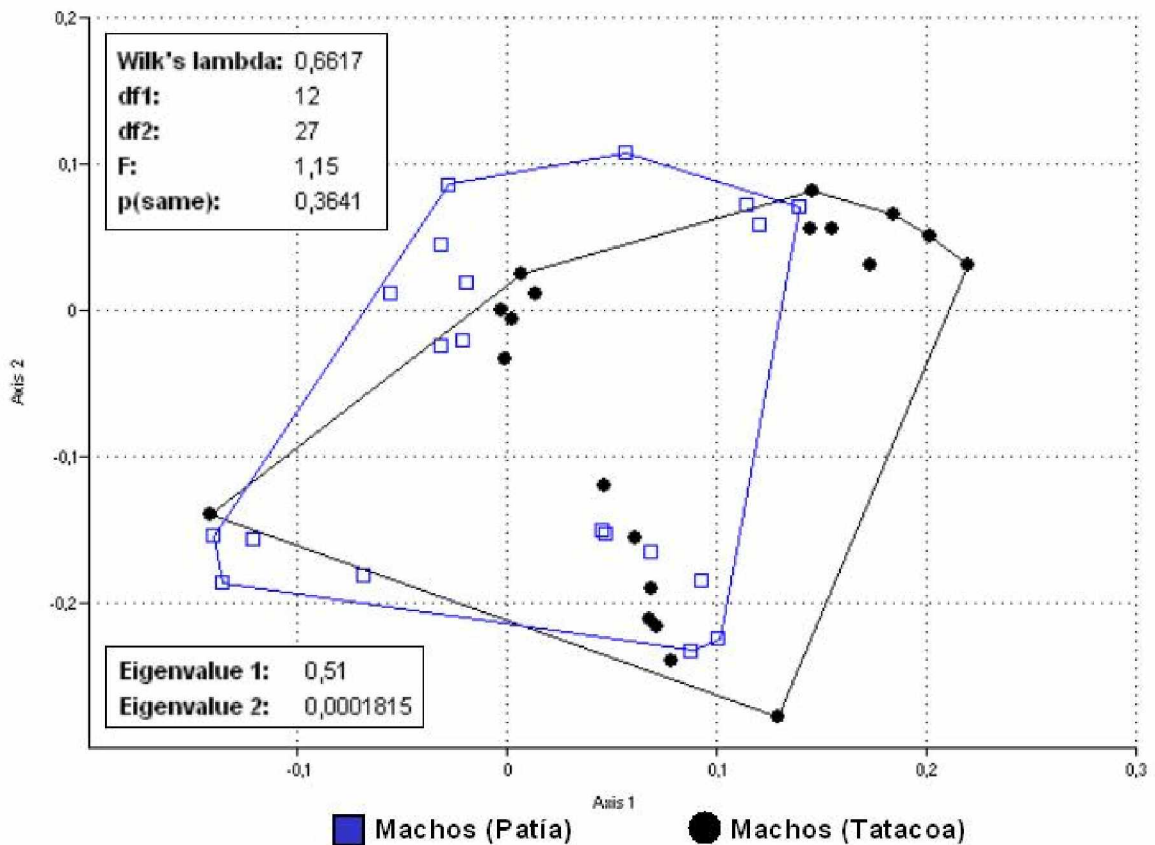
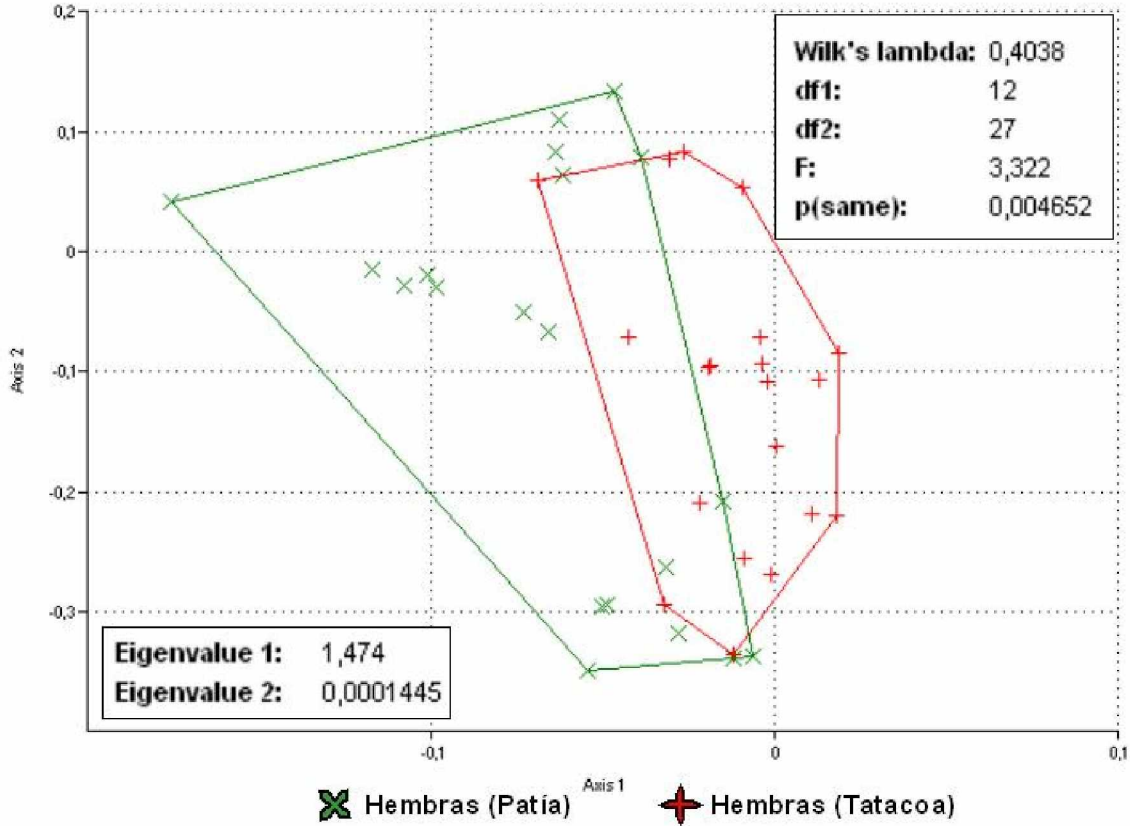


Figura 40. Comparación de la forma de la mancha abdominal de las hembras de *D. mercatorum* de Tatacoa y Patía



5.6. MORFOMETRÍA DEL ALA

Drosophila mercatorum

La comparación de la forma del ala de los machos de *Drosophila mercatorum* (figura 41) indica que no hay variación morfológica entre las dos poblaciones de Tatacoa y Patía, siendo, al igual que la mancha, un carácter que presenta una forma estable. Respecto al tamaño (figura 42), la prueba de Kruskal Wallis (anexo N) indica que existen diferencias significativas en los tamaños de las alas en al menos uno de los grupos de individuos comparados (valor $P= 1,67E-5$). El contraste múltiple de rangos (porcentaje HSD de Tukey) presentado en el anexo O indica que existen diferencias significativas en las comparaciones entre sexos, comprobada mediante la prueba U de Mann Whitney (anexo P), según la cual, los machos de Tatacoa son similares en tamaño a los del Patía pero presentan diferencias en todas las comparaciones con las hembras, igualmente, las hembras de Tatacoa son similares a las del Patía, pero se diferencian de los machos en todas las comparaciones.

Figura 41. Comparación interpoblacional de la forma del ala de los machos de *D. mercatorum* de Tatacoa y Patía

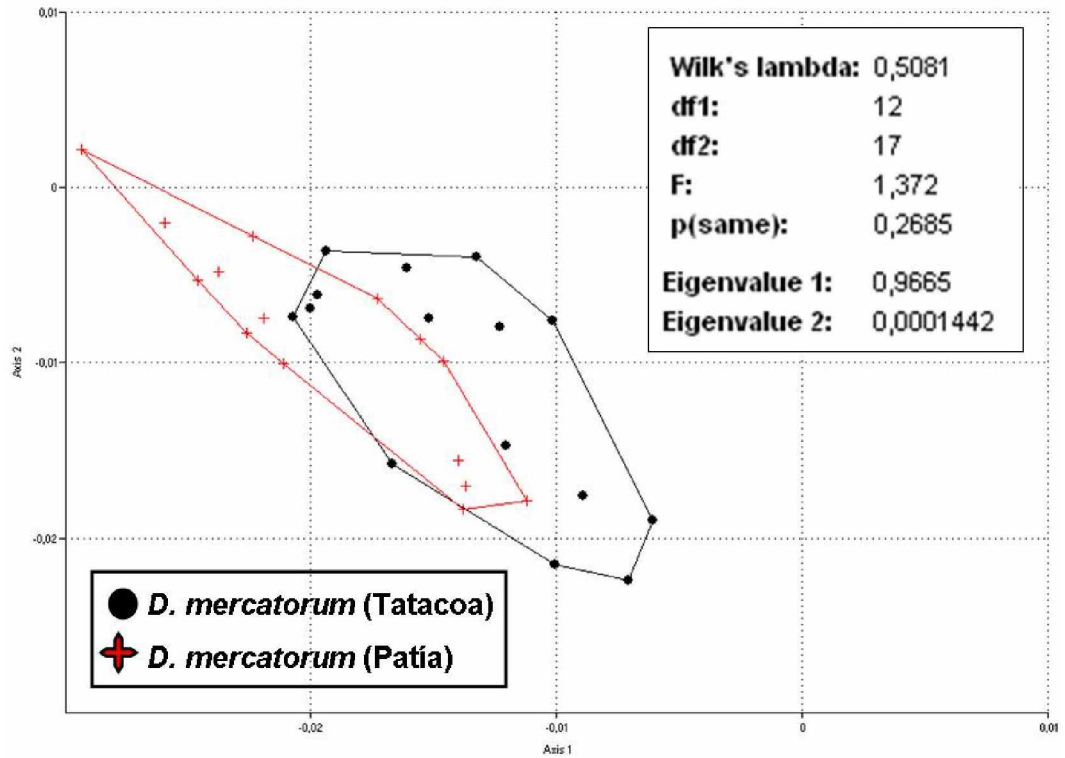
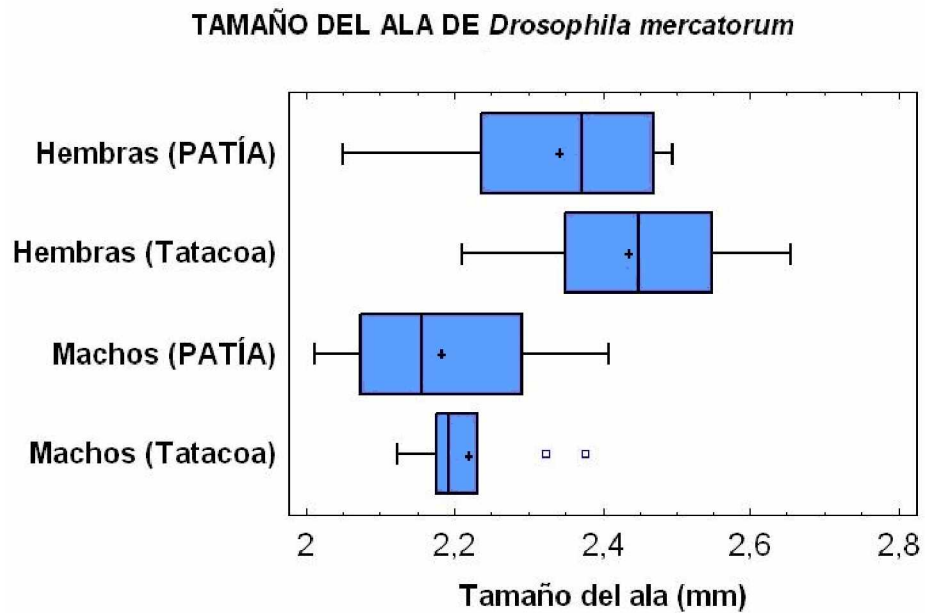


