

# Moscas y cactus: un sistema-modelo para el estudio del papel de los saltos de planta hospedadora en la diversificación

*Esteban Hasson\* y Nicolás Nahuel Moreyra, Instituto de Ecología, Genética y Evolución. Universidad de Buenos Aires/CONICET, Departamento de Ecología, Genética y Evolución, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales*  
[ehasson@ege.fcen.uba.ar](mailto:ehasson@ege.fcen.uba.ar)/[estebanhasson@gmail.com](mailto:estebanhasson@gmail.com)

Los Insectos son el grupo animal más diverso con 1 millón de especies descritas y, al menos, 5 millones por describir. Su diversificación está relacionada con la adaptación a nuevos ambientes. El registro fósil y las filogenias moleculares apuntan a que más de la mitad de las familias de insectos recientes aparecieron en el Cretácico y que su diversificación está conectada con la explotación de los nuevos nichos abiertos por la radiación de las Angiospermas (plantas superiores) hace 20-30 Ma (Grimaldi & Engel 2005). Las evidencias que apoyan esta hipótesis son: i) mayor riqueza de especies en grupos de herbívoros especialistas que en taxones relacionados no herbívoros y ii) el vínculo entre los cambios de planta hospedadora y la especiación.

Para muchos insectos la planta hospedadora es el factor ambiental más importante porque proporciona una fuente de alimento, un sitio donde aparearse y donde poner huevos (ovoposición) (Schoonhoven et al 2005). La historia de esta íntima relación se ha descrito como un modelo de coevolución antagonista: las plantas desarrollaron la capacidad de sintetizar una gran variedad de defensas químicas y los insectos respondieron con mecanismos de detoxificación.

Los saltos de planta hospedadora suponen nuevas fuentes de alimento, nuevos ambientes de apareamiento, parasitoides, microfloras y entornos químicamente diversos, imponiendo presiones de selección

*“Para muchos insectos la planta hospedadora es el factor ambiental más importante porque proporciona una fuente de alimento, un sitio donde aparearse y donde poner huevos”*

divergentes respecto de las ancestrales. Esto podría desencadenar cambios fenotípicos y genéticos, promoviendo la divergencia adaptativa, la especialización y, eventualmente, la evolución de aislamiento reproductivo y la especiación (Tilmon 2008; Nosil 2012). Asimismo, es esperable que los saltos aceleren la evolución de caracteres asociados con el desempeño en nuevos hospedadores, el comportamiento de ovoposición y sistemas sensoriales (olfato y gusto) involucrados en la búsqueda de recursos.

Si bien la selección natural se reconoce como el mecanismo central del cambio evolutivo, no está claro hasta qué punto impulsa la divergencia fenotípica y genética entre especies. En este contexto, los insectos herbívoros o asociados a plantas durante su ciclo de vida proveen modelos de elección para investigar el papel de los saltos de hospedador y la selección divergente en la divergencia y la especiación.

## Drosophila como modelo

Las moscas de la fruta del género *Drosophila* han sido esenciales en varias disciplinas. *Drosophila melanogaster*, uno de los organismos más estudiados, ha permitido enormes avances gracias a las herramientas disponibles para la manipulación y disección genética de caracteres de interés. Su genoma es uno de los mejor anotados (se sabe dónde está la mayoría de sus genes y qué funciones cumplen) entre todos los organismos secuenciados. Además, muchos aspectos de su genética pueden ser transferidos a otros organismos inclusive a humanos. Sin embargo, el escaso conocimiento de su ecología limita la extrapolación a otras especies.

La familia Drosophilidae es ecológicamente diversa, incluye especies que se crían en diferentes materiales vegetales como frutos, flores, flujos de savia, e incluso hongos. Sin embargo, la mayoría de las especies no son herbívoros verdaderos, sino que se crían en tejidos vegetales en descomposición donde las larvas se alimentan de levaduras. Aun así, deben enfrentar las defensas anti-herbívoros que han desarrollado sus hospedadores.

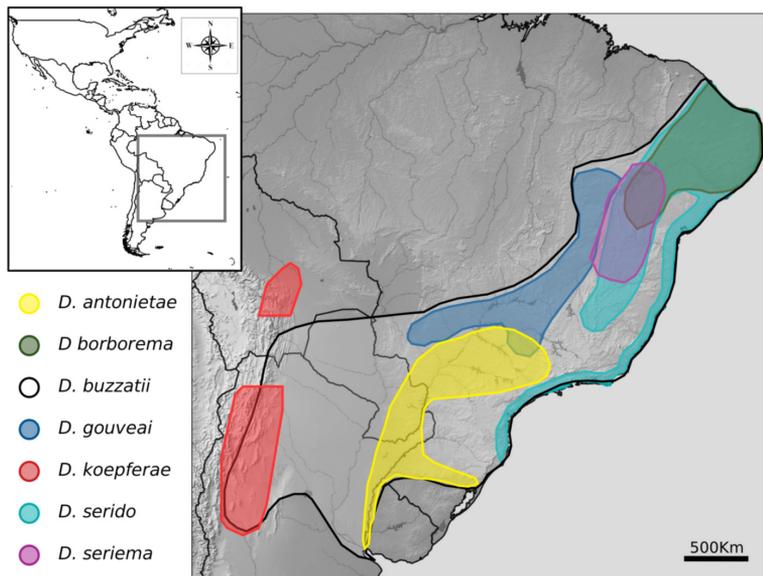
Los dos subgéneros principales son *Sophophora*, que incluye especies que se crían en frutos en descomposición, y *Drosophila*, que es ecológicamente más diverso (Markow & O’Grady 2008). En el

segundo, pocos grupos reúnen las propiedades para estudiar el significado evolutivo de los saltos de planta hospedadora como las moscas cactofílicas del grupo *repleta*. La adquisición de las cactáceas como sustrato es una novedad evolutiva que permitió su expansión y diversificación en los desiertos americanos. Las especies pueden subdividirse en base al tipo de cactus hospedador en usuarias de tunas (género *Opuntia*, subfamilia Opuntioideae) y de cactus columnares (subfamilia Cactoideae) algunos conocidos como cardones. La evidencia apunta a las tunas, que proveen sustratos más benignos, como estado ancestral (Oliveira et al 2012).

