



universidad
de león



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

APLICACIÓN DE TÉCNICAS MOLECULARES EN
***Drosophila melanogaster* PARA EL ESTUDIO**
DE SU EVOLUCIÓN

APPLICATION OF MOLECULAR TECHNIQUES
IN *Drosophila melanogaster* TO STUDY ITS
EVOLUTION

Autor: Lucía Pérez Privado

Tutor: Pedro García

GRADO EN BIOLOGÍA

Septiembre, 2023

ÍNDICE

Resumen	ii
Abstract	ii
1. Introducción.....	1
2. Objetivos.....	8
3. Metodología.....	8
4. Secuenciación y análisis de la secuencia.....	9
4.1 Métodos generales a la reconstrucción filogenética.....	9
4.2 Primeras aproximaciones moleculares.....	12
4.3 La era genómica.....	17
5. Conclusión.....	22
6. Referencias bibliográficas.....	23

Resumen:

Comprender las relaciones filogenéticas entre taxones es clave para diseñar e implementar análisis comparativos. La especie *Drosophila melanogaster*, que contiene más de 2000 especies, es un organismo conocido por ser un modelo en el estudio de las diferentes disciplinas de la biología, como la biología celular, la genética o la evolución entre otras ciencias. Es una de las especies más analizadas tanto a nivel morfológico como genético y ha sido clave para los estudios de desarrollo animal, organización del genoma y comprensión de muchas enfermedades humanas. En este trabajo, se van a resumir de manera bibliográfica, otros trabajos donde se usa *D. melanogaster* con el objetivo de observar sus relaciones filogenéticas con otras especies dadas. Para ello, buscaremos distintos autores bibliográficos donde nos definan conceptos relacionados con la especie ya analizada. Las relaciones filogenéticas dentro de *Drosophila* son complicadas y el objetivo de este trabajo es proporcionar una revisión de los cambios taxonómicos y filogenéticos desde los más antiguos hasta los más recientes para ayudar en futuros estudios comparativos.

Palabras clave: *Drosophila*, taxonomía, filogenética, introgresión y genética evolutiva.

Abstract:

Understanding phylogenetic relationships between taxa is key to designing and implementing comparative analyses. The species *Drosophila melanogaster*, which contains more than 2000 species, is an organism known to be a model in the study of the different disciplines of biology, such as cell biology, genetics or evolution among other sciences. It is one of the most analysed species both morphologically and genetically and has been key to studies of animal development, genome organization and understanding of many human diseases. In this work, we will summarize in a bibliographic way, other works where *D. melanogaster* is used in order to observe their phylogenetic relationships with other given species. To do this, we will search for different authors bibliographic.

Keywords: *Drosophila*, taxonomy, phylogenetics, introgression y evolutionary genetics.

1. INTRODUCCIÓN

La primera especie de *Drosophila* descrita fue *funnebris* por Fabricius en 1787. Siete años después, Meigen, un entomólogo famoso por su trabajo pionero en Diptera describió más de 3000 taxones, entre ellos *D. melanogaster* y desde entonces el número de especies incluidas en este género aumentó lentamente a lo largo de la segunda mitad del siglo XIX. Sin embargo, cuando *D. melanogaster* se estableció como organismo modelo de los estudios genéticos a principios del siglo XX, la frecuencia con la que se fueron publicando descripciones de nuevas especies incrementó (Markow & O'Grady, 2007).

La especie *Drosophila melanogaster*, díptero de la familia Drosophilidae, uno de los organismos más estudiados en biología, sirve como modelo para procesos biológicos de organismos eucariotas, entre los que se incluyen los humanos (Adams *et al.*, 2000).

D. melanogaster presenta una distribución cosmopolita, debida a la actividad humana. Se trata de una especie comensal del ser humano (Keller, 2007), que además habita y se reproduce sobre diferentes frutas (Sturtevant, 1921).

Actualmente se sabe que la especie es nativa de África Ecuatorial (Lachaise *et al.*, 1988) y ha colonizado todos los continentes como comensal humano excepto la Antártida. En los últimos 20000 años amplió su área de distribución a Europa y Asia y solo recientemente se introdujo en Australia y América. Debido a su ciclo de vida corto y su mantenimiento simple, fue adoptado por primera vez como un organismo modelo para William Castle y posteriormente para Thomas Hunt Morgan (Haudry *et al.*, 2020).

A principios del siglo XX, Morgan utilizó esta especie para probar experimentalmente y ampliar las predicciones sobre la genética mendeliana, lo que llevó al descubrimiento y su ubicación en los cromosomas (Haudry *et al.*, 2020).

Drosophila melanogaster pertenece al subgrupo *melanogaster*. La primera especie descrita fue *D. simulans*, cuando Sturtevant en 1919 a la hora de realizar cruzamientos para los estudios genéticos, se percató de que en el laboratorio de Morgan, no estaban trabajando solo con *D. melanogaster*, sino que también había ejemplares de una especie muy semejante. *Drosophila yakuba* fue estudiada en Costa de Marfil en la década de 1950. En las décadas de 1970 y 1980 se descubrieron cinco especies más por Leónidas Tsacas; *D. teissieri*, *D. orena* y *D. erecta* en el continente africano. *D. mauritiana* es endémica en la isla de Mauricio y *D. sechellia* solo se encuentra en algunas de las islas del archipiélago de las Seychelles.

Aunque todavía son objeto de discusión las relaciones filogenéticas entre las especies de este grupo debido a que distintos genes dan lugar a diferentes filogenias, la propuesta de Lachaise y Silvain (2004), basada también en la distribución geográfica de las especies y características morfológicas y cromosómicas, suele servir de base de partida (Figura 1).

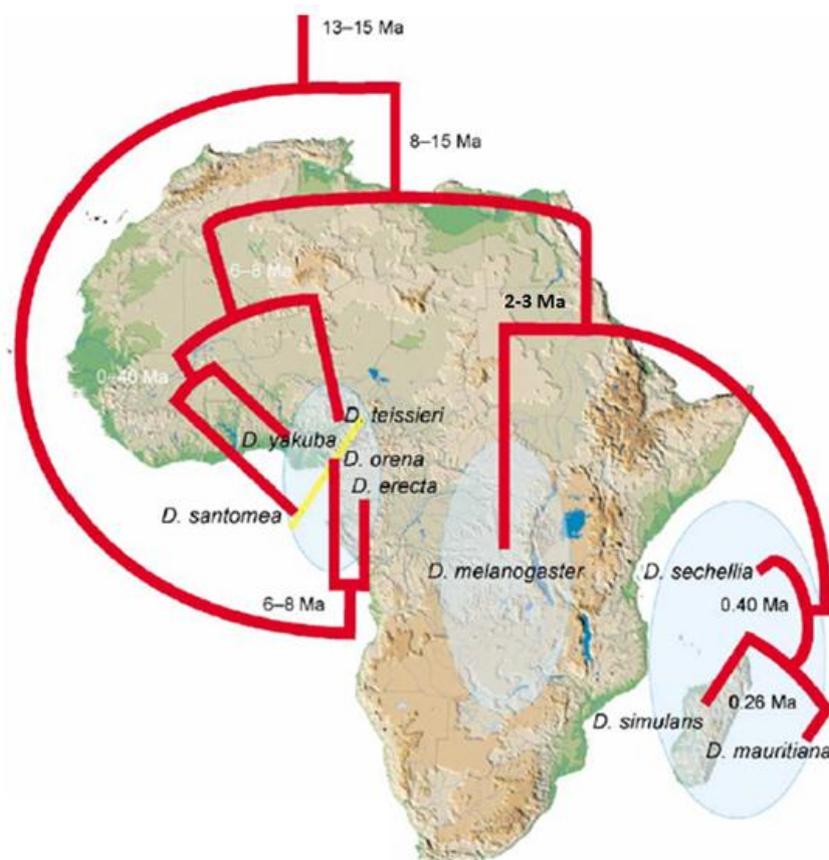


Figura 1. Árbol filogenético propuesto del subgrupo *melanogaster* basado en características morfológicas, cromosómicas, moleculares y biogeográficas (Lachaise y Silvain, 2004). La línea amarilla indica la frontera de aislamiento debida a la denominada Línea Volcánica del Camerún.