Figura 42. Comparación interpoblacional del tamaño en milímetros del ala de *D. mercatorum*



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

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

Para la población de *D. mercatorum* del Desierto de la Tatacoa, la correlación canónica del tamaño del aedeagus y el ala, es de 0,89558 y para el Valle del Patía es de 0,656641 mostrando una correlación positiva (anexo Q) en las dos poblaciones, lo cual indica que el tamaño del aedeagus depende del tamaño del cuerpo y varía de forma proporcional.

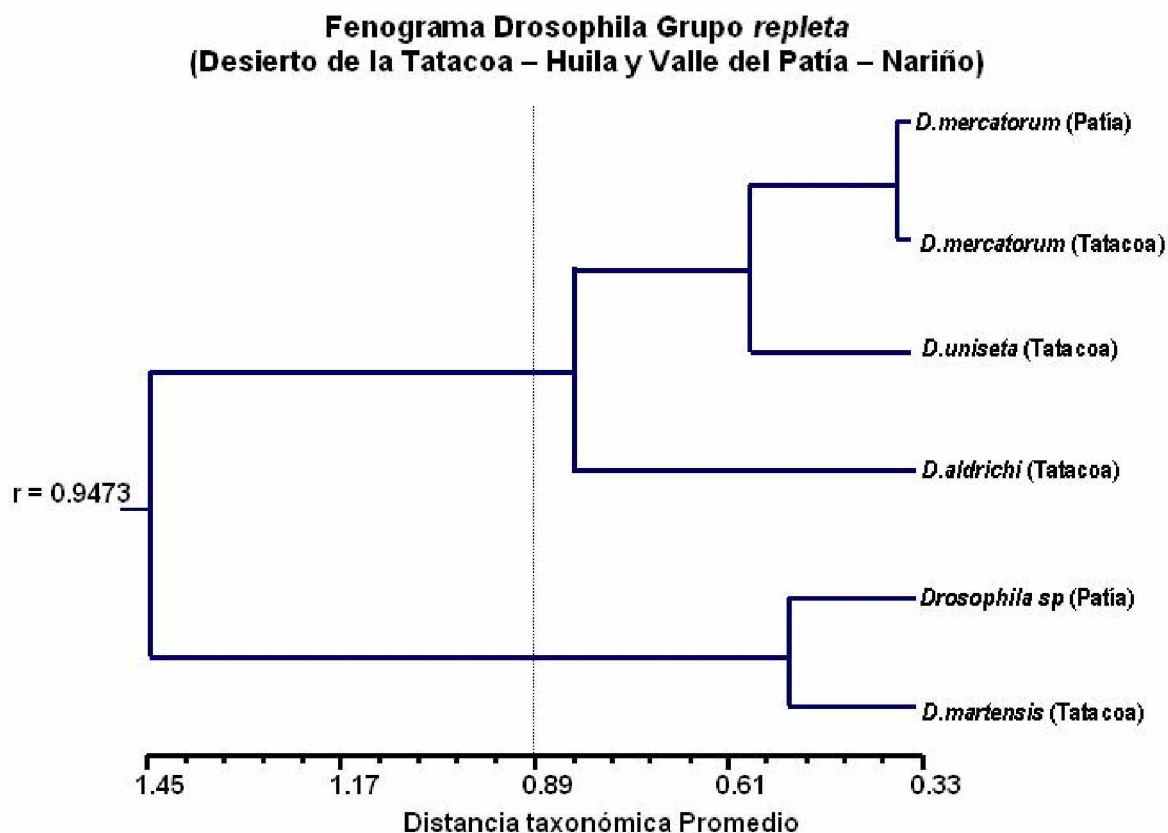
5.7. AGRUPAMIENTO

A partir de los datos de morfometría de contorno del aedeagus, se obtuvo un fenograma de las especies del grupo *repleta* colectadas en los dos ecosistemas analizados (Figura 43). Por la ausencia de outgroup y de información complementaria no es posible inferir mediante este fenograma relaciones evolutivas y temporales, es decir, la estimación del grado de similitud de las especies respecto a una forma ancestral de aedeagus, por lo tanto, el análisis se enfoca en las relaciones de divergencia o similitud de la forma de esta estructura en las especies mencionadas.

Se destaca que el coeficiente de correlación cofenética (r) de Sokal y Rohlf, (1994) del análisis fue de 0,9473, este valor indica un buen grado de adecuación entre la matriz básica de datos y el fenograma resultante, o sea que no hubo distorsión en la técnica de elaboración del mismo.

El fenograma resultante del análisis UPGMA (figura 43) muestra que la diferencia existente entre todos los grupos va desde 1,47 hasta 0.33, siendo las dos poblaciones de *D. mercatorum*, perteneciente al subgrupo *mercatorum*, las que presentan aedeagus de forma más similar y se agrupan en una sola rama, en este caso, la distancia taxonómica promedio es la menor (0.33), y corresponde a la distancia entre poblaciones de una misma especie.

Figura 43. Fenograma de las especies de *Drosophila* Grupo *repleta* del Desierto de la Tatacoa (Huila) y el Valle del Patía (Nariño).



Drosophila uniseta es la especie que presenta una forma de aedeagus mas fácilmente diferenciable y en el fenograma actual forma una rama individual, mostrando mayor afinidad morfológica con *D. mercatorum*.

Las especies *D. aldrichi* y *D. martensis* se encuentran ubicadas taxonómicamente en clusters diferentes (cluster *mulleri* y cluster *martensis* respectivamente), sin embargo, para la población de *D. aldrichi* de Tatacoa y *D. martensis* de Tatacoa y Costa Norte, en otros estudios se ha reportado que existen similitudes morfológicas en caracteres como forma aedeagus (De Polanco, 2004), forma de la mancha abdominal y número de manchas torácicas (Prieto, 2006). En el presente estudio, dicha similaridad en los aedeagus de estas dos especies no es tan evidente y se destaca que a nivel de forma y tamaño del aedeagus, *Drosophila sp* del Patía es inclusive más afín con *D. martensis* que *D. aldrichi* de Tatacoa con quien comparte la similaridad en la morfología externa.

El cluster *mulleri* es una categoría definida como “mixed bag” o ensalada de formas homogéneas, porque al parecer incluye especies crípticas determinadas por simple inspección, solo distinguibles por pruebas de apareamiento

(Wasserman, 1982 a). De Polanco (2004), plantea que *D. aldrichi* o *D. martensis*, actualmente ubicadas en clusters diferentes, deben ser reubicadas juntas en alguno de los dos clusters, el presente trabajo apoya esta hipótesis, sin embargo, se requieren de más evidencias que permitan esclarecer el cuadro evolutivo de este grupo. Se han realizado cruces entre las especies *D. aldrichi* y *D. martensis* de Tatacoa que no han generado descendencia, sin embargo, en este trabajo, *Drosophila sp.* (Patía) tiene mayor similitud en el aedeagus en forma y tamaño, con *D. martensis*, por lo tanto se plantea la posibilidad que exista mayor compatibilidad para las copulas, lo cual debe ser evaluado para conocer si existe fertilidad entre ellas y por lo tanto, mayor cercanía filogenética.

Entre las especies más cercanas en el fenograma, hay una distancia taxonómica promedio de 0,6 que incluye a *D. mercatorum* de ambas poblaciones con *D. uniseta* y *Drosophila sp.* del Patía con *D. martensis*.

D. aldrichi de Tatacoa es la especie con más diferencias en el aedeagus respecto a las demás, siendo la especie más lejana con una distancia taxonómica de 0,8.

La morfología del aedeagus es un rasgo diagnóstico que junto con inversiones cromosómicas provee a un guía para la identificación de especies del género *Drosophila* y en particular en el grupo *repleta* (Vilela, 1983). En análisis filogenéticos de las especies de *Drosophila* del grupo *virilis* se ha utilizado morfometría de la genitalia interna usando los métodos de UPGMA y Ward's, mostrando que existe similitud en la mayoría de los agrupamientos realizados con estos métodos y los obtenidos mediante inversiones cromosómicas, análisis del rDNA 5S y polimorfismo de proteínas (Kulikov, *et al*, 2004).

De acuerdo a lo reportado en trabajos de análisis del aedeagus para *D. buzzatii* y *D. koepferae*, las tasas evolutivas de órganos genitales masculinos pueden ser heterogéneas entre ramas del árbol filogenético de los grupos, por esto varía entre especies (Soto, *et al.* 2008 a).

5.8. ANÁLISIS INTRAESPECÍFICO

En el análisis realizado a las especies de *Drosophila* de Tatacoa y Patía se observo que algunos individuos de cada grupo se traslapaban entre si, esto se explica por el hecho de que las especies sean consideradas "sibling" o hermanas, que determina la existencia de un ancestro común (Rodríguez *et al*, 2005), del cual aún se pueden compartir muchas características que recién en la historia evolutiva del grupo *repleta* empiezan a manifestar diferencias. Por tal razón es probable que en cada especie algunos individuos presenten semejanzas en su fenotipo, de hecho, estas especies son consideradas crípticas por su alta similitud fenotípica, resultado de su estrecha relación filogenética, de la inercia evolutiva y probablemente de la similitud ecológica que requieren.