Dentro del grupo *repleta* la diversidad está organizada en subgrupos, que a su vez están conformados por complejos y estos por clusters de especies. En el subgrupo *mulleri*, los complejos *mulleri* y *buzzatii* han devenido en modelos de estudio eco-genético. El primero incluye al cluster *mojavensis* con 3 especies de reciente divergencia habitantes de los desiertos del norte de Centroamérica y el sur de Norteamérica. El segundo comprende los clusters *stalker* en islas del Caribe, *martensis* en el norte de Sudamérica y *buzzatii* en el sur. Este último está compuesto por 7 especies: *D. antonietae*, *D. borborema*, *D. gouveai*, *D. koepferae*, *D. serido* y *D. seriema*, endémicas de Sudamérica, excepto *D. buzzatii* que siguiendo a sus hospedadores alcanzó una distribución semicosmopolita.

La detección de *D. buzzatii* en plantaciones (chumberales) de la tuna comercial *Opuntia ficus-indica* en España, por Antonio Fontdevila y colaboradores hacia finales de los '70s, marcó el inicio de un programa de investigación que se propuso estudiar la adaptación y la especiación, tomando como modelos moscas especializadas en explotar los tejidos necróticos de cactáceas. Los primeros estudios dieron lugar a preguntas que sólo podían responderse estudiando las moscas en su zona de origen: las zonas áridas y semiáridas del sur de Sudamérica. Con este objetivo, Fontdevila impulsó junto a Osvaldo Reig el establecimiento de un grupo de investigación en la Universidad de Buenos Aires. En 1985, Horacio Naveira, quien realizaba una pasantía postdoctoral en Argentina, y Esteban Hasson (doctorando) iniciaron los estudios genético-ecológicos. Desde entonces, tesis de grado, de postgrado, postdoctorados e investigadores han contribuido al estudio de la ecología y la genética de la adaptación y la especiación.

*“La adquisición de las cactáceas como sustrato es una novedad evolutiva que permitió su expansión y diversificación en los desiertos americanos”*



**Figura 1.** Distribución de las especies del cluster *buzzatii* en América del Sur.

## Historia Evolutiva del cluster *buzzatii*

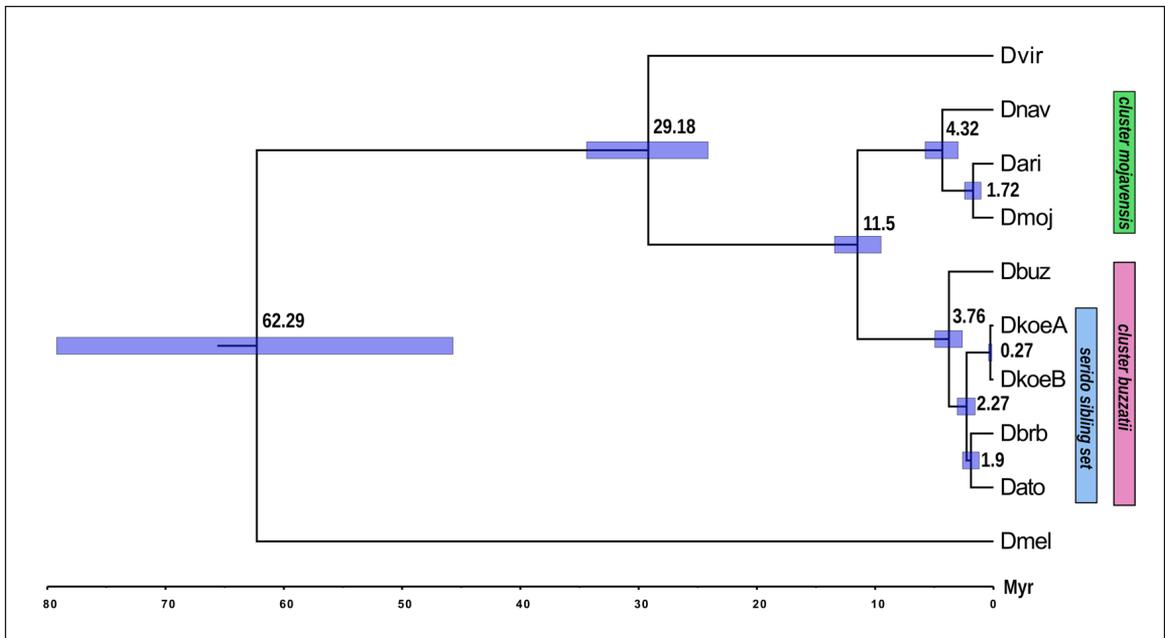
Las moscas del cluster habitan regiones desérticas y semidesérticas en América del Sur (Figura 1). Son morfológicamente muy similares, sólo pueden diferenciarse examinando la forma y el tamaño de la genitalia del macho y/o las inversiones cromosómicas en los cromosomas politénicos. El estudio de la genitalia solo permite diferenciar a *D. buzzatii* del resto, que según este criterio conforman un grupo de especies estrechamente emparentadas que se ha dado en llamar conjunto de especies hermanas *serido*. A su vez, examinando los cromosomas politénicos se pueden identificar cuatro linajes en base a las inversiones fijadas: inversión 5g en *D. buzzatii*, 2j<sup>9</sup> en *D. koepferae*, 2x<sup>7</sup> en *D. antonietae* y *D. serido* y 2e<sup>8</sup> en *D.*

*borborema*, *D. seriema* y *D. gouveai*. Sin embargo, las relaciones dentro y entre estos linajes no están definidas porque el número de reordenamientos informativos no es suficiente (Hasson et al 2019).