Esta especie se ha encontrado hasta ahora en la zona afrotropical. *D. melanogaster* y *D. simulans* son especies cosmopolitas pero debido a que todas las especies cercanas son endémicas de la región afrotropical, se asumió que estas dos especies se originaron ahí también. En el caso de *D. simulans* muestra una menor velocidad de dispersión debido a su menor capacidad de introducirse en áreas de actividad humana que *D. melanogaster* habita en una amplia gama de lugares urbanos o, suburbanos o agrícolas. Una vez que se introduce esta especie en una nueva ubicación, los individuos aumentan rápidamente. A la temperatura y densidad de población favorables se necesitan pocos días para que un huevo de *Drosophila* se desarrolle (Lachaise *et al.*, 1988).

Si las características del entorno en el que se encuentran son favorables, y gracias también a la actividad humana, las larvas de *Drosophila* se convierten en moscas sexualmente maduras en 10 días, permitiendo así su rápida extensión (Coyne *et al.*, 1982).

El genoma de *Drosophila melanogaster* tiene un tamaño de 180 Mb (Adams *et al.*, 2000), donde un tercio está en forma de heterocromatina. La correspondencia de las proteínas de *Drosophila* involucradas en la expresión génica y el metabolismo, demuestran que *Drosophila* representa una plataforma experimental adecuada en la investigación de diferentes enfermedades humanas (Adams *et al.*, 2000). Las secuencias genómicas de *Drosophila* aumentaron las herramientas que han hecho de *D. melanogaster* como modelo para la genética y que además van a acelerar investigaciones importantes sobre mecanismos de desarrollo, en biología celular o genética (Clark *et al.*, 2007). Recientemente se han secuenciado los genomas de más de 25 de sus congéneres (Haudry *et al.*, 2020).

El conocimiento del género *Drosophila* de otros géneros relacionados ha mejorado mucho en las últimas décadas, permitiendo así que muchos clados se hayan declarado por estudios independientes. Así mismo el género *Drosophila* es un género parafilético. Está compuesto por 4 clados mayores, los cuales presentan al menos otros 5 géneros cada uno (Bächli, 2008). El interés que los científicos mostraron por la filogenia de *D. melanogaster* y las especies relacionadas se incrementó de manera notable al ser elegida como organismo de referencia en

los estudios genéticos. El grupo fundacional de Morgan de principios del siglo XX y de los trabajos de Dobzhansky hasta nuestros días han surgido un gran número de escuelas de *drosofilistas* que han aportado numerosos trabajos de enorme calidad. Una revisión exhaustiva de estas escuelas se puede encontrar en O'Grady y DeSalle (2018), si bien destacaremos algunos nombres como Sturtevant, Kidwell o Ayala.

Francisco Ayala, un ex sacerdote dominico fue el primer alumno de Teodosio Dobzhansky. Ha publicado ampliamente en biología evolutiva y ha contribuido a nuestra comprensión de las relaciones en la especie *Drosophila*, particularmente las poblaciones de *D. pseudoobscura*. A finales de la década de los 90, Ayala y sus alumnos comenzaron a utilizar secuencias de ADN de varios loci para inferir a gran escala sobre las relaciones filogenéticas en *Drosophilidae*. Kwiatowski y Ayala (1994) examinaron las relaciones entre *Drosophila* y varios géneros estrechamente relacionados y más tarde Tatarenkov y Ayala (2001) se centraron en inferir la filogenia dentro de la rama de *virilis-repleta*.

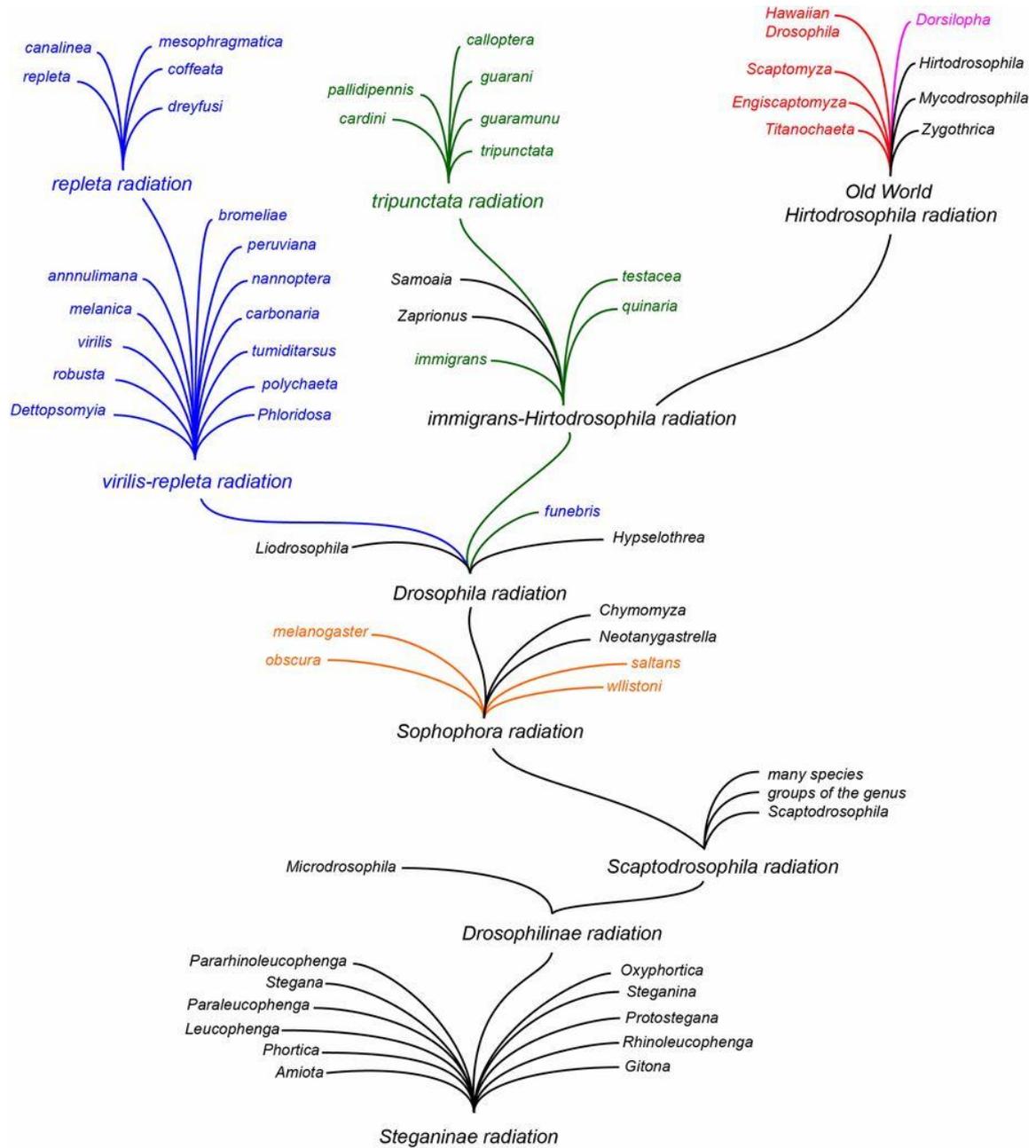
Los otros descendientes académicos de Ayala también tuvieron un gran impacto en la biología evolutiva de *Drosophila* como Fontdevilla, Ruiz y Ranz, que han contribuido a nuestra comprensión de la filogenia de *Drosophila* y su taxonomía, dentro del grupo de especies cactófilas *D.repleta*.