Drosophila martensis de acuerdo al análisis del número de cerdas en el clasper primario y el análisis morfométrico del aedeagus, tiene una distribución de datos muy homogénea por lo tanto, a pesar de ser un carácter cuantitativo en el cual se esperaría como condición natural la no-uniformidad entre los individuos, se asume que presenta poca variación intrapoblacional que puede estar relacionada con presiones selectivas que favorecen formas semejantes en el aedeagus de los individuos de esta población, quizás basada en efectividad durante la copula de esta forma en particular (Soto, 2008 c).

En el caso de *Drosophila uniseta* para la cual se ha reportado que presenta poca variación reflejada en caracteres como mancha abdominal, número de pecas en el tórax, forma del ala (Prieto, 2006), especies de cactus que utiliza (Aldana, 2007) y reducido número de alelos a nivel enzimático (Betancourt & Arenas, 2002), en el análisis del clasper presentó poca variación en el número de cerdas (entre 13 y 14). Sin embargo, la variación de la forma y el tamaño de la genitalia interna, fue alta. La distribución amplia de los individuos puede deberse en principio a la condición de carácter cuantitativo del aedeagus que implica la interacción de varios genes y que generalmente se manifiesta en variación a nivel del carácter, a pesar de ser miembros de una misma población.

Drosophila aldrichi presenta alta variación intrapoblacional en el número de cerdas del clasper primario, polimorfismo en la forma del aedeagus y además su tamaño es más de 30% mayor que en las demás especies. Existe una fácil diferenciación de sexos debida al gran tamaño de las hembras y su coloración blanquecina en el abdomen, contrastante con la coloración rojiza de los testículos de los machos. De igual modo *Drosophila sp* (Patía) presentó características con alta variación morfológica como es el caso del aedeagus y el clasper secundario con mayor número de cerdas lo que lo hace muy notorio, además se evidencia dimorfismo dada la coloración amarilla del abdomen de los machos asociada con la pigmentación presente en los testículos y la diferencia en tamaño del cuerpo entre sexos. Esta última condición es algo particular en este análisis ya que en la mayoría de los casos se habla de la no existencia de dimorfismo (De Polanco, 2004) para estas especies a nivel de caracteres fenotípicos externos. Así mismo, sin tener claro la condición de presión selectiva o los eventos estocásticos que se han dado sobre estas especies y que afectan las estructuras genitales, es probable que no una única forma del aedeagus y condición numérica del clasper resulten efectivas al momento de la copula, de tal manera que en las poblaciones se ha mantenido un alto grado de variación, similar a lo encontrado por Soto, 2008 [c] para la genitalia de *Drosophilas* del cluster *buzzatii*.

Drosophila mercatorum presentó alta variabilidad en la forma del aedeagus demostrada en la distribución amplia de los puntos en las gráficas para ambas poblaciones y además, se evidencia politipismo en este carácter el cual plantea la existencia de formas particulares para los miembros de cada población con una intersección muy pequeña, además, el tamaño de esta estructura también fue

significativamente diferente. La genitalia externa (conteo de cerdas en el clasper), no presentó variación estadísticamente significativa, además, su forma es similar (recto en ambas poblaciones, por lo tanto, existe compatibilidad para la sujeción y/o estimulación de la hembra (Robertson & Paterson, 1982), independientemente de la población de estudio.

D. uniseta, *D. martensis*, *D. aldrichi* y *D. mercatorum* de acuerdo con los análisis morfométricos (tradicionales y geométricos) mantienen su identidad taxonómica, manifestando diferencias entre sí en los caracteres utilizados. La especie de *Drosophila* (grupo *repleta*) del Valle del Patía no identificada presenta cercanía morfológica externa a *D. aldrichi* (Tatacoa) sin embargo, la inexistencia de descendencia en los cruces realizados y la presencia de diferencias altamente significativas en todos los caracteres utilizados, permite concluir que es una especie hermana (siblings) de *D. aldrichi* perteneciente al subgrupo *mulleri*.

5.9. ANÁLISIS INTER-POBLACIONAL

En los cruces interpoblacionales de *D. mercatorum* el contraste múltiple de rangos, muestra diferencias significativas en algunos de los cruces de los híbridos entre sí o con su población de origen, lo cual puede resultar de la presión exogámica o la divergencia genética de las poblaciones asociada a procesos evolutivos particulares, como mutaciones no compartidas por la falta de flujo genético y que al reunirse en los individuos híbridos pueden generar cierto aislamiento gamético. La forma de la genitalia interna de los machos híbridos no fue fenotípicamente intermedia respecto a las poblaciones de origen, y el parecido morfológico de los híbridos varió según el tipo de cruce, es decir, los híbridos fueron morfológicamente más similares a la población de donde provenía el padre, siendo: los híbridos A1 más parecidos a la población de Patía, y los híbridos A2 a la de Tatacoa. Estos resultados son incompatibles con la idea de que las diferencias en la morfología de órganos genitales propios de los machos se deben a poligenes con efectos aditivos pequeños y que dan como resultado formas intermedias en los aedeagus de los híbridos, reportada por Coyne y Orr (2004) para *D. simulans* y *D. mauritiana*, sin embargo, los autores admiten algún grado de dominancia y epistasis que puede mostrar una tendencia de similitud de la genitalia de los híbridos con uno de sus parentales. Estas diferencias en los resultados pueden deberse a que existan diferencias en el tiempo de divergencia entre los miembros de los dos grupos de especies.

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

genética debida a la distinta combinación de los genes de las poblaciones parentales.

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

Drosophila sp muestra un aspecto externo similar en la forma y coloración del cuerpo, las manchas abdominales y clasper secundario al de *D. aldrichi* (Tatacoa), además de ser la única especie colectada en el Valle del Patía que presenta pigmentación en los testículos. Sin embargo, las comparaciones pareadas fueron las de mayor variación en los caracteres evaluados, mostrando diferencias estadísticas en la genitalia externa, con distinto número de cerdas en clasper primario y secundario e interna, presentando mayor tamaño en el aedeagus de los machos de Tatacoa y con diferencias muy significativas en cuanto a la forma de esta estructura, además de la ausencia de descendencia en los cruces realizados. Teniendo en cuenta que las estructuras analizadas tienen validez taxonómica, dada su rápida divergencia y especificidad, en el caso de la genitalia, para impedir cópulas improductivas, que confirman la condición especies distintas (Arnqvist, 1998; King, 2003).

5.10. ANÁLISIS EVOLUTIVO

La evolución requiere la sucesión de una serie de hechos que generalmente se hallan distribuidos en un periodo considerable de tiempo por lo que resulta difícil determinar todos y cada uno de estos (Prieto, 2006).

En este trabajo se señalan algunas evidencias del cambio fenotípico de las poblaciones geográficamente aisladas (Tatacoa y Valle del Patía), que está dado por la variación inter-poblacional que se manifestó en las especies a través de la reconstrucción geométrica de la forma del aedeagus, la medición de su tamaño y el conteo de claspers. Teniendo en cuenta que en el caso de los análisis presentes el ambiente está controlado bajo las condiciones del laboratorio y todas las especies y poblaciones se mantuvieron bajo el mismo tratamiento (Temperatura, medio de cultivo, horas de luz/oscuridad, etc), se puede afirmar que dicha variación se debe en mayor parte al componente genético.

En los análisis Inter-específicos de cada zona de muestreo se destaca que las especies, consideradas hermanas por tener relaciones filogenéticas muy cercanas y al encontrarse en simpatria, presentan diferencias significativas en los caracteres fenotípicos analizados, esto puede explicarse por las interacciones competitivas que algunas veces conducen a la diferenciación morfológica,

probablemente para reducir la competencia entre estas, esto se conoce como hipótesis del “desplazamiento” (Adams, *et al*, 2000), sin embargo, es necesario estudiar mas a fondo las relaciones ecológicas entre estas especies para comprobar dicha hipótesis.

Para explicar la evolución de órganos genitales masculinos se han discutido tres hipótesis principales, la hipótesis llave-cerradura (Arnqvist, 2004), pleiotropía (Mayr, 1963) y selección sexual (Eberhard, 1985). Para argumentar qué tipo de hipótesis explica mejor la evolución de las poblaciones estudiadas, se tiene en cuenta la existencia o no de correlaciones y variación morfológica entre aedeagus y otras características del cuerpo de los individuos por población.

La hipótesis de llave-cerradura propone que el desarrollo de los órganos genitales debería ser altamente canalizado, por lo tanto, se esperaría muy poca variación fenotípica en los rasgos genitales debido a la selección direccional, muy poca plasticidad y además, deben ser relativamente independientes de otros rasgos, como el tamaño del cuerpo; por lo tanto se esperaría bajas correlaciones entre estas características, esto es descartado en este trabajo, porque, en ambas poblaciones de *D. mercatorum* se presenta alta variabilidad y politipismo (Ver Tabla 7), además, existió una correlación positiva en el tamaño del las alas y el aedeagus. Teniendo en cuenta que la variación intra e interpoblacional de la forma y el tamaño del aedeagus es incluso mayor a la de otros caracteres no sexuales (alas y manchas), y que además existió correlación positiva en el tamaño del aedeagus y del ala es posible apoyar la hipótesis de pleiotropía según la cual, los órganos reproductivos tienen correlaciones positivas respecto a otros órganos no relacionados que dependen del mismo gen y por tanto, se ven afectados por el proceso selectivo.

Según la hipótesis de selección sexual, la variación en los rasgos relativos a los genitales está relacionada con el éxito del macho en la fertilización, competencia entre los machos y elección propia de las hembras, lo que sugiere que los rasgos bajo selección sexual muestran variabilidad fenotípica alta. Los resultados de este trabajo se ajustan a esta teoría, puesto que la variabilidad de la forma del aedeagus a nivel intra e interpoblacional fue mas alta que la de las alas y las manchas. Se presentó correlación en el tamaño de la genitalia y el ala, lo cual no se esperaría según esta hipótesis, aunque no es necesariamente imposibilitada, puesto que es una teoría muy permisiva, ya que depende del tipo de selección que actúe y de la posibilidad de que existan inversiones cromosómicas influyendo en los caracteres morfológicos.

Los resultados de este estudio son similares a los reportados para *D. mediopunctata*, donde hay correlación altamente positiva entre el tamaño del cuerpo medido usando como parámetro el ala y la genitalia, de acuerdo a esto, los autores proponen que para esta especie la evolución de la genitalia se ajusta a la hipótesis de pleiotropía y de selección sexual (Andrade, *et all*, 2008).