Las filogenias moleculares basadas en pocos marcadores nucleares y mitocondriales tampoco lograron resolver las relaciones evolutivas. Particularmente controversial es la posición de *D. koepferae*. Genes mitocondriales y unos pocos nucleares la muestran formando un clado con *D. buzzatii*, hermano del resto de las especies. En árboles obtenidos con otros genes nucleares, *D. buzzatii* aparece como hermana del resto y *D. koepferae* como el linaje más basal dentro de "serido sibling set" (Hasson et al 2019).

Recientemente, los estudios filogenéticos pasaron a ser filogenómicos gracias a la enorme cantidad de datos que proporciona la secuenciación de genomas nucleares (Moreyra et al 2023). Usando una matriz de datos consistente en la concatenación de alineamientos de secuencias de 1866 genes codificantes de proteínas de *D. buzzatii*, *D. antonietae*, *D. borborema* y dos cepas divergentes de *D. koepferae*, tres especies del cluster *mojavensis* y *D. virilis* y *D. melanogaster* como grupos externos, se obtuvo un árbol que confirmó que el cluster *buzzatii* es monofilético (todas las especies del derivan de un mismo ancestro común), que *D. buzzatii* es

hermana del “serido sibling set” y que *D. koepferae* es el grupo hermano del clado *D. borborema*-*D. antonietae* (Figura 2). No obstante, los árboles obtenidos con los genes individuales no fueron congruentes entre sí. Tales incongruencias pueden explicarse por flujo génico interespecífico y/o separación incompleta de linajes por la persistencia de polimorfismos ancestrales. Ambas explicaciones son plausibles tomando en cuenta los exiguos tiempos de divergencia que van desde menos de 4 millones de años para la separación de *D. buzzatii* del resto hasta menos de 2 millones de años entre *D. antonietae* y *D. borborema* (Figura 2).



**Figura 2.** Relaciones filogenéticas y tiempos de divergencia estimados a partir de 1856 genes de copia única.

## El sistema *Drosophila-cactus*

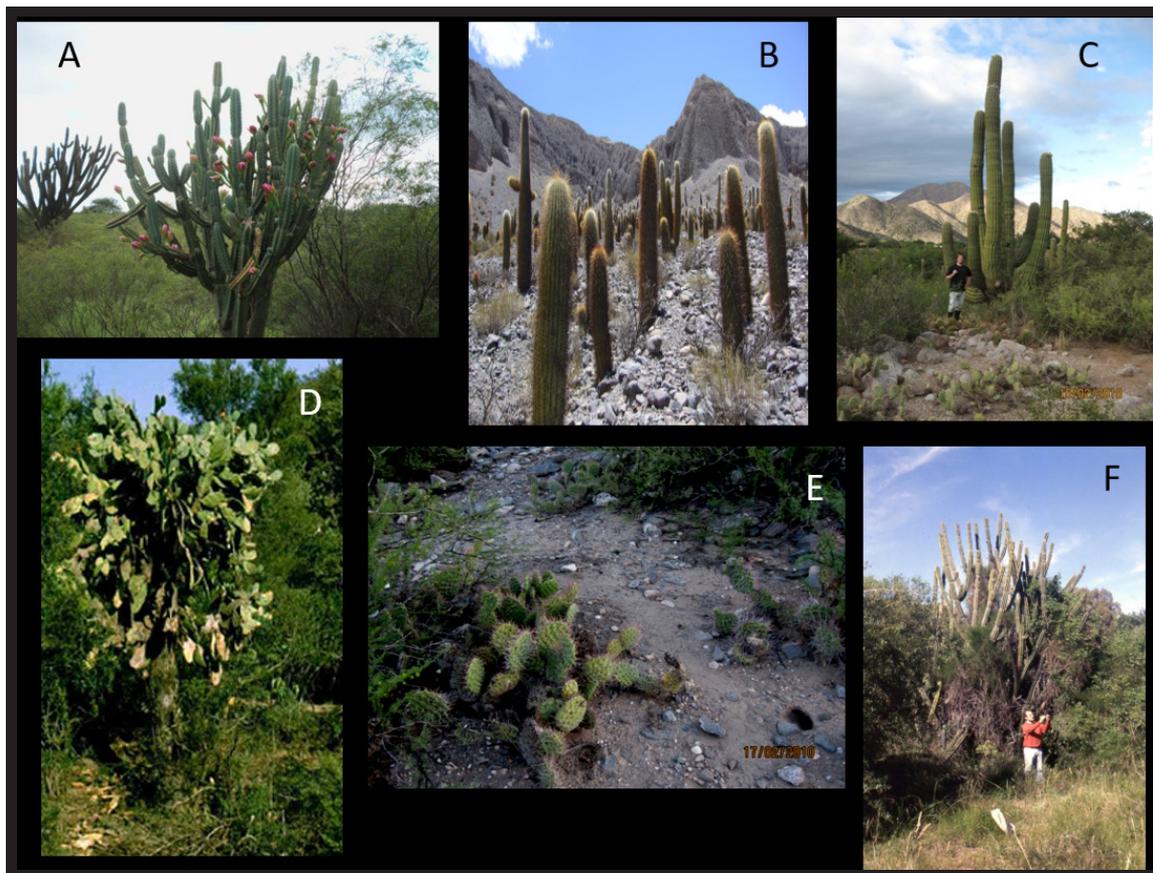
Inicialmente identificamos los cactus que las especies del cluster utilizan como sitios de cría en la naturaleza (Figura 3). Recorrimos los desiertos del centro, oeste y noroeste de Argentina y el sur de Bolivia, desde las vertientes orientales de las montañas pre-Andinas hasta los bosques tropicales orientales, regiones con gran diversidad de cactáceas (Figura 3). Las colectas mostraron que los hospedadores primarios de *D. buzzatii* son las necrosis de pencas (tallos modificados o cladodios) de tunas, incluyendo especies rastreras como *O. sulphurea* en el noroeste argentino, hasta la arborescente *O. quimilo* (algunos ejemplares miden más de 5 metros de altura) en la región centro-norte, y que *D. koepferae* emerge de necrosis de cactus columnares (e.g. *Cereus validus*, *Trichocereus terscheckii*, *T. candicans* y *Neoraimondia herzogiana*). Sin embargo, hay un cierto grado de solapamiento de nicho ya que moscas de una especie se han recuperado de sustratos del hospedador primario de la otra (Hasson et al., 2019).