Margaret Kidwell es la autora de varios artículos que comparan especies y filogenias de transposones (O'Grady et al. 1998; Silva y Kidwell 2000, 2004; O' Grady y Kidwell 2002). Fue fundamental en algunas de las primeras discusiones entre árboles de genes y árboles de especies. Kidwell además fue un referente para varios estudiantes de posgrados, becarios posdoctorales y académicos visitantes (Loreto, Robe, Valente y Watada), que pasaron a producir revisiones taxonómicas a nivel de grupo de especie.

El primer árbol filogenético moderno de la familia *Drosophilidae* fue propuesto por Throckmorton (1962), utilizando una serie de caracteres morfológicos. Propuso una topología

de que contenían agrupaciones de géneros, subgéneros y especies que no indicaban un origen monofilético, sino que muchos de los linajes eran parafiléticos con respecto a otros taxones. Por ejemplo, Throckmorton consideró el subgénero *Sophophora* (género *Drosophila*) que constituía la base de la subfamilia Drosophilinae. Esta rama dio origen no solo a *melanogaster*, sino también a géneros como *Chymomyza* y *Drosophila*. Así mismo, muchos de los principales linajes dentro del subgénero *Drosophila*, como *immigrans-tripunctata* incluía un conjunto de géneros relacionados como *Zygothrica*, *Hirtodrosophila* y *Mycodrosophila* (Figura 2). Throckmorton actualizó y revisó este trabajo en 1975 y 1982.

Un interés especial se ha dirigido a otras especies de *Drosophila*, como las hawaianas, que por su gran diversidad, las características de dimorfismo sexual que presentan y el conocimiento de la cronología de la formación del archipiélago de Hawái, se han convertido en un referente en los estudios evolutivos relacionados con la especiación (O'Grady *et al.*, 2011).



Throckmorton (1975)	Yassin (2013)
■ <i>Hawaiian Drosophila</i>	<i>Idiomyia</i> , as genus
■ <i>virilis-repleta rad.</i>	<i>Drosophila</i> (<i>Siphlodora</i>)
■ <i>immigrans-tripunctata rad.</i>	<i>Drosophila</i> (<i>Drosophila</i>)
■ <i>Drosophila</i> (<i>Sophophora</i>)	<i>Drosophila</i> (<i>Sophophora</i>)
■ <i>Drosophila</i> (<i>Dorsilopa</i>)	<i>Drosophila</i> (<i>Dorsilopa</i>)

Figura 2. Filogenia Throckmorton de la familia Drosophilidae. Los linajes principales tienen el siguiente código de colores: radiación *virilis repleta* (Azul), radiación *immigrans-Hirtodrosophila* (verde), *Drosophila hawaiana* (roja), *Drosophila* (rosa) y *Sophophora* (naranja) (Throckmorton, 1962).

En una revisión influyente donde resume los resultados de los primeros estudios de variación de la población en *D. melanogaster*, David y Capy (1988) clasificaron las poblaciones de *melanogaster* en tres grupos: poblaciones ancestrales, antiguas y nuevas (Figura 3). Las ancestrales se encuentran en África subsahariana, donde probablemente se separaron de la especie hermana *D. simulans* hace 2,3 millones de años. Las poblaciones antiguas se encuentran en Eurasia que emigraron de su área ancestral hace 19.000 años (Haudry *et al.*, 2020). Y el tercer grupo de las nuevas poblaciones se sitúa en América y Australia, conjunto de una mezcla de ancestrales y poblaciones antiguas (Figura 3).

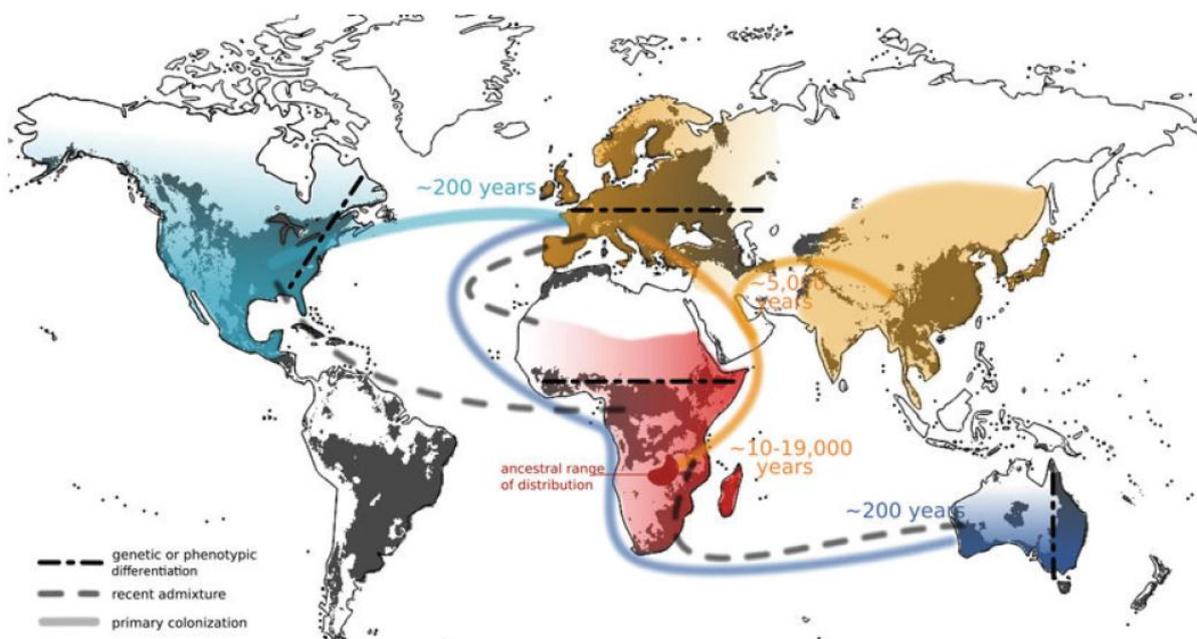


Figura. 3 Mapa que ilustra la distribución mundial de las rutas migratorias y la diferenciación cosmopolita de la especie *D. melanogaster*. En rojo las poblaciones ancestrales, las antiguas en naranja y las recién introducidas en azul, según la categorización de David y Capy (1988). Zambia está resaltado en rojo oscuro y las rutas de colonización primaria entre poblaciones se muestran en colores. Las flechas indican la colonización europea que comenzó hace 10-19.000 años, seguida de una expansión a Asia hace 5000 años. Y por último una expansión más reciente del área de distribución a Australia y a América del Norte en los últimos 200 años (Haudry *et al.*, 2020).