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

En el caso de *Drosophila sp* y *D. aldrichi* se observa una diferenciación mucho más marcada en la genitalia externa e interna, tanto en tamaño como en forma. El hecho de no observar copulas en los cruces realizados indica que las especies se encuentran diferenciadas tanto en los aspectos morfológicos aquí estudiados, como en otras características como el cortejo, las señales químicas y la escogencia de parejas con preferencia por los individuos de su propia población. Estos son los argumentos que ratifican la condición de que *Drosophila sp* y *D. aldrichi* son especies diferentes.

Todas las especies presentaron variabilidad intrapoblacional en la forma del aedeagus, por lo tanto, no se ajustan a la hipótesis de llave-cerradura. Aunque no se realizó la medición del tamaño del cuerpo de todas las especies analizadas, se destaca que *D. aldrichi* es la de mayor tamaño, lo cual, se correlaciona con el gran tamaño del aedeagus, así como también, *D. uniseta* que es la especie más pequeña, también presentó el menor tamaño en esta estructura, por lo tanto, en comparaciones interespecíficas existe correlación entre el tamaño del cuerpo y el tamaño de la genitalia interna, lo cual, respalda las hipótesis de pleiotropía y selección sexual. Dada la alta diferenciación del aedeagus en comparaciones interespecíficas, se puede respaldar la hipótesis de Selección sexual, que se puede considerar la más importante en el caso de las especies simpátricas donde es evidente que dicha variación se constituye en una barrera precigótica mecánica que evita la hibridación, lo cual depende también de la selección de los individuos por parejas de su propia especie.

CONCLUSIONES

∅ Las condiciones ecológicas semejantes entre el desierto de la Tatacoa y el Valle del Patía permiten el establecimiento de especies pertenecientes al grupo repleta como *D. mercatorum*, *D. martensis*, *D. uniseta*, *D. aldrichi* y *D. sp.*

∅ El número de cerdas de los claspers presenta diferencias significativas, lo cual ratifica que esta es una estructura útil para la identificación preliminar de las especies, teniendo en cuenta el número de cerdas y la forma, sin embargo, esta estructura, al igual que la forma del ala y la mancha abdominal son menos discriminante a nivel interpoblacional.

∅ La morfología de la genitalia interna es un carácter discriminante a nivel taxonómico que presenta diferencias altas entre las especies analizadas a pesar de su condición de sinmorfismo, además, la reconstrucción de su forma a partir de las transformaciones de una elipse, es un método eficiente para el análisis de la variación entre especies y poblaciones, permitiendo la determinación de polimorfismos y politipismo.

∅ Dadas la similaridad morfológica externa, la presencia de clasper secundario, preferencia por cactus del género *Opuntia* y la presencia de coloración en los testículos de *Drosophila sp* del Valle del Patía y *D. aldrichi* de Tatacoa, se concluye que son especies hermanas (siblings) pertenecientes al cluster *mulleri*.

∅ Las diferencias morfológicas en la genitalia y la ausencia de descendencia en los cruces de *Drosophila sp* y *D. aldrichi* permiten establecer que son especies diferentes reproductivamente aisladas.

∅ Las estructuras genitales varían en distinta proporción entre especies y entre sus componentes, como se evidencia en la alta variación de los aedeagos y baja en los claspers de *D. uniseta* y *D. mercatorum* contrario a lo observado en *D. martensis*.

∅ *Drosophila sp* y *D. aldrichi* presentaron alta variación intrapoblacional en el número de cerdas del clasper primario, polimorfismo en la forma del aedeagus además presentan dimorfismo sexual por la alta diferenciación en el tamaño y la coloración del cuerpo entre hembras y machos.

∅ La alta variabilidad en la forma y tamaño del aedeagus a nivel interpoblacional en *D. mercatorum*, pueden darse como consecuencia de la existencia de un acervo genético particular favorecido por la imposibilidad de flujo genético, que también se refleja en la disminución del número de descendientes en las retrocruzas y cruces entre híbridos y que pueden ser contemplados como criterios de división de esta especie en razas geográficas.

∅ No existe una divergencia genética alta a nivel reproductivo y afinidad de los gametos entre las dos poblaciones de *D. mercatorum* dada la efectividad en el cruzamiento y generación de descendencia fértil.

∅ La combinación de genomas distintos, en los individuos resultantes de las cruzas interpoblacionales de *Drosophila mercatorum* genera diferencias significativas en la forma del aedeagus en todas las comparaciones.

∅ La morfología de la genitalia interna de los híbridos resultantes de los cruces interpoblacionales se asemeja más a la presente en la población de donde proviene el macho parental, descartándose una forma intermedia relacionada con la acción aditiva de varios genes y asumiéndose una herencia ligada al cromosoma Y o a la presencia de inversiones cromosómicas.

∅ La alta variación intrapoblacional en la forma y tamaño del aedeagus y su correlación positiva con el tamaño de las alas permiten descartar la hipótesis de llave-cerradura, y apoyan la hipótesis de pleiotropía y la de selección sexual.

∅ Las comparaciones interespecíficas de la forma del aedeagus en las especies simpátricas manifiestan una alta diferenciación, que se constituye en una barrera precigótica mecánica que evita la hibridación lo cual apoya la hipótesis de selección sexual que depende también de la selección de los individuos por parejas de su propia especie.

∅ El fenograma resultante de la morfometría de contorno del aedeagus por el método de UPGMA, presentó un coeficiente de correlación cofenética alto ($r=0,9473$), que indica la robustez de los datos, además, se conserva la diferenciación entre las especies distintas por las altas distancias taxonómicas y se respalda la división de las dos poblaciones de *D. mercatorum* en razas ya que la distancia taxonómica promedio es superior a cero. Existe mayor afinidad morfológica entre los aedeagos de *Drosophila sp* del Patía con *D. martensis*, que con *D. aldrichi* con quien comparte la similaridad en la morfología de la genitalia externa lo cual es un respaldo al planteamiento de juntar a estas tres especies en un mismo cluster.

∅ Se destaca que *Drosophila mercatorum* (Patterson & Wheeler, 1942) es reportada por primera vez para los dos ecosistemas y se analiza una nueva especie del genero *Drosophila* perteneciente al grupo *repleta* para Colombia colectada en el Valle del Patía.

RECOMENDACIONES

- Ø Apoyo a investigaciones en genética y evolución para lograr un mayor conocimiento de estos procesos en nuestro departamento.
- Ø Es necesario intensificar los muestreos en la zona del Valle del Patía – Nariño con el fin de lograr el conocimiento de organismos cactófilos como las especies de *Drosophila* que aun no han sido estudiadas en esta zona.
- Ø En cuanto al aislamiento postcigóticos, seria muy importante en próximos estudios realizar un conteo de huevos, larvas, pupas e individuos adultos para establecer la posibilidad de que en alguno de estas fases exista mayor mortalidad o fenómenos de incompatibilidad.
- Ø Realizar análisis morfométricos, citogenéticos y cruza interespecíficas entre *Drosophila sp* (Patía) y *D. martensis* a fin de conocer su relación taxonómica y evolutiva.
- Ø Continuar trabajos cuantitativos y cualitativos a fin de evaluar la diversidad genética de poblaciones teniendo en cuenta la megadiversidad de especies y hábitats de los ecosistemas colombianos.

BIBLIOGRAFÍA

ADAMS, Dean, ROHLF, F. James & SLICE, Dennis. Geometric Morphometrics: Ten years of progress following the "Revolution". En: Italian journal of zoology. V 71, p. 5-16. 2004.

ADAMS, Dean & ROHLF, F. James. Ecological character displacement in *Plethodon*: Biomechanical differences found from a geometric morphometric study. PNAS. State University of New York, En: Stony Brook. Vol. 97. No. 8 p. 4106-4111. 2000

ALDANA T, Juan Andrés. Efecto que Tiene la Elección de Sustrato Enriquecido con Cactus en la Tasa de Oviposición de *D. Uniseta* y en la Supervivencia de sus Distintas Etapas del Desarrollo. Tesis de Maestría. Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Bogotá, 2007

ANDRADE, Carlos, VIEIRA, R., ANANINA, G. & KLACZKO, Louis. Evolution of the male genitalia: morphological variation of the aedeagi in a natural population of *Drosophila mediopunctata*. Departamento de Biología Marinha, Universidade Federal Fluminense, Niteroi, RJ, Brazil. 2008.

ARENAS, Angélica & BETANCOURT, Luz Ángela. Análisis Electroforético de las Relaciones Evolutivas en las Especies de *Drosophila* (Díptera: Drosophilidae) del Cluster *martensis*: *D. martensis*, *D. starmeri* y *D. uniseta*. Tesis de pregrado. Programa de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad del Tolima. Ibagué, Colombia. 2002

ARNQVIST, Göran. Comparative evidence for the evolution of genitalia by sexual selection. En: Nature Vol. 393, p. 784-786. 1998

ARNQVIST, Göran. The evolution of water strider mating systems: causes and consequences of sexual conflicts. In Choe, J.C. y Crespi, B.J. (eds.), The evolution of mating systems in insects and arachnids. Cambridge Univ. Press. 1997

AYALA, Francisco y KIGER, Johon. Genética Moderna. Edt. Omega. Barcelona, España. 1984.

AZURDUY F, Huáscar. De la Biología al Mito. [Citado 6/abril/2006] Disponible en Internet: <URL: http://www.museonoelkempff.org/sitio/Informacion/Libro%20huascar/ACTO_SEGUNDO_pg.pdf>

BETANCOURT C, Luz Ángela. Aislamiento Reproductivo en Poblaciones Alopátricas Colombianas de *Drosophila starmeri*. Tesis Maestría. Universidad de los Andes, Instituto de Genética. Bogotá, Colombia. 2007.

BOND, Jason, BEAMER, David, HEDIN, Marshal & SIERWALD, Petra. Gradual evolution of male genitalia in a sibling species complex of millipedes (Diplopoda: Spirobolida: Rhinocricidae: Anadenobolus). En: Invertebrate systematics, San Diego, USA. 2003

BOOKSTEIN, L. F. Morphometric tools for landmark data Geometry and Biology. Cambridge. University press. USA. 1991.

BRISSON, J.; TEMPLETON, A. and DUNCAN, I. Population Genetics of the Developmental Gene optomotor-blind (omb) in *Drosophila polymorpha*: Evidence for a Role in Abdominal Pigmentation Variation. En: Genetics, Vol. 168 pp.1999-2010. 2004.

BREITENBACH, Michael. Experimental Genetics I. *Drosophila melanogaster* Protocol. 1997. [online]. [Salzburgo, Austria] [Citado 20/Febrero/2008] Disponible en Internet: <URL: www.sbg.ac.at/ipk/avstudio/pierofun/protocol/drosophila.pdf>

CASTAÑEDA, Heiman. Análisis Morfológico comparativo en *Drosophila starmeri* de las poblaciones de Camarones (Guajira), Santa Marta (Magdalena) y Tatacoa (Huila). Tesis Maestría. Universidad de los Andes. Bogotá, 2000.