En el norte de la región fitogeográfica del Monte, una extensa franja muy árida que se extiende desde el noroeste argentino hasta el norte de la Patagonia, donde coexisten, *D. buzzatii* y *D. koepferae* utilizan como hospedadores primarios la tuna *O. sulphurea* y el cardón *Trichocereus terscheckii*, respectivamente. Allí investigamos si las necrosis de estos cactus atraen

diferencialmente a los adultos de dichas especies. Colectamos moscas con trampas preparadas con tuna en descomposición, otras con necrosis de cardón y con banana fermentada (un tipo de cebo usual en el muestreo de moscas de la fruta). Las proporciones de moscas de ambas especies no difirieron entre muestras colectadas en tuna y cardón (30% *D. buzzatii* : 70% *D. koepferae*), pero sí de las colectadas en banana fermentada (10:90%). El cuadro fue completamente diferente al compararlo con las moscas emergidas de sustratos naturales: las proporciones de *D. buzzatii* recuperadas de *O. sulphurea* y *T. terscheckii* fueron 70 % y 30 %, respectivamente.

Esto sugiere que las especies difieren en las preferencias de oviposición y/o en la explotación de los recursos durante el desarrollo desde el estadio de huevo hasta la emergencia del adulto. ¿Las hembras eligen el cactus donde depositar los huevos? ¿Los cactus representan desafíos que afectan diferencialmente a las moscas?

*“Las colectas mostraron que los hospedadores primarios de *D. buzzatii* son las necrosis de tallos de tunas, mientras que *D. koepferae* emerge de necrosis de ciertos cactus columnares o cardones”*



**Figura 3.** Principales cactus hospedadores de las especies del cluster buzzatii. A: *Cereus validus*, B: *Trichocereus atacamensis*, C: *Trichocereus terscheckii*, D: *Opuntia quimilo*, E: *Opuntia sulphurea* y F: *Cereus uruguayanus*.

### Caracterización química de los cactus hospedadores

El estudio de los perfiles nutricionales de *O. sulphurea* y *T. terscheckii* mostró que el contenido de agua y el valor energético de la tuna son menores que en el cardón y que tiene 2,5 veces más azú-

cares libres (aunque no tanto como otras tunas) y más grasas totales que el cardón (aunque éste tiene una composición más rica de ácidos grasos (Hasson et al 2019). El análisis de la composición química permitió detectar una diferencia muy importante: no solamente *T. terscheckii* tiene 10 veces más alcaloides que *O. sulphu-*

rea, sino que los principales componentes de la fracción alcaloidea del cardón son mescalina y tricocereína (compuestos que tienen conocidos efectos alucinogénicos en humanos). En cambio, en *O. sulphurea* los alcaloides son derivados de prolina sin efectos tóxicos conocidos.

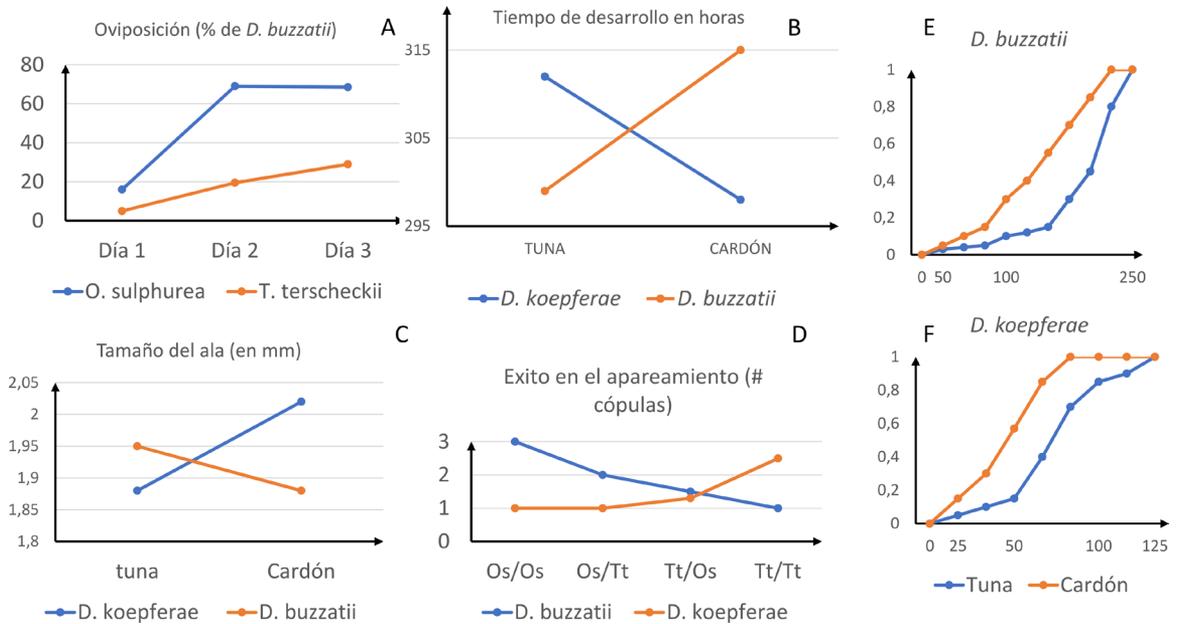
### Comportamiento de oviposición

Ofrecimos a las moscas un único tipo de sustrato (tuna o cardón) como estímulo para la ovoposición y cuantificamos la predisposición de las hembras a depositar sus huevos. Confinamos un gran número de moscas de ambas especies, en las mismas proporciones en que se encuentran en el área de muestreo: 3 *D. buzzatii*:7 *D. koepferae*, en dos tipos de cámaras de recolección de huevos, unas con cardón y otras con tuna durante 3 días. Los sustratos se renovaron diariamente y se tomaron muestras de huevos que se sembraron en tubos con medio de cultivo. De cada tubo