Pero a pesar de toda la información que se sabe de esta especie, el caso de las *Drosophilas* sigue sin estar resuelto del todo y por ello mismo se siguen haciendo modificaciones en la taxonomía.

2. OBJETIVOS

El principal objetivo general es revisar los trabajos sobre las relaciones filogenéticas y la evolución del género *Drosophila melanogaster* usando datos moleculares, que pueden ser genes individuales, muchos genes a la vez o genomas completos. Para ello se hará una revisión bibliográfica y una selección de estudios ya realizados.

Estudiaremos algunos artículos de genes individuales como el COI y el SOD, uno de origen mitocondrial y el otro de origen nuclear para poder comparar la especie *melanogaster* con otras especies cercanas pertenecientes al mismo género, además de analizar a fondo el desarrollo de la filogenia de *Drosophila* a lo largo del tiempo y posteriormente la comparación de genomas completos más actuales. En este trabajo fin de grado (TFG) se ha realizado una revisión bibliográfica sobre la historia evolutiva de *Drosophila melanogaster*. La búsqueda de datos ha sido a través de las bases de datos de *PubMed* , *Web of Science* usando palabras como ‘*melanogaster*’, ‘*Drosophila*’, ‘taxonomy’, ‘phylogenetics’, ‘introgression’ y ‘evolutionary genetics’.

3. METODOLOGÍA.

En este trabajo fin de grado (TFG) se ha realizado una revisión bibliográfica sobre la historia evolutiva de *Drosophila melanogaster*. La búsqueda de datos ha sido a través de las bases de datos de *PubMed* y *Web of Science* usando palabras como ‘*melanogaster*’, ‘modelo’ y ‘genética’. La mayoría de artículos han sido en inglés y se ha comparado la búsqueda de artículos desde los más antiguos a los más actuales para poder comparar y revisar los estudios científicos sobre *D. melanogaster* en el tiempo.

4. LAS RELACIONES EVOLUTIVAS DEL GÉNERO DROSOPHILA.

4.1 MÉTODOS GENERALES DE RECONSTRUCCIÓN FILOGENÉTICA

Simplificando el proceso de la utilización de secuencias de DNA para la determinación de la historia evolutiva de las especies, se puede decir que consta de varios pasos sucesivos que se basan en unas premisas determinadas que no siempre son fáciles de comprobar (Nei y Kumar, 2000).

1.- Adquisición de secuencias homólogas de las diferentes especies que realmente reflejen los procesos de especiación (secuencias ortólogas). Estas constituyen el material básico de análisis. Aunque actualmente la obtención de secuencias de DNA es un proceso relativamente simple, la complejidad de los genomas eucarióticos, con un gran número de duplicaciones, pueden hacer que se comparen secuencias homólogas parálogas, es decir, secuencias cuyas divergencias reflejan los procesos de duplicación y especiación simultáneamente, por lo que los resultados son correctos desde el punto de vista de la evolución de las secuencias, pero pueden no reflejar correctamente los procesos de especiación.

2.- Alineamiento de las secuencias para determinar los cambios ocurridos desde que las especies divergieron. Si bien, los cambios de nucleótidos están relativamente bien recogidos en los modelos evolutivos utilizados, para otras mutaciones, como deleciones, inversiones, etc., los criterios para su utilización son heterogéneos, lo que lleva a que en muchas ocasiones, estas zonas genómicas se eliminen de los análisis, con la pérdida de información correspondiente.

3.- Construcción del árbol filogenético a partir de las secuencias directamente, como en los métodos de máxima parsimonia o máxima verosimilitud, o pasando previamente por la creación de una matriz de distancias genéticas entre los taxones y una posterior agrupación utilizando algún método *clúster* como UPGMA. La elevada cantidad de metodologías posibles hace que en muchos casos los árboles obtenidos a partir de los mismos datos varíen. Por ello la obtención de árboles filogenéticos se complementa con metodologías estadísticas que analizan su consistencia y fiabilidad.

Cuando el número de especies y genes analizados es elevado, como ocurre en el caso de *Drosophila*, generalmente los datos se encuentran dispersos en múltiples publicaciones. Por esta causa, si se desea obtener una idea más exacta de las relaciones evolutivas entre los taxones se recurre a realizar un metaanálisis de los datos, bien utilizando los árboles obtenidos para construir uno conjunto (opción *superárbol*, Figura 4), bien reuniendo los datos originales de las secuencias para volver a realizar un árbol (opción que se suele denominar *supermatriz*, Figura 4).

Los superárboles se construyen combinando árboles parciales que presentan algunos taxones comunes para formar un nuevo dendrograma más completo (Bininda-Emonds, 2004). En un primer momento se utilizó la metodología del "injerto", en la que simplemente se añadían árboles de grupos concretos a un dendrograma que se utilizaba de andamio (Figura 4a). Actualmente se utilizan algoritmos de optimización que proporcionan el superárbol que presenta la mayor compatibilidad con todos los dendrogramas parciales que se han utilizado en su construcción (Figura 4b)

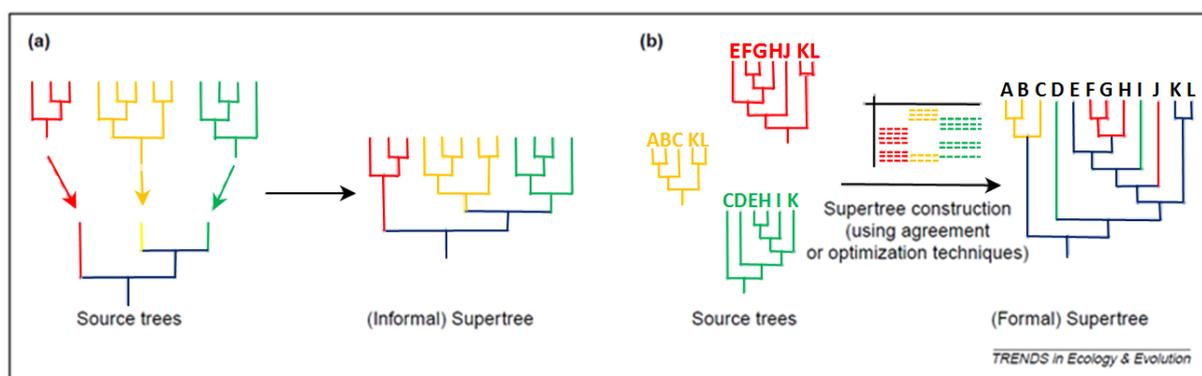


Figura 4. Imagen de superárboles. (a) En el pasado, los árboles se "injertaban" entre sí para producir el superárbol. Las partes superpuestas se muestran en el mismo color. (b) En la actualidad, los árboles se combinan para producir el superárbol (Bininda-Emonds, 2004).

La metodología alternativa de combinar todos los datos en una supermatriz (Queiroz y Gatesy, 2006) presenta la ventaja de utilizar los datos experimentales directamente, en lugar del resultado de ellas en forma de árbol, lo que a su vez permite unos métodos estadísticos

más potentes a la hora de apoyar una topología concreta frente a otras alternativas. Sin embargo, a veces los datos analizados son de tipos muy diferentes y difícilmente compatibles en un análisis conjunto (por ejemplo, datos de hibridación DNA-DNA con datos de secuencias).