CAPY, P. Thoracic trident pigmentation in natural populations of *Drosophila simulans*: a comparison with *D. melanogaster*. En: Heredity, Vol 61. 1988.

CONSTANTINO, Emilio. PATÍA WALLEY DRY FOREST [online]. [Florida EEUU] [Citado 20/Febrero/2006] Disponible en Internet: <URL: http://www.worldwildlife.org/wildworld/profiles/terrestrial/nt/nt0225_full.html>

COYNE, Jerry. Genetic basis of differences in genital morphology among three sibling species of *Drosophila*. En: Evolution, Vol 37. N°. 6. p. 1101-1118. 1983.

COYNE, Jerry & ORR, Allen. Speciation. Sinauer Associates, Inc., Massachusetts, USA. 2004

CURTIS, Helena & BARNES, N Sue. Biología. Capítulo 23: Sobre el origen de las especies. Ed. Panamericana, 6ed. 2000

DE POLANCO, Maria Magdalena. Análisis morfométrico de la genitalia de los machos del grupo *repleta* de *Drosophila* en dos ecosistemas semiáridos colombianos. Universidad del Tolima, Ibagué, 2004.

DE POLANCO E. Magdalena. Guía teórico-práctica para el estudio de la genética. Universidad del Tolima. 1997.

DE POLANCO, Magdalena. Morfometría del Contorno (Borde de la forma) con Series de Fourier, Paso a Paso. Ed. Atlas. Primera Edición. Ibagué, Colombia. p11. 2005

DÍAZ, G. Estadística Multivariada: Inferencia y Método. p. 17-193. Universidad Nacional de Colombia. Ed. Panamericana formas e impresos S.A. Bogotá, 2002.

DOBZHANSKY, Theodosius. Analysis of incipient reproductive isolation within a species of *Drosophila*. En: Proc. Nat. Acad. Sci. USA Vol. 72, No. 9, pp. 3638-3641. 1975.

TAXODROS: The database on Taxonomy of Drosophilidae. Search for Species subgroup: repleta [online]. (Alemania) [Citado 10/febrero/2006] Disponible en Internet: <URL: <http://taxodros.unizh.ch/search/bin/classres.php?next=FA%3ADrosophilidae%3BSF%3ADrosophilinae%3BTR%3ADrosophilini%3BST%3ADrosophilina%3BIT%3ADrosophiliti%3BGE%3ADrosophila%3BSG%3ADrosophila%3BGR%3Arepleta%3BSR%3Arepleta%3B>>

DROSOPHILA SPECIES GENOMES. [online]. (USA) [Citado 10/febrero/2006] Disponible en Internet: <URL: <http://species.flybase.net/about/Drosophila-phylogeny.gif>>

EBERHARD, William G. Sexual Selection and Animal Genitalia. Harvard University Press, Cambridge. 1985

ETGES, William. ARMELLA, Miguel. O'GRADY, P.M & HEED, B. William. Two new species of *Drosophila* (Diptera Drosophilidae) in the *repleta* group from Mexico. En : Annals of The Entomological Society of America. Vol 94 N°1, p.16-20. 2001.

FAJARDO, Gonzalo. Evidencias morfométricas (morfometría geométrica) y comportamentales sobre el posible origen híbrido de *Heliconius heurippa* (Lepidoptera: Nymphalidae). Tesis Maestría. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 2000

FLOREZ, N. Efecto del tipo de dieta en la productividad de cuatro (4) cepas de laboratorio de *Drosophila starmeri* provenientes de la localidad de camarones (guajira, 1990). Trabajo de Grado (Biólogo). Universidad del Tolima. Ibagué, 2003

FUTUYMA, Douglas. Evolutionary Biology, 3rd edition, Sinauer Associates, Inc., pp. 763. Sunderland, Massachusetts. 1998

GALINDO, Luisa Fernanda. Evaluación del estatus sistemático de *Heliconius tristero* Brower (Lepidoptera: Nymphalidae): Datos morfométricos, observaciones ecológicas y experimentos de cruces genéticos. Tesis Maestría en Biología, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia. 2004.

GILCHRIST, G; HUEY, R; BALANYÀ, J, PASCUAL, M & SERRA. A time series of evolution in action: A latitudinal cline in wing size in south american *Drosophila suboscuro*. En: Evolution Vol. 58. pp 768-780. 2004

GIBERT, Patricia, MORETEAU, Brigitte, MORETEAU, Jean-Claude & DAVID, Jean. Growth temperature and adult pigmentation in two *Drosophila* sibling species: an adaptive convergence of reaction norms in sympatric populations?. En: Evolution, Vol. 50. No. 6. pp 2346-2353. 1996.

GONZÁLEZ, Josefa; CASALS, Farran & RUIZ, Alfredo. Testing Chromosomal Phylogenies and Inversion Breakpoint Reuse in *Drosophila*. Departament de Genética y Microbiología, Universidad Autònoma de Barcelona, Bellaterra (Barcelona), España, 2006

HEY, Jody; FITCH, Walter & AYALA, Francisco. Systematics and the origin of species: An introduction. En: PNAS Vol. 102 pp. 6515-6519. New Jersey, USA. 2005

HUXLEY, Julián. La evolución: la síntesis moderna. Buenos Aires, Losada. 1943

IBARRA, Alba. Villa vieja paraíso oculto, tranquilidad y matices. Museo paleontológico. Huila, Colombia. 2000.

JARAMILLO, Nicolas & DUJARDIN, Jean-Pierre. Análisis Morfométrico: Significado Biológico del Tamaño y la Conformación. En: Memorias ECLAT IV, pp. 151-166. Universidad de los Andes, Corcas Editores Ltda., Bogotá, Colombia. 2002

JARAMILLO, Nicolás. Partición en tamaño y forma de los caracteres métricos y su interés en los estudios poblacionales aplicados a los Triatomíneos. Tesis de doctorado. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. 2000.

KING, Laura. The Evolution of Insect Mating Structures Through Sexual Selection. En: Florida Entomologist Vol 86. Nº2. USA, 2003.

KULIKOV, A.M; MELNIKOV, A.I.; GORNOSTAEV, N.G.; LAZEBNY O.E & MITROFANOV V.G.. Morphometric Analysis of Male Genitalia in Sibling Species of *Drosophila virilis* Sturt. En: Russian Journal of Genetics, Vol. 40, No. 2, pp. 125–138. Russia, 2004

LA ESPECIE Y LOS MECANISMOS DE AISLAMIENTO REPRODUCTIVO [online]. [México]. 07/May/2004 [Citado 21/Mar/2006] Disponible en Internet: <URL: <http://evolutionibus.eresmas.net/aislamiento.html>>

LAURIE, Cathy, TRUE, John y LIU, Jianjun. An introgression Analysis of quantitative trait loci that contribute to a morphological difference between *Drosophila simulans* and *D. mauritiana*. En: Genetics. Vol. 145. p. 339-348. 1997.

LEVINE, Louis. & Schwartz, Norman. Laboratory exercises in genetics. C. V. Mosby, Saint Louis. 1973. [online] [Citado 21/Mar/2006] Disponible en Internet: <URL: <http://chuma.cas.usf.edu/~garey/labmanfall00.pdf>>

LIU, Jianjun. MERCER, J. STAM, L & LAURIE, Cathy. Genetic analysis of a morphological shape difference in the male genitalia of *Drosophila simulans* and *D. mauritiana*. En: Genetics. Vol. 142. p 1129-1145. 1996.

MANFRIN M., DE BRITO R. & SENE, F. Systematics and Evolution of the *Drosophila buzzatii* (Diptera: Drosophilidae) Cluster Using mtDNA. En: Journal Annals of the Entomological Society of America. Vol 94. p. 333-346. 2001

MAYR, Ernest. Animal Species and Evolution. Harvard University Press. New York, USA. 1963.

MAYR, Ernest. Systematics and the Origin of Species. Columbia University Press, New York, USA. 1942

MEJIA, Luis. Características y ciclo de vida de la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*. Laboratorios de Genética General. [Citado 5/mayo/2008] Disponible en Internet: <URL: <http://cete.iespana.es/genetica/pragen01.pdf>>

MORAN, Laurence. ¿Que es evolución?. [Citado 5/mayo/2008] Disponible en Internet: <URL:<http://www.sindioses.org/cienciaorigenes/queesevolucion.html>>. 1993

ORDOÑEZ, Mariana; ARENA, Angelica; BETANCOURT, Ángela. & DE POLANCO, Magdalena. Análisis electroforético de las relaciones evolutivas en las especies de *Drosophila* (Díptera: Drosophilidae) del cluster *martensis*: *D. martensis*, *D. starmeri* y *D. uniseta*. En : Revista colombiana de entomología. Vol. 30 p. 65-74. 2004

PEREZ, Carolina. Selección Sexual y Cortejo Entre Poblaciones Colombianas de *Drosophila starmeri*. Trabajo de Grado (Biólogo). Universidad de los Andes. Bogotá, 2002.

PRADA, Carlos Fernando, DE POLANCO, Maria Magdalena y Ordoñez, Marina. Citogenética de *Drosophila starmeri* (Díptera: Drosophilidae) de dos ecosistemas áridos aislados colombianos. En: Revista colombiana de entomología. Vol. 29. No.1. p. 83-88. 2003.

PRIETO, Rodrigo. Análisis morfométrico (tradicional y geométrico) de las alas y los patrones de pigmentación dorsal de cuatro especies del grupo *repleta*. Tesis de Maestría Biología, Universidad del Tolima, Ibagué Colombia, 2006

RAMOS, Patricia. Manual de laboratorio de Genética para *Drosophila melanogaster*. Edit. Mcgraw-Hill, 1993.

RHODES, Chris. Research Focus: Sexual Selection, Speciation & *Drosophila* Genitalia. [online]. (USA) [Citado 06/diciembre/2005] Disponible en Internet: <URL: <http://biology.syr.edu/graduatestudents/rhodes/index.html>>

ROBERTSON, Hugh & PATERSON, Hugh. Mate Recognition and Mechanical Isolation in *Enallagma damselflies* (Odonata: Coenagrionidae) En: Journal Evolution, Vol. 36, No. 2 p. 243-250. 1982

ROHLF, James & MARCUS, Leslie. A revolution in morphometrics. Trends in ecology and evolution Vol 8 N° 4. p. 129-132. 1993

ROHLF, F. James. Shape statistics: procrustes superimposition and tangent spaces. En: Journal of classification Vol. 16. p.197-223. 1999.