se recuperaron los adultos emergidos y los machos se clasificaron por especie examinando el órgano copulador (las hembras son indistinguibles morfológicamente). La proporción de *D. buzzatii* emergida en las cámaras de tuna y cardón en el día 1 fue considerablemente menor al 30% esperado, especialmente en cardón, y se incrementó en los días posteriores, particularmente en las muestras de tuna donde alcanzó 70%, en tanto que solo alcanzó el 20% en las de cardón. Esto indica diferencias interespecíficas en el comportamiento de ovoposición: *D. buzzatii* que no solo prefirió la tuna como sustrato de puesta, sino que distribuyó su esfuerzo reproductivo de manera temporalmente uniforme, mientras que *D. koepferae* prefirió cardón y depositó la mayor parte de los huevos en el primer día en ambos recursos (Figura 4A). Estas estrategias habrían evolucionado en consonancia con las características ecológicas de ambos recursos: la tuna es un recurso espacialmente más abundante y temporalmente efímero (las pencas se descomponen rápidamente, pero suelen



*“Esto indica diferencias interespecíficas en el comportamiento de ovoposición: D. buzzatii que no solo prefirió la tuna como sustrato de puesta, sino que distribuyó su esfuerzo reproductivo de manera temporalmente uniforme, mientras que D. koepferae prefirió cardón y depositó la mayor parte de los huevos en el primer día en ambos recursos”*



**Figura 4:** Efecto de los cactus sobre: A) comportamiento de ovoposición, B) tiempo de desarrollo, C) tamaño del cuerpo, D) éxito en el apareamiento (nº de cópulas) y resistencia a la inanición (proporción de muertes a lo largo del tiempo -en horas-) en E) *D. buzzatii* y F) *D. koepferae*.

ser abundantes), en tanto que los sustratos de cardón son menos abundantes pero un brazo en descomposición puede estar disponible durante semanas para las moscas. En experimentos posteriores usando isomías (familias iniciadas con la descendencia de hembras individuales inseminadas en la naturaleza) de ambas especies, confirmamos los resultados y, además, demostramos que la variación entre y dentro de especies tiene bases genéticas.

## Cactus hospedadores, alcaloides y adaptación

La capacidad de adaptarse de un organismo puede medirse cuantificando diversos caracteres, cuya expresión es el resultado, como para cualquier otro carácter fenotípico, de factores genéticos y el ambiente. Investigamos los efectos del uso de plantas hospedadoras alternativas cuantificando caracteres asociados a una

eficacia temprana (estadios juveniles) y de adulto. Para cada carácter evaluamos la contribución de dos factores: la especie de *Drosophila*, los cactus y la interacción especie-cactus. El primero indica si hay diferencias entre especies (independientemente del cactus), el segundo entre moscas (independientemente de la especie) emergidas en cactus alternativos y la interacción si las respuestas de las especies dependen del cactus.

Como indicador de la eficacia temprana medimos: el tiempo que media entre la ovoposición y la emergencia del adulto o tiempo de desarrollo (TD) y la viabilidad (proporción de moscas adultas emergidas relativa al número de huevos sembrados). Ambos son indicadores del grado en que los mecanismos fisiológicos y genéticos de un organismo (la capacidad para aprovechar nutrientes y eliminar tóxicos) le permiten explotar los recursos.

Como indicador de la eficacia del adulto medimos el tamaño corporal (que se sabe asociado a la longevidad, la fecundidad y el éxito en el apareamiento) en moscas de ambas especies crecidas

en tuna o cardón. También evaluamos el éxito en el apareamiento introduciendo en cámaras de apareamiento un macho con 5 hembras vírgenes de la misma especie, combinando moscas criadas en tuna y cardón. El éxito se estimó contando el número de hembras con las que cada macho se apareó durante el período de observación.

Todos los experimentos revelaron: diferencias entre especies, el notable efecto del cactus hospedador y el mejor desempeño (menor tiempo de desarrollo, mayor viabilidad, mayor tamaño corporal y mayor éxito en el apareamiento) de las moscas criadas en su respectivo hospedador

*“Todos los experimentos revelaron: diferencias entre especies, el notable efecto del cactus hospedador y el mejor desempeño de las moscas criadas en su respectivo hospedador primario”*

primario (Figuras 4B-D). En el caso del éxito en el apareamiento los resultados fueron aún más sorprendentes porque el número de hembras fecundadas fue mayor cuando machos y hembras crecieron en el cactus preferido de cada especie.