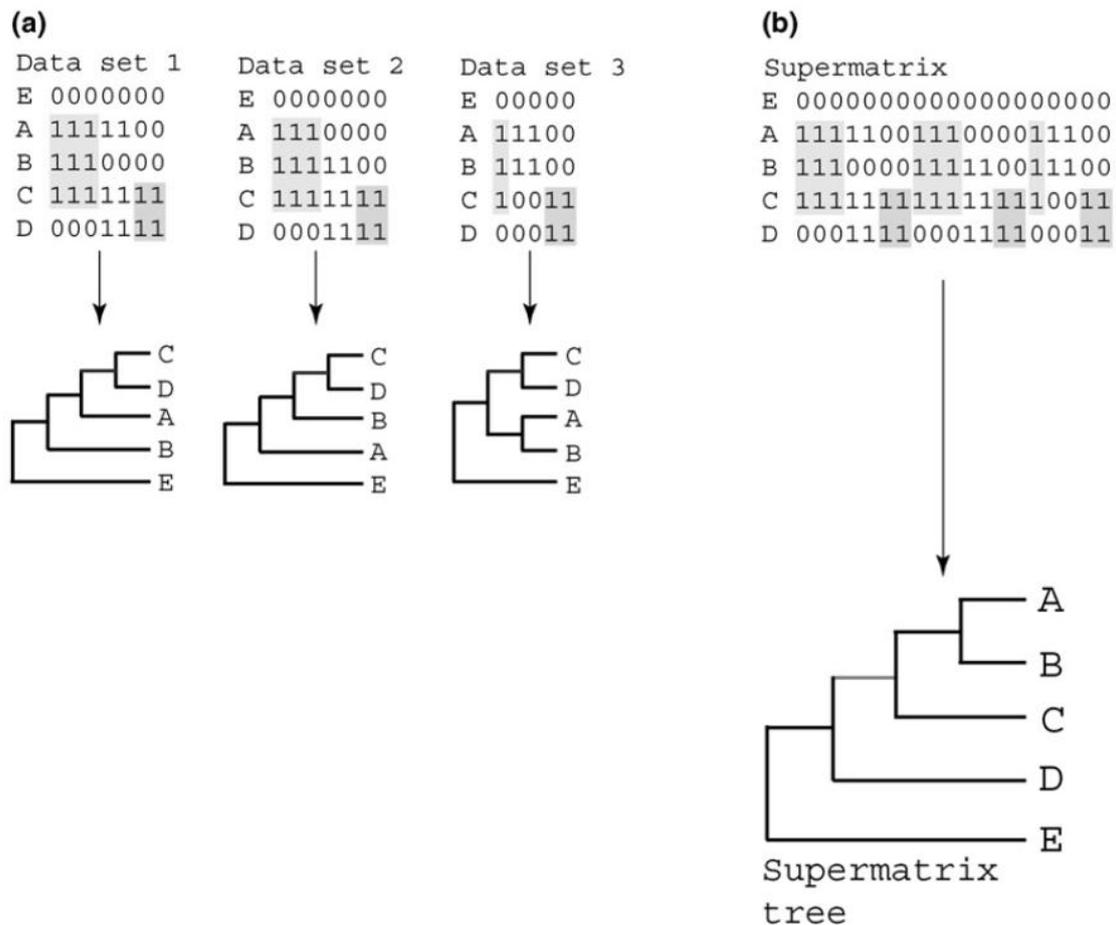


Figura 5.- Metodología supermatriz de construcción de árboles. a) Datos obtenidos en diferentes investigaciones; b) supermatriz. (Queiroz y Gatesy, 2006)

Aunque teóricamente, la metodología supermatriz parece ser mejor que la del superárbol, existen defensores de ambas, ya que las dos parten de unas premisas en las distintas etapas de su aplicación que en caso de no cumplirse pueden originar árboles erróneos, aunque presenten un apoyo estadístico significativo (von Haeseler, 2012).

4.2 PRIMERAS APROXIMACIONES MOLECULARES PARA LA RECONSTRUCCIÓN FILOGENÉTICA DE *Drosophila*

Los primeros trabajos de reconstrucción filogenética utilizaron marcadores genéticos morfológicos. Además de los autores mencionados previamente, también se debe destacar la contribución de Toyohi Okada. Este investigador fue uno de los primeros sistemáticos asiáticos de *Drosophila*, que estuvo publicando sus trabajos durante más de 40 años, comenzando en la década de 1950. Su trabajo taxonómico fue impresionante e incluyó descripciones de cientos de nuevas especies de la región asiática. Sus estudios, de modo similar a los de Throckmorton (1962, 1975, 1982) indicaban que muchos de los taxones eran parafiléticos.

La disponibilidad de datos de secuencias génicas parecía que sería capaz de resolver las incongruencias detectadas. Sin embargo, como se comprobará en los apartados siguientes, los resultados siguen sin ser completamente coherentes, en parte por los distintos genes que se han analizado, así como por las diferentes metodologías empleadas. Tampoco se puede olvidar la complejidad de la familia Drosophilidae, en la que están descritos más de 70 géneros, siendo el género *Drosophila* el que presenta el 50 % de las especies de la familia, unas 2000 (O'Grady y DeSalle, 2018).

A comienzo de la década de 1990 se empezaron a publicar las primeras filogenias basadas en secuencias génicas (Pelandakis *et al.*, 1991; DeSalle, 1992) de DNA ribosomal. Posteriormente se fueron añadiendo un conjunto de genes, tanto nucleares como mitocondriales, que fueran apropiados para realizar filogenias resolutivas entre diferentes categorías de estudio, desde poblaciones hasta géneros. Un resumen gráfico de los estudios realizados se presenta en la Figura 6.