ROJAS M. Adriana. P. Análisis del Aislamiento reproductivo en las especies cactofílicas del Cluster *martensis*, en dos regiones Colombianas (Costa Norte y Desierto de la Tatacoa). Tesis Maestría. Universidad de los Andes, Instituto de Genética. Bogotá, 2001.

ROLDAN, G. Guía para el estudio de los macroinvertebrados acuáticos del departamento de Antioquia. Universidad de Antioquia. Edit. Impreadas Presencia S.A. p. 171. Bogotá, 1996.

RUIZ, Alfredo & FONTDEVILA, Antonio. Ecología y evolución del grupo *Mulleri* de *Drosophila* en Venezuela y Colombia. En : Acta científica venezolana. Vol. 32, p. 338-345. 1981.

SANZ DE LA ROSA, M., MORENO, A., BUSTOS, E & ROSSI,. Nuevo Medio de Cultivo para las Especies *Drosophila starmeri*, *D. uniseta*, *D. martensis* y *D. venezolana* del Grupo *repleta* del Cluster *martensis* Recientemente Colectadas en los Desiertos de la Guajira Colombiana. En: Evolución Biológica. Vol II. Publicado por ASIBE. 1988.

SOTA, Teiji. & KUBOTA, Kohei. Genital lock and key as a selective agent against hybridization. En: *Evolution*; Vol. 52. N°5. p. 1507 – 1513. 1998

SOTO, Ignacio; CARREIRA, Valeria; FANARA, Juan & HASSON, Esteban. Evolution of male genitalia: environmental and genetic factors affect genital morphology in two *Drosophila* sibling species and their hybrids En: *BMC Evolutionary Biology*. Vol 7. p. 77. 2007

SOTO, Ignacio, MANFRIN, M. H. & HASSON, Esteban. Host-dependent phenotypic plasticity of aedeagus morphology in a pair of cactophilic sibling *Drosophila* species of the *repleta* group (Diptera, Drosophilidae). En: *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*. 2008 a

SOTO, Ignacio; CARREIRA, Valeria & HASSON, Esteban. Wing morphology and fluctuating asymmetry are dependent of the host plant in cactophilic *Drosophila*. En: *Journal of Evolutionary Biology* Vol. 21 p. 598-609. 2008 b

SOTO, Ignacio. Evolución morfológica asociada al proceso de divergencia entre especies: el cluster *Drosophila buzzatii* (Diptera, Drosophilidae). Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires. Departamento de Ecología, Genética y Evolución. Buenos Aires, Argentina. 2008 c

STRINCKBERGER, Monroe. Experiments in genetics with *Drosophila*. John Wiley, New York, USA. 1962.

TIDON, S. & SENE, R. *Drosophila seriema*. n. sp: new member of the *Drosophila serido* (Diptera Drosophilidae) superspecies taxon, En: *Annals of Entomological Society of America*. Vol 88 No.2 p.139-142. 1995

UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA. ECOLOGIA Y ESPECIACIÓN [online], [Medellín - Colombia]. 07/May/2004 [Citado 18/Feb/2006] Disponible en Internet: <URL: http://docencia.udea.edu.co/cen/mecanismos-evolucion/pdf_files/especiacion/3.ecolog%EDa%20y%20especiaci%F3n.pdf>.

VILELA RIBEIRO, Carlos. A revision of the *Drosophila repleta* species group (Diptera, Drosophilidae). En: *Revista Brasileira de Entomología*. Vol 27 N°1. Sao Paulo, Brasil. 1983

WASSERMAN, M. & RUIZ. Evolutionary cytogenetics of the *Drosophila buzzatii* species complex. En: *Heredity*. Vol. 70 p. 582-596. 1993

WASSERMAN, Marvin. Cytological Evolution in the *Drosophila repleta* Species Group. En: *Ecological Genetics and Evolution*. p. 49-64.1982 a.

WASSERMAN, Marvin. Evolution and especiationin selected groups: the *repleta* species group. En: The genetics and biology of *Drosophila* . Vol. 3b. p.61-139. 1982 b.

WASSERMAN, Marvin. & WILSON, F. IX. Further studies on the *repleta* group. Universidad de Texas. Publ. 5721 p.132-156. USA. 1957.

ANEXOS

PARA CRUCES INTERPOBLACIONALES:

Anexo A. Contraste de Kruskal-Wallis para la descendencia (machos y hembras) según Tipo de cruce.

CRUCE	Tamaño muestral	Para Hembras	Para Machos
		Rango Promedio	Rango Promedio
A1 x A1	3	25,3333	10,5
A1 x A2	3	37,0	37,1667
A2 x A2	3	22,0	19,8333
Estándar (Patía)	5	40,4	36,3
Estándar (Tatacoa)	5	29,2	33,1
H A1 x M Patía	3	19,3333	19,0
H A1 x M Tatacoa	3	34,3333	41,16667
H A2 x M Patía	3	18,83333	22,3333
H A2 x M Tatacoa	3	34,6667	31,0
H Patía x M Tatacoa	5	37,7	30,5
H Tatacoa x M Patía	5	28,7	25,00
M A1 x H Patía	3	8,3333	12,6667
M A1 x H Tatacoa	3	17,6667	20,3333
M A2 x H Patía	3	12,5	13,8333
M A2 x H Tatacoa	3	20,3333	41,0
	Estadístico	19,677	19,9679
	P-valor	0,140659	0,131157

Anexo B. Contraste Múltiple de Rango para número de Hembras según el Tipo de Cruce. Método: 95,0 porcentaje Duncan

CRUCE	Frec.	Media	Grupos homogéneos
M A1 x H Patía	3	401,0	X
A2 x A2	3	401,667	XX
M A2 x H Patía	3	406,0	XXX
M A1 x H Tatacoa	3	409,0	XXX
H A1 x M Patía	3	410,0	XXX
H A2 x M Patía	3	410,333	XXX
M A2 x H Tatacoa	3	411,333	XXX
A1 x A1	3	416,333	XXX
H Tatacoa x M Patía	5	419,0	XXX
Estándar Tatacoa	5	419,8	XXX
H A1 x M Tatacoa	3	423,0	XXX
H A2 x M Tatacoa	3	423,333	XXX
A1 x A2	3	425,0	XXX
H Patía x M Tatacoa	5	426,6	XX
Estándar Patía	5	428,2	X
Contraste			
			Diferencias
A1 x A1 - A1 x A2			-8,66667
A1 x A1 - A2 x A2			14,6667
A1 x A1 - Estándar Patía			-11,8667
A1 x A1 - Estándar Tatacoa			-3,46667
A1 x A1 - H A1 x M Patía			6,33333
A1 x A1 - H A1 x M Tatacoa			-6,66667
A1 x A1 - H A2 x M Patía			6,0
A1 x A1 - H A2 x M Tatacoa			-7,0
A1 x A1 - H Patía x M Tatacoa			-10,2667
A1 x A1 - H Tatacoa x M Patía			-2,66667
A1 x A1 - M A1 x H Patía			15,3333
A1 x A1 - M A1 x H Tatacoa			7,33333
A1 x A1 - M A2 x H Patía			10,3333
A1 x A1 - M A2 x H Tatacoa			5,0
A1 x A2 - A2 x A2			23,3333
A1 x A2 - Estándar Patía			-3,2
A1 x A2 - Estándar Tatacoa			5,2
A1 x A2 - H A1 x M Patía			15,0
A1 x A2 - H A1 x M Tatacoa			2,0
A1 x A2 - H A2 x M Patía			14,6667
A1 x A2 - H A2 x M Tatacoa			1,66667
A1 x A2 - H Patía x M Tatacoa			-1,6
A1 x A2 - H Tatacoa x M Patía			6,0
A1 x A2 - M A1 x H Patía			24,0
A1 x A2 - M A1 x H Tatacoa			16,0

A1 x A2 - M A2 x H Patía	19,0
A1 x A2 - M A2 x H Tatacoa	13,6667
A2 x A2 - Estándar Patía	*-26,5333
A2 x A2 - Estándar Tatacoa	-18,1333
A2 x A2 - H A1 x M Patía	-8,33333
A2 x A2 - H A1 x M Tatacoa	-21,3333
A2 x A2 - H A2 x M Patía	-8,66667
A2 x A2 - H A2 x M Tatacoa	-21,6667
A2 x A2 - H Patía x M Tatacoa	-24,9333
A2 x A2 - H Tatacoa x M Patía	-17,3333
A2 x A2 - M A1 x H Patía	0,666667
A2 x A2 - M A1 x H Tatacoa	-7,33333
A2 x A2 - M A2 x H Patía	-4,33333
A2 x A2 - M A2 x H Tatacoa	-9,66667
Estándar Patía - Estándar Tatacoa	8,4
Estándar Patía - H A1 x M Patía	18,2
Estándar Patía - H A1 x M Tatacoa	5,2
Estándar Patía - H A2 x M Patía	17,8667
Estándar Patía - H A2 x M Tatacoa	4,86667
Estándar Patía - H Patía x M Tatacoa	1,6
Estándar Patía - H Tatacoa x M Patía	9,2
Estándar Patía - M A1 x H Patía	*27,2
Estándar Patía - M A1 x H Tatacoa	19,2
Estándar Patía - M A2 x H Patía	22,2
Estándar Patía - M A2 x H Tatacoa	16,8667
Estándar Tatacoa - H A1 x M Patía	9,8
Estándar Tatacoa - H A1 x M Tatacoa	-3,2
Estándar Tatacoa - H A2 x M Patía	9,46667
Estándar Tatacoa - H A2 x M Tatacoa	-3,53333
Estándar Tatacoa - H Patía x M Tatacoa	-6,8
Estándar Tatacoa - H Tatacoa x M Patía	0,8
Estándar Tatacoa - M A1 x H Patía	18,8
Estándar Tatacoa - M A1 x H Tatacoa	10,8
Estándar Tatacoa - M A2 x H Patía	13,8
Estándar Tatacoa - M A2 x H Tatacoa	8,46667
H A1 x M Patía - H A1 x M Tatacoa	-13,0
H A1 x M Patía - H A2 x M Patía	-0,333333
H A1 x M Patía - H A2 x M Tatacoa	-13,3333
H A1 x M Patía - H Patía x M Tatacoa	-16,6
H A1 x M Patía - H Tatacoa x M Patía	-9,0
H A1 x M Patía - M A1 x H Patía	9,0
H A1 x M Patía - M A1 x H Tatacoa	1,0
H A1 x M Patía - M A2 x H Patía	4,0
H A1 x M Patía - M A2 x H Tatacoa	-1,33333
H A1 x M Tatacoa - H A2 x M Patía	12,6667
H A1 x M Tatacoa - H A2 x M Tatacoa	-0,333333
H A1 x M Tatacoa - H Patía x M Tatacoa	-3,6