Una de las pocas excepciones a este patrón fue la resistencia a la inanición (capacidad de sobrevivir a la falta de alimento) que es, particularmente, importante cuando la disponibilidad de los recursos

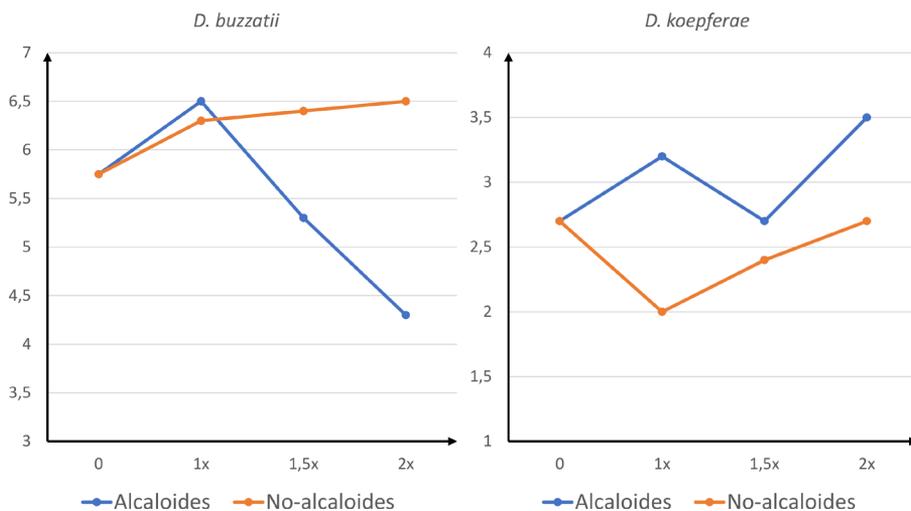
es baja. Las moscas criadas en tuna, independientemente de la especie, fueron más resistentes que las de cardón a la falta de alimento y, llamativamente, *D. buzzatii* (adaptada al uso de un recurso espacialmente más predecible) mostró mayor resistencia a la inanición (Figuras 4E-F).

Finalmente, evaluamos si los alcaloides de cardón son responsables del pobre desempeño de *D. buzzatii* en cardón. Con este fin, criamos moscas de las dos especies en medios con concentraciones crecientes de alcaloides, confirmando que afectan de manera negativa y dosis dependiente a *D. buzzatii*, disminuyendo su viabilidad y extendiendo el tiempo de desarrollo. En cambio, el desarrollo de *D. koepferae* no se vio afectado (Figura 5).

## Cactus hospedadores, alcaloides y expresión génica

Con el fin de indagar acerca de los determinantes genéticos del uso diferencial de los cactus, investigamos los perfiles de expresión génica en ejemplares que se desarrollaron en distintos ambientes de cría (cactus y alcaloides). Hoy en día, la secuenciación de todos los ARN mensajeros (RNA-Seq) permite caracterizar el transcriptoma, que es el conjunto de genes que se expresan y el nivel de expresión, bajo diferentes condiciones.

*A priori* pensábamos que *D. koepferae* y *D. buzzatii* podrían ser exponentes de dos estrategias: 1) mecanismos de detoxificación implicados en la tolerancia a com-



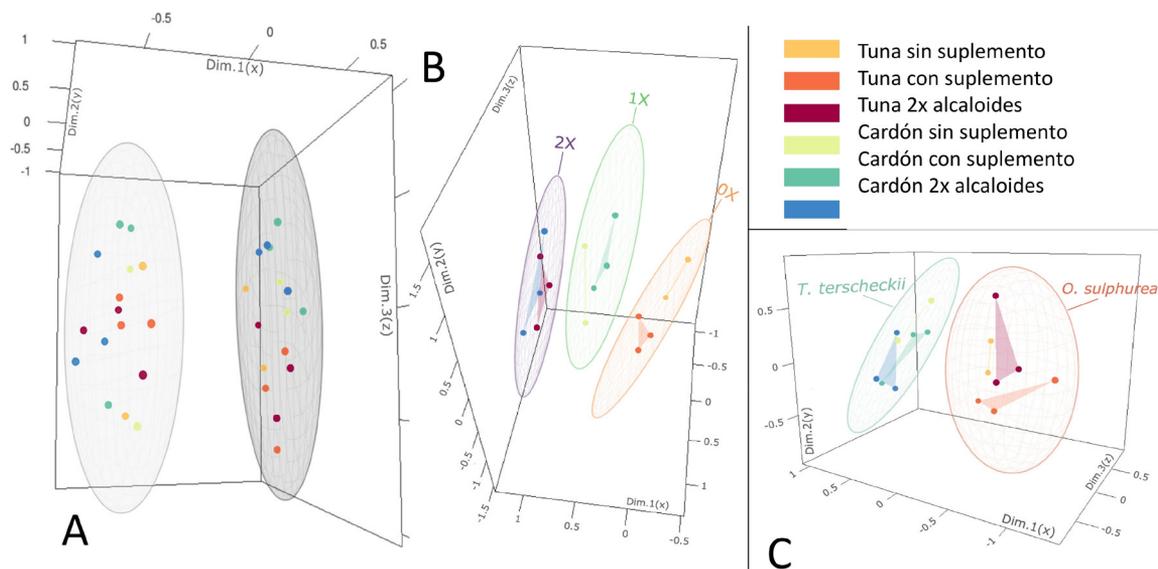
**Figura 5:** Desempeño ((tamaño del cuerpo \* viabilidad)/ tiempo de desarrollo) de *D. buzzatii* y *D. koepferae* en medios conteniendo concentraciones crecientes de las fracciones alcaloides y no alcaloides de *Trichocereus terscheckii*.

puestos tóxicos más eficientes a expensas de altos costes metabólicos, debidos a la expresión constitutiva (no plástica) de los genes involucrados en esas vías y 2) mecanismos de detoxificación inducibles (más plásticos) que conllevan menores costes metabólicos. La primera conduciría a mayor especialización y la segunda a mayor amplitud de nicho.

Para esto criamos ambas especies desde el estadio de huevo hasta el último estadio larval en medios preparados con tuna (0x alcaloides) o cardón (1x alcaloides), a los que se agregaron alcaloides

para generar sustratos en ambos cactus con una concentración 2x de alcaloides. En todos los casos se agregó una suspensión de levadura muerta como fuente de proteínas, excepto en dos tratamientos en los que los medios de cría fueron tuna o cardón sin ningún suplemento.