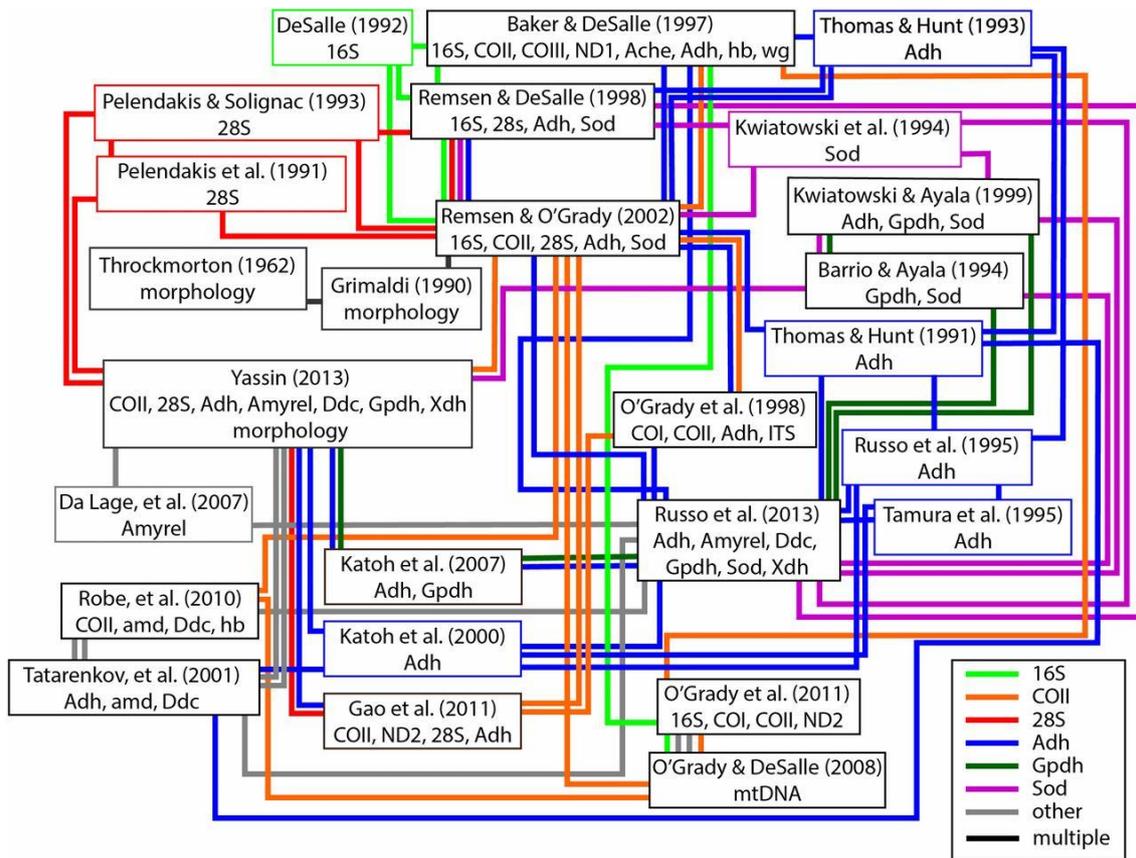


Figura 6. Resumen de la superposición de caracteres entre los principales estudios filogenéticos de Drosophilidae (O'Grady y DeSalle, 2018).

Si bien los diferentes estudios presentaban resultados diferentes respecto a la posición de algunas especies, en la mayoría de los casos aparecían dos agrupaciones consistentes que se correspondían con los subgéneros *Drosophila* y *Sophophora* (Figura 7).

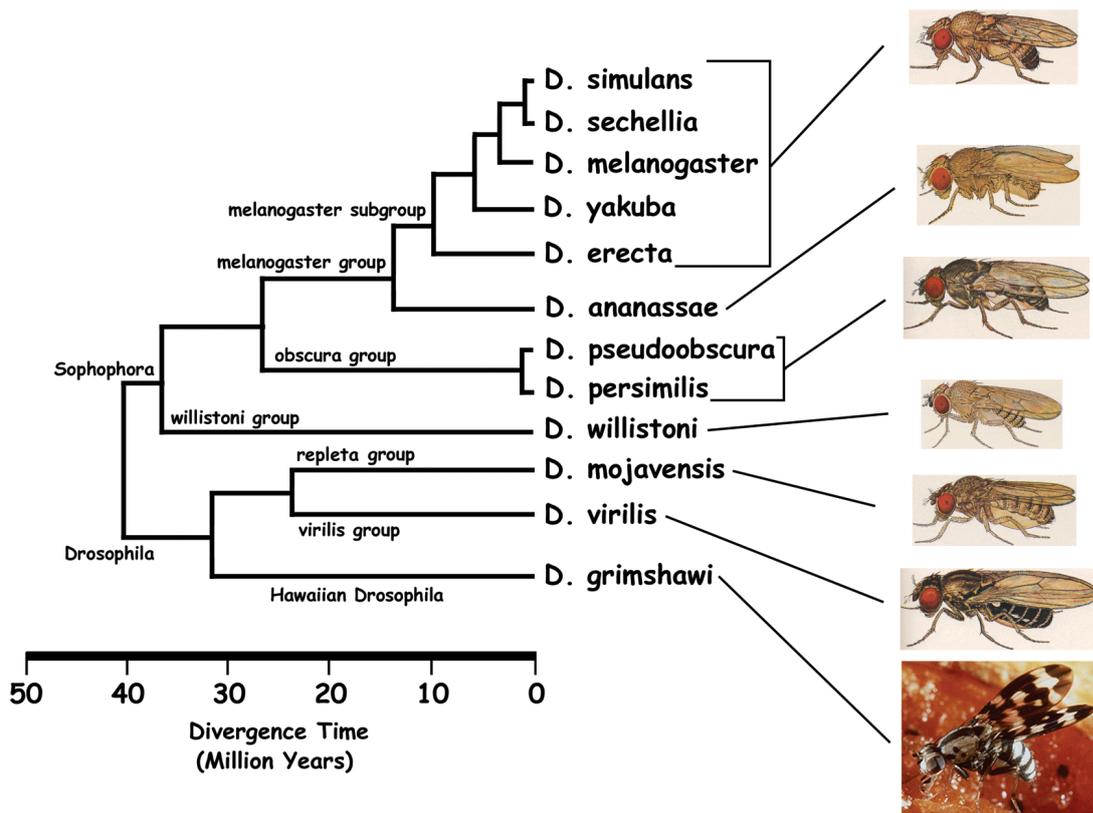


Figura 7. Árbol filogenético de 12 especies de *Drosophila* (Grün *et al.*, 2005).

La descripción y análisis molecular de nuevas especies y genes aumentaron las disparidades en los resultados obtenidos, por lo que la metodología cambió a un análisis multigénico, que en muchos casos se acompañaba de los datos morfológicos, Así, O'Grady introdujo en 1998 una filogenia multigénica temprana de las relaciones en la familia Drosophilidae, donde incluía 40 especies, que amplió más tarde a 300 especies y más de 64 géneros reconocidos. De especial interés para este autor resultaban las numerosas especies hawaianas, produciendo varias filogenias detalladas de este linaje (O'Grady *et al.*, 2011), representando uno de los ejemplos más completos de colonización y posterior especiación.

Entre los estudios realizados en los últimos 10 años enfocados en una revisión exhaustiva de la familia, hay que destacar los realizados por Yassin (2013) y Russo *et al.* (2013).

Yassin (2013) construyó una supermatriz a partir de las secuencias de 7 genes depositadas en la base datos GenBank correspondientes a 190 especies pertenecientes a 33 géneros, y

posteriormente "injertó" en el árbol obtenido 140 especies adicionales que habían sido examinados para un conjunto de 37 caracteres morfológicos utilizados en las descripciones taxonómicas. La filogenia resultante (Figura 8A) se ha utilizado para generar una clasificación revisada de la familia Drosophilidae y del género *Drosophila*.

Por su parte, Russo *et al.* (2013) utilizó un análisis de 358 especies pertenecientes a 14 géneros basado exclusivamente en una supermatriz generada a partir de las secuencias de 6 genes, aunque no todas las especies tenían información para todos los genes.

En ambos estudios se muestra claramente la complejidad de la filogenia de la familia y la dificultad de realizar una taxonomía que refleje fielmente las relaciones evolutivas que se encuentran en los dendrogramas (Figura 8A y 8B). Se puede observar que las especies del género *Drosophila* aparecen entremezcladas con otros géneros de la familia en muchas ocasiones, incluso hay especies que aparecen en agrupaciones diferentes, como *D. immigrans* o *D. tripunctata*.

Aunque con algunas discrepancias, a nivel global las filogenias obtenidas en ambos trabajos son bastante congruentes en cuanto a las agrupaciones generales que se muestran. Así la agrupación III representa el subgénero *Sophophora*, en el que se incluye *D. melanogaster*, mientras que el subgénero *Drosophila* aparece dividido en dos agrupaciones diferentes (VII y IX). Este resultado llevó a Yassin (2013) a proponer un cambio de nomenclatura consistente en dividir el subgénero en dos, denominados *Drosophila (Drosophila)* y *Drosophila (Siphlodora)*, para las agrupaciones VII y IX respectivamente.