H A1 x M Tatacoa - H Tatacoa x M Patía	4,0
H A1 x M Tatacoa - M A1 x H Patía	22,0
H A1 x M Tatacoa - M A1 x H Tatacoa	14,0
H A1 x M Tatacoa - M A2 x H Patía	17,0
H A1 x M Tatacoa - M A2 x H Tatacoa	11,6667
H A2 x M Patía - H A2 x M Tatacoa	-13,0
H A2 x M Patía - H Patía x M Tatacoa	-16,2667
H A2 x M Patía - H Tatacoa x M Patía	-8,66667
H A2 x M Patía - M A1 x H Patía	9,33333
H A2 x M Patía - M A1 x H Tatacoa	1,33333
H A2 x M Patía - M A2 x H Patía	4,33333
H A2 x M Patía - M A2 x H Tatacoa	-1,0
H A2 x M Tatacoa - H Patía x M Tatacoa	-3,26667
H A2 x M Tatacoa - H Tatacoa x M Patía	4,33333
H A2 x M Tatacoa - M A1 x H Patía	22,3333
H A2 x M Tatacoa - M A1 x H Tatacoa	14,3333
H A2 x M Tatacoa - M A2 x H Patía	17,3333
H A2 x M Tatacoa - M A2 x H Tatacoa	12,0
H Patía x M Tatacoa - H Tatacoa x M Patía	7,6
H Patía x M Tatacoa - M A1 x H Patía	*25,6
H Patía x M Tatacoa - M A1 x H Tatacoa	17,6
H Patía x M Tatacoa - M A2 x H Patía	20,6
H Patía x M Tatacoa - M A2 x H Tatacoa	15,2667
H Tatacoa x M Patía - M A1 x H Patía	18,0
H Tatacoa x M Patía - M A1 x H Tatacoa	10,0
H Tatacoa x M Patía - M A2 x H Patía	13,0
H Tatacoa x M Patía - M A2 x H Tatacoa	7,66667
M A1 x H Patía - M A1 x H Tatacoa	-8,0
M A1 x H Patía - M A2 x H Patía	-5,0
M A1 x H Patía - M A2 x H Tatacoa	-10,3333
M A1 x H Tatacoa - M A2 x H Patía	3,0
M A1 x H Tatacoa - M A2 x H Tatacoa	-2,33333
M A2 x H Patía - M A2 x H Tatacoa	-5,33333
* indica una diferencia significativa.	

Anexo C. Contraste Múltiple de Rango para número de Machos según el Tipo de Cruce. Método: 95,0 porcentaje Duncan

CRUCE	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A1 x A1	3	394,667	X
M A1 x H Patía	3	394,667	X
M A2 x H Patía	3	395,667	XX
H A1 x M Patía	3	399,333	XXX
M A1 x H Tatacoa	3	400,333	XXX
A2 x A2	3	400,667	XXX
H Tatacoa x M Patía	5	401,8	XXX
H A2 x M Patía	3	402,0	XXX
H Patía x M Tatacoa	5	406,2	XXX
H A2 x M Tatacoa	3	406,333	XXX
Estándar Tatacoa	5	409,0	XXX
A1 x A2	3	411,667	XXX
M A2 x H Tatacoa	3	413,333	XX
H A1 x M Tatacoa	3	414,0	X
Estándar Patía	5	415,2	X
Contraste			
			Diferencias
A1 x A1 - A1 x A2			-17,0
A1 x A1 - A2 x A2			-6,0
A1 x A1 - Estándar Patía			*-20,5333
A1 x A1 - Estándar Tatacoa			-14,3333
A1 x A1 - H A1 x M Patía			-4,66667
A1 x A1 - H A1 x M Tatacoa			*-19,3333
A1 x A1 - H A2 x M Patía			-7,33333
A1 x A1 - H A2 x M Tatacoa			-11,6667
A1 x A1 - H Patía x M Tatacoa			-11,5333
A1 x A1 - H Tatacoa x M Patía			-7,13333
A1 x A1 - M A1 x H Patía			0,0
A1 x A1 - M A1 x H Tatacoa			-5,66667
A1 x A1 - M A2 x H Patía			-1,0
A1 x A1 - M A2 x H Tatacoa			*-18,6667
A1 x A2 - A2 x A2			11,0
A1 x A2 - Estándar Patía			-3,53333
A1 x A2 - Estándar Tatacoa			2,66667
A1 x A2 - H A1 x M Patía			12,3333
A1 x A2 - H A1 x M Tatacoa			-2,33333
A1 x A2 - H A2 x M Patía			9,66667
A1 x A2 - H A2 x M Tatacoa			5,33333
A1 x A2 - H Patía x M Tatacoa			5,46667
A1 x A2 - H Tatacoa x M Patía			9,86667
A1 x A2 - M A1 x H Patía			17,0

A1 x A2 - M A1 x H Tatacoa	11,3333
A1 x A2 - M A2 x H Patía	16,0
A1 x A2 - M A2 x H Tatacoa	-1,66667
A2 x A2 - Estándar Patía	-14,5333
A2 x A2 - Estándar Tatacoa	-8,33333
A2 x A2 - H A1 x M Patía	1,33333
A2 x A2 - H A1 x M Tatacoa	-13,3333
A2 x A2 - H A2 x M Patía	-1,33333
A2 x A2 - H A2 x M Tatacoa	-5,66667
A2 x A2 - H Patía x M Tatacoa	-5,53333
A2 x A2 - H Tatacoa x M Patía	-1,13333
A2 x A2 - M A1 x H Patía	6,0
A2 x A2 - M A1 x H Tatacoa	0,333333
A2 x A2 - M A2 x H Patía	5,0
A2 x A2 - M A2 x H Tatacoa	-12,6667
Estándar Patía - Estándar Tatacoa	6,2
Estándar Patía - H A1 x M Patía	15,8667
Estándar Patía - H A1 x M Tatacoa	1,2
Estándar Patía - H A2 x M Patía	13,2
Estándar Patía - H A2 x M Tatacoa	8,86667
Estándar Patía - H Patía x M Tatacoa	9,0
Estándar Patía - H Tatacoa x M Patía	13,4
Estándar Patía - M A1 x H Patía	*20,5333
Estándar Patía - M A1 x H Tatacoa	14,8667
Estándar Patía - M A2 x H Patía	*19,5333
Estándar Patía - M A2 x H Tatacoa	1,86667
Estándar Tatacoa - H A1 x M Patía	9,66667
Estándar Tatacoa - H A1 x M Tatacoa	-5,0
Estándar Tatacoa - H A2 x M Patía	7,0
Estándar Tatacoa - H A2 x M Tatacoa	2,66667
Estándar Tatacoa - H Patía x M Tatacoa	2,8
Estándar Tatacoa - H Tatacoa x M Patía	7,2
Estándar Tatacoa - M A1 x H Patía	14,3333
Estándar Tatacoa - M A1 x H Tatacoa	8,66667
Estándar Tatacoa - M A2 x H Patía	13,3333
Estándar Tatacoa - M A2 x H Tatacoa	-4,33333
H A1 x M Patía - H A1 x M Tatacoa	-14,6667
H A1 x M Patía - H A2 x M Patía	-2,66667
H A1 x M Patía - H A2 x M Tatacoa	-7,0
H A1 x M Patía - H Patía x M Tatacoa	-6,86667
H A1 x M Patía - H Tatacoa x M Patía	-2,46667
H A1 x M Patía - M A1 x H Patía	4,66667
H A1 x M Patía - M A1 x H Tatacoa	-1,0
H A1 x M Patía - M A2 x H Patía	3,66667
H A1 x M Patía - M A2 x H Tatacoa	-14,0
H A1 x M Tatacoa - H A2 x M Patía	12,0
H A1 x M Tatacoa - H A2 x M Tatacoa	7,66667

H A1 x M Tatacoa - H Patía x M Tatacoa	7,8
H A1 x M Tatacoa - H Tatacoa x M Patía	12,2
H A1 x M Tatacoa - M A1 x H Patía	*19,3333
H A1 x M Tatacoa - M A1 x H Tatacoa	13,6667
H A1 x M Tatacoa - M A2 x H Patía	*18,3333
H A1 x M Tatacoa - M A2 x H Tatacoa	0,666667
H A2 x M Patía - H A2 x M Tatacoa	-4,33333
H A2 x M Patía - H Patía x M Tatacoa	-4,2
H A2 x M Patía - H Tatacoa x M Patía	0,2
H A2 x M Patía - M A1 x H Patía	7,33333
H A2 x M Patía - M A1 x H Tatacoa	1,66667
H A2 x M Patía - M A2 x H Patía	6,33333
H A2 x M Patía - M A2 x H Tatacoa	-11,3333
H A2 x M Tatacoa - H Patía x M Tatacoa	0,133333
H A2 x M Tatacoa - H Tatacoa x M Patía	4,53333
H A2 x M Tatacoa - M A1 x H Patía	11,6667
H A2 x M Tatacoa - M A1 x H Tatacoa	6,0
H A2 x M Tatacoa - M A2 x H Patía	10,6667
H A2 x M Tatacoa - M A2 x H Tatacoa	-7,0
H Patía x M Tatacoa - H Tatacoa x M Patía	4,4
H Patía x M Tatacoa - M A1 x H Patía	11,5333
H Patía x M Tatacoa - M A1 x H Tatacoa	5,86667
H Patía x M Tatacoa - M A2 x H Patía	10,5333
H Patía x M Tatacoa - M A2 x H Tatacoa	-7,13333
H Tatacoa x M Patía - M A1 x H Patía	7,13333
H Tatacoa x M Patía - M A1 x H Tatacoa	1,46667
H Tatacoa x M Patía - M A2 x H Patía	6,13333
H Tatacoa x M Patía - M A2 x H Tatacoa	-11,5333
M A1 x H Patía - M A1 x H Tatacoa	-5,66667
M A1 x H Patía - M A2 x H Patía	-1,0
M A1 x H Patía - M A2 x H Tatacoa	*-18,6667
M A1 x H Tatacoa - M A2 x H Patía	4,66667
M A1 x H Tatacoa - M A2 x H Tatacoa	-13,0
M A2 x H Patía - M A2 x H Tatacoa	-17,6667
* indica una diferencia significativa.	

PARA CERDAS EN EL CLASPER:

Se comprobó la normalidad en los datos mediante la prueba de Shapiro Wilk en Past 1.8:

Anexo D. Prueba de Shapiro Wilk para verificar normalidad en los datos de conteo de claspers.