Estos experimentos revelaron estrategias transcripcionales diferentes entre especies. Utilizando los Genes Diferencialmente Expresados (GDE) graficamos los perfiles de expresión globales de ambas especies en un mismo espacio tridimensional (Figura 6A). Puede verse que



**Figura 6:** Transcriptómica comparativa. Escalado multidimensional considerando todos los genes diferencialmente expresados en A) comparaciones interespecíficas (sombreado suave: *D. buzzatii* y sombreado oscuro: *D. koepferae*) e intraespecíficas (entre tratamientos) B) *D. buzzatii* y C) *D. koepferae*.

*“Los análisis de expresión diferencial dentro de cada especie mostraron una mayor plasticidad transcripcional y respuestas moduladas esencialmente por los alcaloides en *D. buzzatii*, mientras que en *D. koepferae* las respuestas fueron más canalizadas y la plasticidad transcripcional modulada por los cactus”*

los perfiles de expresión de las especies no se solapan. A su vez, los análisis de expresión diferencial dentro de cada especie mostraron una mayor plasticidad transcripcional y respuestas moduladas esencialmente por los alcaloides en *D. buzzatii*, mientras que en *D. koepferae* las respuestas fueron más canalizadas y la plasticidad transcripcional modulada por los cactus (Figuras 6B-C).

Los genes diferencialmente expresados (GDE) los consideramos como candidatos a formar parte de las bases genéticas del uso diferencial de los cactus. Seguidamente, hicimos análisis de enriquecimiento funcional en cada especie con el fin de establecer si algún proceso fisiológico, celular y/o molecular estaba sobre-representado en los conjuntos de GDEs. En *D. buzzatii* detectamos un enriquecimiento de genes asociados al desarrollo de cutícula (es una barrera a la entrada de compuestos tóxicos y patógenos y está asociada al equilibrio hídrico, dos aspectos adaptativos en especies que viven en

ambientes desérticos), a la pigmentación (síntesis de melanina), procesos de detoxificación (detox) y óxido reducción (redox), metabolismo de compuestos nitrogenados (los alcaloides lo son), desarrollo del sistema nervioso y procesos de transmisión del impulso nervioso. En *D. koepferae*, además, de genes asociados a la pigmentación, se detectaron otros procesos vinculados al metabolismo respiratorio, desarrollo en general y desarrollo muscular.

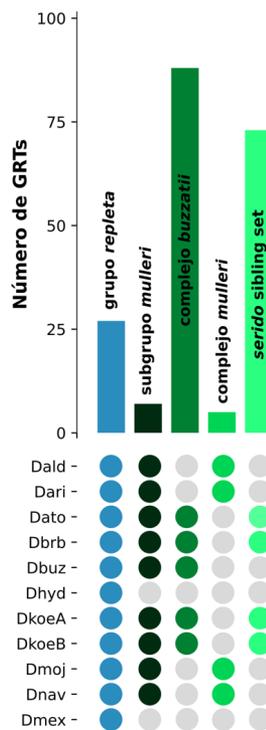
### **Genómica comparativa: Evolución de la cactofilia y saltos de cactus hospedador**

Con los recursos genómicos disponibles en especies cactofílicas y no-cactofílicas del grupo *repleta* y especies lejanamente emparentadas, realizamos un estudio genómico-comparativo incluyendo a: *D. buzzatii*, *D. antonietae*, *D. borborema* y dos cepas divergentes de *D. koepferae*, especies cac-

tófilas del complejo *mulleri* (*D. aldrichi*, *D. mojavensis*, *D. arizonae* y *D. navoja*), generalistas (no cactófilas) del grupo *repleta* (*D. hydei* y *D. mercatorum*) y *D. virilis* (subgénero *Drosophila*) como grupo externo. Nuestro objetivo fue establecer los cambios genéticos que habrían conllevado la evolución de la cactofilia y los saltos de hospedadores (Moreyra et al 2023).

La identificación de aparentes novedades genéticas en las diferentes ramas de un árbol filogenético tiene dificultades inherentes a la detección de ortología entre genes (se considera que dos genes de especies son ortólogos cuando son copias divergentes que descienden de un mismo gen ancestral). Utilizando herramientas bioinformáticas identificamos genes restringidos a linajes particulares (ramas del árbol filogenético) o Genes Taxonómicamente Restringidos (GRT). En otras palabras, los GRT son genes compartidos por todas las especies del linaje focal que están ausentes en los linajes externos. Estos podrían ser genes originados *de novo*, por la aparente pérdida de ortólogos en ramas externas de la filogenia (ambos tipos de GRTs los consideramos como validados), o por la gran divergencia respecto de sus homólogos putativos (GRTs divergentes). Considerando como grupo focal el grupo *repleta* (las no cactófilas y las cactófilas de los complejos *mulleri* y *buzzatii*), identificamos 27 GRT candidatos, de los cuales pudimos validar 14. En el subgrupo *mu-*

*lleri* (complejos *mulleri* y *buzzatii*), identificamos 7 GRT candidatos de los cuales solo 2 pudieron validarse. En el cluster *buzzatii* detectamos 29 GRTs validados y 59 divergentes. Finalmente, identificamos 42 GRTs validados y 31 candidatos divergentes en el conjunto de especies hermanas *serido* (Fig 7).



**Figura 7:** Número de GRTs candidatos identificados en los linajes del grupo *repleta* considerados. La matriz de círculos representa a cada especie en una fila y a cada linaje en una columna. Cada linaje es referenciado por un único color, donde las especies que lo componen contienen el círculo del mismo color en la columna correspondiente

mientras que las especies que no componen ese linaje tienen su círculo de color gris.