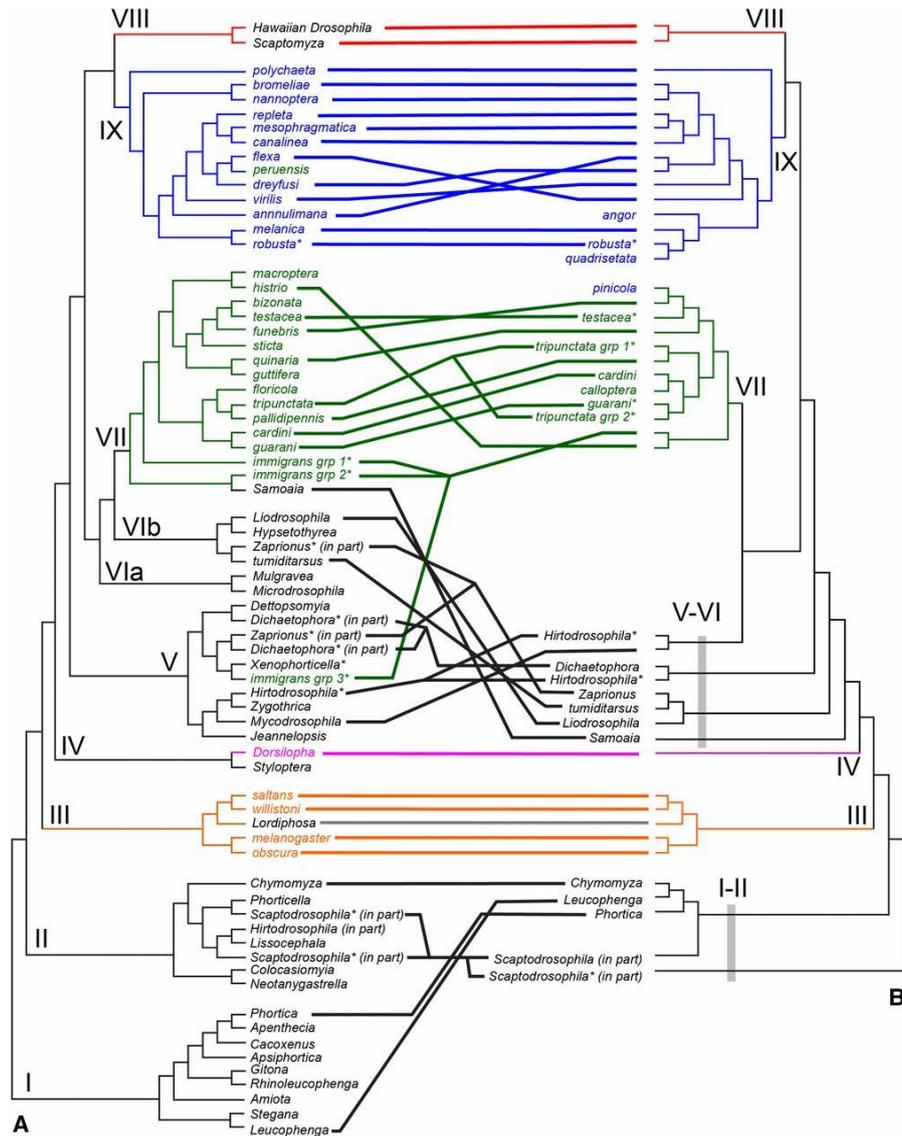


Figura 8: Comparación de filogenias (A) Yassin (2013) y (B) Russo et al. (2013) (O'Grady y DeSalle, 2018). Los taxones en minúscula pertenecen al género *Drosophila*, mientras que los que empiezan con mayúscula corresponden a otros géneros. Los colores reflejan los linajes evolutivos más importantes según la codificación del árbol de Throckmorton (1962).

Analizando en mayor detalle el subgénero *Sophophora*, se observa que entre las especies de *Drosophila*, aparecen especies del género *Lordiphosa*, evidenciando el carácter parafilético de este grupo. Este resultado se obtuvo primera vez cuando se incluyeron en los análisis especies del género *Lorphidosa* (Kato et al., 2000; Gao et al., 2011), obviados en muchos estudios previos. Esto demuestra la importancia de un correcto muestreo de la especies que se incluyen en los estudios filogenéticos para obtener resultados fiables.

Los resultados de estas filogenias moleculares desencadenaron uno de los debates más activos sobre la necesidad de que la nomenclatura taxonómica reflejara la filogenia de los grupos estudiados. Aunque esta es la tendencia actual más apoyada, en el caso de la familia Drosophilidae y otras presenta una serie de inconvenientes que no pueden ignorarse. Siguiendo la corriente mayoritaria, el género *Drosophila* debería dividirse en un conjunto de géneros que reflejaran las agrupaciones de los árboles filogenético como ha sugerido el grupo de van der Linde (van der Linde *et al.*, 2007, 2010; van der Linde y Houle, 2008). El problema de esta alternativa reside en que la especie tipo del género *Drosophila* es *D. funebris*, que parece en una agrupación diferente en los árboles. Esto supondría tener que renombrar la especie *D. melanogaster* como *Sophophora melanogaster* (por ejemplo), creando cierta confusión. Para evitar este problema, van der Linde *et al.* (2007) solicitaron a la Comisión Internacional de Nomenclatura Zoológica hacer una excepción a las reglas de nomenclatura, y que se cambiara la especie tipo de *D. funebris* a *D. melanogaster*. La decisión negativa a esta propuesta y las razones expuestas por los miembros de la Comisión están resumidas en O'Grady (2010).

Como opción alternativa, Yassin (2013) sugirió mantener la estructura general del género *Drosophila* y considerar los otros géneros como sinónimos de *Drosophila*.

La propuesta de Yassin (2013) no ha sido totalmente aceptadas, ya que algunos investigadores consideran que es demasiado prematuro realizar cambios tan drásticos y que la mejor opción es mantener la taxonomía hasta que se disponga de un mejor muestreo de especies y genes (O'Grady y Markow, 2009). En cualquier caso estas propuestas han servido para reconsiderar las relaciones dentro de esta familia y estimular la discusión dentro de la comunidad científica que en un futuro pueda conducir a una revisión integral de la familia.

4.3 LA ERA GENÓMICA

Drosophila melanogaster no solo ha sido una de las especies clave en el desarrollo de la genética, sino que su papel también está siendo crucial en el desarrollo de las metodologías. De hecho fue uno de los primeros organismos eucarióticos secuenciados y anotados con la aplicación de un conjunto de metodologías bioinformáticas novedosas en su momento (Adams *et al.*, 2000). Aunque las secuencias y las anotaciones obtenidas distaban mucho de ser completas y perfectas, este primer genoma se convirtió en la base fundacional para el estudio genómico en la familia Drosophilidae.

Solo siete años más tarde se publicaron los genomas de otras once especies (Clark *et al.*, 2007), y actualmente están disponibles los genomas de más de 150 especies diferentes, aunque, evidentemente, con distintos niveles de exactitud. Adicionalmente, también se han secuenciado más de 1000 genomas de *D. melanogaster* de poblaciones naturales y de laboratorio. Todos estos datos, junto con los conocimientos genéticos, evolutivos, taxonómicos, biogeográficos o biología del desarrollo, acumulados en esta familia de insectos, proporcionan una oportunidad incomparable para el estudio de la evolución molecular a diferentes escalas taxonómicas (Yassin 2021).