	Clasper Primario						Clasper Secundario	
	<i>D. mercatorum</i> (Patía)	<i>D. mercatorum</i> (Tatacoa)	<i>D. uniseta</i> (Tatacoa)	<i>D. martensis</i> (Tatacoa)	<i>D. aldrichi</i> (Patía)	<i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)	<i>D. aldrichi</i> (Patía)	<i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)
N	20	20	20	20	20	20	20	20
W	0,6265	0,6375	0,6411	0,8117	0,63785	0,8324	0,8117	0,7543
p (normal)	5,60E-6	7,39E-6	8,10E-6	0,001297	7,39E-6	0,002746	0,001297	0,0001942

Anexo E. Contraste de Kruskal-Wallis para Clasper Primario según Especie

ESPECIE	Tamaño muestral	Rango Promedio
<i>D. aldrichi</i> (Patía)	20	32,15
<i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)	20	74,6
<i>D. martensis</i> (Tatacoa)	20	101,85
<i>D. mercatorum</i> (Patía)	20	29,075
<i>D. mercatorum</i> (Tatacoa)	20	30,35
<i>D. uniseta</i> (Tatacoa)	20	94,975
Estadístico = 97,6755		P-valor = 0,0

Anexo F. Contraste Múltiple de Rango para número de cerdas del Clasper Primario según Especie. Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey

ESPECIE	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
<i>D. mercatorum</i> (Patía)	20	10,4	X
<i>D. mercatorum</i> (Tatacoa)	20	10,45	X
<i>D. aldrichi</i> (Patía)	20	10,55	X
<i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)	20	12,5	X
<i>D. uniseta</i> (Tatacoa)	20	13,5	X
<i>D. martensis</i> (Tatacoa)	20	13,9	X
Contraste			
Contraste		Diferencias	+/- Límites
<i>D. mercatorum</i> (Patía)	<i>D. mercatorum</i> (Tatacoa)	-0,05	0,532681
<i>D. mercatorum</i> (Patía)	<i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)	*-2,1	0,532681
<i>D. mercatorum</i> (Patía)	<i>D. aldrichi</i> (Patía)	-0,15	0,532681
<i>D. mercatorum</i> (Patía)	<i>D. uniseta</i> (Tatacoa)	*-3,1	0,532681
<i>D. mercatorum</i> (Patía)	<i>D. martensis</i> (Tatacoa)	*-3,5	0,532681
<i>D. mercatorum</i> (Tatacoa)	<i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)	*-2,05	0,532681
<i>D. mercatorum</i> (Tatacoa)	<i>D. aldrichi</i> (Patía)	-0,1	0,532681
<i>D. mercatorum</i> (Tatacoa)	<i>D. uniseta</i> (Tatacoa)	*-3,05	0,532681
<i>D. mercatorum</i> (Tatacoa)	<i>D. martensis</i> (Tatacoa)	*-3,45	0,532681
<i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)	<i>D. aldrichi</i> (Patía)	*1,95	0,532681
<i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)	<i>D. uniseta</i> (Tatacoa)	*-1,0	0,532681
<i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)	<i>D. martensis</i> (Tatacoa)	*-1,4	0,532681
<i>D. aldrichi</i> (Patía)	<i>D. uniseta</i> (Tatacoa)	*-2,95	0,532681
<i>D. aldrichi</i> (Patía)	<i>D. martensis</i> (Tatacoa)	*-3,35	0,532681
<i>D. uniseta</i> (Tatacoa)	<i>D. martensis</i> (Tatacoa)	-0,4	0,532681
* indica una diferencia significativa.			

Anexo G. Prueba U de Mann Whitney para clasper primario de *D. mercatorum*

	<i>D. mercatorum</i> (Patía vs Tatacoa)
N	20
T=Ub	190
p (same)	0,7972

Anexo H. Prueba U de Mann Whitney para *D. sp* (Patía) vs *D. aldrichi* (Tatacoa)

	Clasper primario	Clasper secundario
N	20	20
T=Ub	5,5	0
p (same)	1,54E-07	6,80E-08

PARA TAMAÑO DEL AEDEAGUS:

Anexo I. Shapiro Wilk para tamaño del aedeagus de todas las especies.

	<i>D. mercatorum</i> (Patía)	<i>D. mercatorum</i> (Tatacoa)	<i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)	<i>D. sp</i> (Patía)	<i>D. uniseta</i> (Tatacoa)	<i>D. martensis</i> (Tatacoa)
N	20	20	20	20	20	20
W	0,9357	0,943	0,9636	0,9601	0,9363	0,9696
p (normal)	0,1985	0,2734	0,6172	0,5453	0,2039	0,7464

Anexo J. Contraste de Kruskal-Wallis para tamaño del aedeagus según especie

ESPECIE	Tamaño muestral	Rango Promedio
<i>D. sp</i> (Patía)	20	90,1
<i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)	20	110,5
<i>D. martensis</i> (Tatacoa)	20	70,325
<i>D. mercatorum</i> (Patía)	20	46,975
<i>D. mercatorum</i> (Tatacoa)	20	34,6
<i>D. uniseta</i> (Tatacoa)	20	10,5
Estadístico = 112,836		P-valor = 1,02E-22

Anexo K. Contraste Múltiple de Rango para tamaño del aedeagus según Especie. Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey

ESPECIE	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
<i>D. uniseta</i> (Tatacoa)	20	0,221328	X
<i>D. mercatorum</i> (Tatacoa)	20	0,305172	X
<i>D. mercatorum</i> (Patía)	20	0,320256	X
<i>D. martensis</i> (Tatacoa)	20	0,352284	X
<i>D. sp</i> (Patía)	20	0,389148	X
<i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)	20	0,528648	X
Contraste			
Contraste		Diferencias	+/- Límites
<i>D. sp</i> (Patía)	<i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)	*-0,1395	0,0112794
<i>D. sp</i> (Patía)	<i>D. martensis</i> (Tatacoa)	*0,036864	
<i>D. sp</i> (Patía)	<i>D. mercatorum</i> (Patía)	*0,068892	0,0112794
<i>D. sp</i> (Patía)	<i>D. mercatorum</i> (Tatacoa)	*0,083976	0,0112794
<i>D. sp</i> (Patía)	<i>D. uniseta</i> (Tatacoa)	*0,16782	0,0112794
<i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)	<i>D. martensis</i> (Tatacoa)	*0,176364	0,0112794
<i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)	<i>D. mercatorum</i> (Patía)	*0,208392	0,0112794
<i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)	<i>D. mercatorum</i> (Tatacoa)	*0,223476	0,0112794
<i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)	<i>D. uniseta</i> (Tatacoa)	*0,30732	0,0112794
<i>D. martensis</i> (Tatacoa)	<i>D. mercatorum</i> (Patía)	*0,032028	0,0112794
<i>D. martensis</i> (Tatacoa)	<i>D. mercatorum</i> (Tatacoa)	*0,047112	0,0112794
<i>D. martensis</i> (Tatacoa)	<i>D. uniseta</i> (Tatacoa)	*0,130956	0,0112794
<i>D. mercatorum</i> (Patía)	<i>D. mercatorum</i> (Tatacoa)	*0,015084	0,0112794
<i>D. mercatorum</i> (Patía)	<i>D. uniseta</i> (Tatacoa)	*0,098928	0,0112794
<i>D. mercatorum</i> (Tatacoa)	<i>D. uniseta</i> (Tatacoa)	*0,083844	0,0112794
* indica una diferencia significativa.			

Anexo L. Prueba U de Mann Withney para tamaño del aedeagus entre poblaciones de Tatacoa y Patía.

	<i>D. mercatorum</i> (Patía vs Tatacoa)	<i>Drosophila sp</i> (Patía) vs <i>D. aldrichi</i> (Tatacoa)
N	20	20
T=Ub	81,5	0
p (same)	0,001413	6,80E-08

PARA TAMAÑO DEL ALA:

Anexo M. Shapiro Wilk para tamaño del ala de *D. mercatorum*.

	Machos (Tatacoa)	Hembras (Tatacoa)	Machos (Patía)	Hembras (Patía)
N	15	15	15	15
W	0,8952	0,9485	0,9457	0,8982
P (normal)	0,0687	0,5018	0,4601	0,08935

Anexo N. Contraste de Kruskal-Wallis para TAMAÑO del ala de *Drosophila mercatorum* según sexo y población.

ESPECIE	Tamaño muestral	Rango Promedio
Machos (Tatacoa)	15	21,0667
Hembras (Tatacoa)	15	45,4667
Machos (Patía)	15	18,3333
Hembras (Patía)	15	37,1333
Estadístico = 24,84		P-valor = 1,67E-05

Anexo O. Contraste Múltiple de Rango para tamaño del ala (milímetros) de *D. mercatorum* según sexo y población. Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey

NOMBRE	Frec.	Media	Grupos homogéneos
Machos (Patía)	15	2,18222	X
Machos (Tatacoa)	15	2,21945	X
Hembras (Patía)	15	2,34062	X
Hembras (Tatacoa)	15	2,43421	X
Contraste			
		Diferencias	+/- Límites
Hembras (Patía)- Hembras (Tatacoa)		-0,093588	0,117544
Hembras (Patía)- Machos (Patía)		*0,1584	0,117544
Hembras (Patía)- Machos (Tatacoa)		*0,121179	0,117544
Hembras (Tatacoa)- Machos (Patía)		*0,251988	0,117544
Hembras (Tatacoa)- Machos (Tatacoa)		*0,214767	0,117544
Machos (Patía)- Machos (Tatacoa)		-0,0372213	0,117544
* indica una diferencia significativa.			

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

	Macho (Tatacoa) vs Hembra (Tatacoa)	Macho (Patía) vs Hembra (Patía)	Macho (Patía) vs Hembra (Tatacoa)	Macho (Tatacoa) vs Hembra (Patía)	Macho (Patía) vs Macho (Tatacoa)	Hembra (Patía) vs Hembra (Tatacoa)
N	15	15	15	15	15	15
T=Ub	16	44	22	44	89	75
p (same)	6,84E-05	0,004795	0,0001892	0,004795	0,3401	0,1249

Anexo Q. Correlaciones Canónicas para tamaño del ala y el aedeago de *D. mercatorum*

	Nº	Autovalor	Correlación Canónica	Wilks Lambda	Chi-Cuadrado	G.l.	P-Valor
Tatacoa	1	0,807407	0,89558	0,192593	28,8256	1	7,44E-08
Patía	1	0,431178	0,656641	0,568822	9,87327	1	0,001661
Número de casos completos: 20 por población. 95% de nivel de confianza.							