Dald: *D. aldrichi*, Dari: *D. arizonae*, Dato: *D. antonietae*, Dbrb: *D. borborema*, Dbuz: *D. buzzatii*, Dhyd: *D. hydei*, DkoeA y DkoeB: *D. koepferae*, Dmoj: *D. mojavensis*, Dnav: *D. navoja* y Dmex: *D. mercatorum*.

También con los GRTs identificados en los linajes focales de interés (el grupo *repleta* y ramas internas) hicimos análisis de enriquecimiento funcional. Lamentablemente, para un número importante de GRTs identificados en el grupo *repleta* no se conoce una función asociada, lo que limita mucho el análisis. El único GRT con anotación funcional identificado en el subgrupo *mulleri* está asociado con el desarrollo de cutícula. Algo similar ocurre con el único GRT identificado en el complejo *mulleri* relacionado con el transporte de compuestos nitrogenados, una función que en insectos está implicada en la conservación de agua a través de la excreción de residuos nitrogenados. Los GRTs en el cluster *buzzatii* están asociados a la regulación de respuesta a estrés y respuesta inmune disparadas por estímulos químicos y patógenos y al desarrollo de cutícula. Finalmente, los GRTs en el conjunto de especies hermanas *serido* tienen asociación con procesos que regulan las respuestas a estrés abiótico, metabolismo de compuestos nitrogenados y al desarrollo de estructuras anatómicas.

Sin embargo, estos estudios se basan en la suposición de que las funciones de los GDEs y GRTs se habrían mantenido luego de la divergencia con las especies cuyas anotaciones funcionales tomamos como referencia: la más cercanamente emparentada *D. mojavenis*, seguida de *D. virilis*, *D. grimshawi* y, finalmente, *D.*

*melanogaster* que es la que tiene la mejor anotación.

## Conclusiones y perspectivas

La conclusión general es que los cactus hospedadores afectan múltiples aspectos de la biología de *D. buzzatii* y *D. koepferae* y que los caracteres de historia de vida habrían evolucionado como adaptaciones a la explotación de recursos primarios ecológica y químicamente diferentes. Es más, se ajustan a lo que podría esperarse por la abundancia temporal y espacial de los cactus. A su vez, la transcriptómica comparativa apunta a que las respuestas que despliegan las dos especies están moduladas por los alcaloides en *D. buzzatii* y los cactus en *D. koepferae*.

Las evidencias indican que la direccionalidad de la evolución del cactus hospedador del estado ancestral (tunas) al derivado (columnares) habría conllevado la adaptación a hospedadores químicamente más complejos. Esto se ve reflejado en las claras diferencias en los perfiles de expresión génica, que sugieren la asimilación (expresión constitutiva) de algunos genes asociados a la detoxificación en *D. koepferae* que en *D. buzzatii* tendrían expresión plástica (inducible). La genómica comparativa apunta en similar dirección, particularmente, en el conjunto de es-

pecies hermanas *serido* conformado por especialistas en cactus columnares que comparten GRTs cuyas funciones están asociadas con respuestas a stress abiótico y metabolismo de compuestos nitrogenados (como los alcaloides).

En síntesis, proponemos que la evolución de la cactofilia en el grupo *repleta* habría conllevado la adquisición de la capacidad de enfrentar nuevos recursos con características ecológicas y compuestos tóxicos diferentes y cambios en la cutícula que permitieron la radiación de algunos grupos de especies en los ambientes desérticos de América. La diversificación en el cluster *buzzatii* podría describirse como una historia de especialización desde una forma ancestral con hábitos ecológicos más generalistas (similar a *D. buzzatii*) hacia cactus columnares. Sin embargo, nuestras conclusiones se basan en un muestreo taxonómico incompleto por las dificultades con que nos encontramos para acceder a ejemplares de las otras 3 especies del cluster (*D. serido*, *D. gouveai*

*“Las evidencias indican que la direccionalidad de la evolución del cactus hospedador del estado ancestral (tunas) al derivado (columnares) habría conllevado la adaptación a hospedadores químicamente más complejos”*

y *D. seriema*). Finalmente, para confirmar si nuestras conclusiones son extrapolables a otros conjuntos de especies cactofílicas, será necesario esperar a disponer de estudios en otras especies que hayan experimentado independientemente transiciones similares desde tunas a cactus columnares.

## Referencias Bibliográficas

- De Panis, D. et al. 2022. Transcriptional responses are oriented towards different components of the rearing environment in two *Drosophila* sibling species. *BMC Genomics* 23: 515.
- Grimaldi D. y M.S. Engel. 2005. *Evolution of the Insects*. Cambridge University Press.
- Hasson, E. et al. 2019. Host plant adaptation in cactophilic species of the *Drosophila buzzatii* cluster: fitness and transcriptomics. *Journal of Heredity* 110: 46-57.
- Moreyra, N. et al. 2023. Phylogenomics provides insights into the evolution of cactophily and host plant shifts in *Drosophila*. *Molecular Phylogenetics & Evolution* 178: 107653.
- Markow, T. y P. O'Grady. 2008. Reproductive ecology of *Drosophila*. *Functional Ecology* 22:747-759.
- Nosil, P. 2012. *Ecological Speciation*. Oxford Series in Ecology and Evolution. Oxford University Press.
- Oliveira, D.C.S.G., Almeida, F.C., O'Grady, P.M., Armella, M.A., DeSalle, R., Etges, W.J. 2012. Monophyly, divergence times, and evolution of host plant use inferred from a revised phylogeny of the *Drosophila repleta* species group. *Molecular Phylogenetics & Evolution* 64:533-544.
- Schoonhoven, L.M., van Loon, J.J.A., Dicke, M. 2005. *Insect-Plant Biology*. 2nd ed. Oxford, New York: Oxford University Press.
- Tilmon, K.J. 2008. Specialization, speciation, and radiation: the evolutionary biology of herbivorous Insects. University of California Press, Berkeley.