El análisis genómico permite hacer inferencias filogenéticas a una escala muy superior a los estudios revisados en el apartado anterior, ya que no está enfocado exclusivamente al cambio de nucleótidos de las secuencias de los genes analizados, sino que también permite analizar la ganancia y pérdida de genes, los reordenamientos del genoma a gran escala, las modificaciones en las zonas intergénicas y de zonas heterocromáticas o la evolución de los elementos transponibles (Bosco *et al.*, 2007).

Dada la complejidad de la filogenia de la familia detectada, y con objeto de obtener un marco de referencia fiable, en un primer momento se analizaron los genomas de 12 especies cuyas relaciones evolutivas presentaran bastante estabilidad en los diferentes estudios y que

abarcaran un amplio rango, desde las estrechamente relacionadas, hasta las que pertenecen a subgéneros diferentes (*Drosophila* 12 Genomes Consortium, 2007).

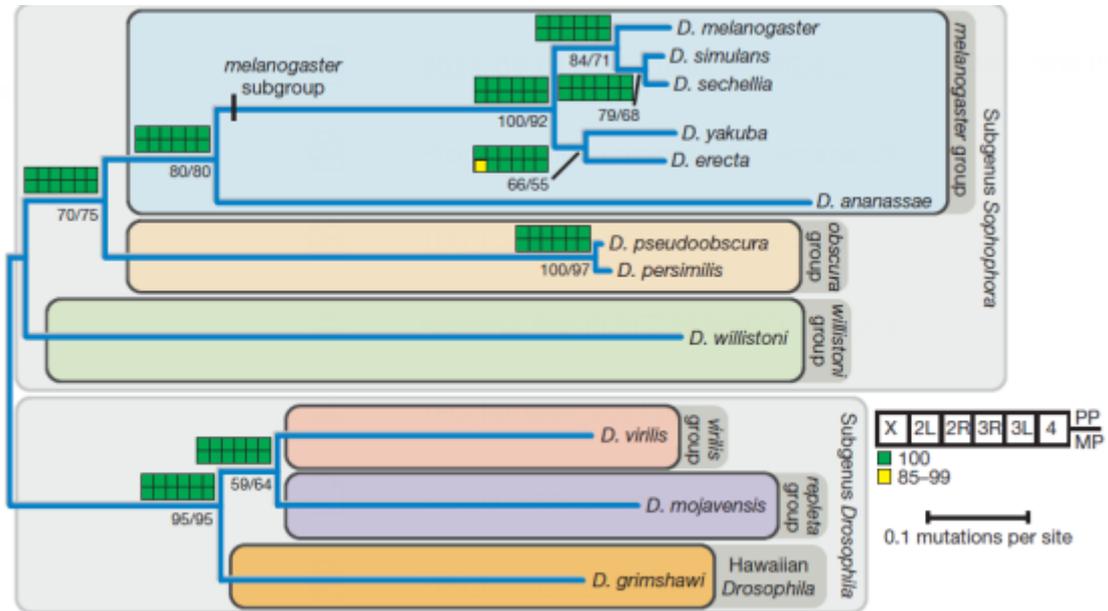


Figura 9. Esquema de las 12 especies secuenciadas de *Drosophila*. Los números debajo de los nodos indican el porcentaje de genes que respaldan una relación determinada (*Drosophila* 12 Genomes Consortium, 2007).

A pesar de la dificultad de los análisis en aquel momento, ya que muchas herramientas bioinformáticas estaban comenzando su desarrollo, de este estudio se concluyó que gran parte de las características de los genomas presentaban un grado notable de conservación en las especies estudiadas (tamaño del genoma, número de genes, tipos de transposones y su distribución, etc.), aunque al analizar la localización de los genes y los cambios estructurales detectados, se encontraron un gran número de reordenaciones génicas. Esto puede observarse en los gráficos donde se comparan las localizaciones de los genes entre *D. melanogaster* y las otras especies en los brazos cromosómicos, que en *Drosophila* se denominan elementos Müller. Aunque los brazos cromosómicos de diferentes especies presentan casi los mismos genes, su disposición es cada vez más diferente cuanto más alejadas estén las especies en el árbol (Figura 10).

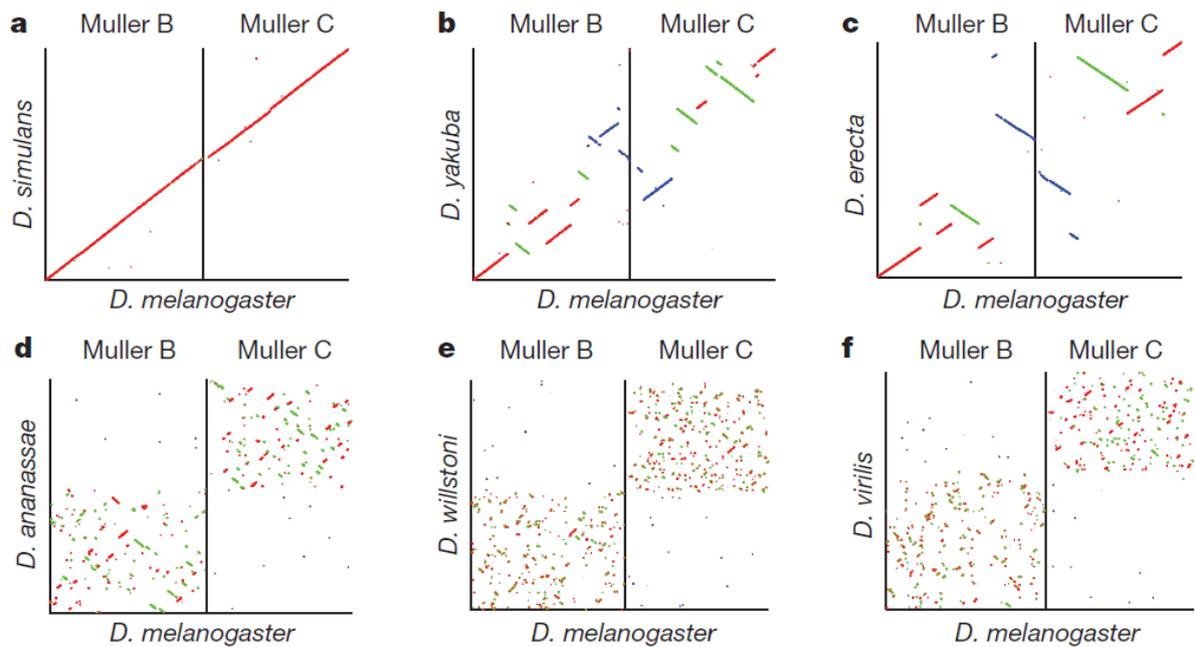


Figura 10. Gráficos de sintenía para los elementos B y C de Müller con respecto al orden de los genes de *D. melanogaster*. El eje horizontal muestra el orden de los genes de *D. melanogaster* para los elementos B y C de Müller y el eje vertical mapea ubicaciones homólogas en especies individuales (a-f en distancia evolutiva creciente de *D. melanogaster*). De izquierda a derecha en el eje x va de telómero a centrómero para el elemento B de Müller, seguido por el elemento C de Müller de centrómero a telómero. Las líneas roja y verde representan segmentos sintéticos en la misma orientación o en la inversa a lo largo del cromosoma en relación a *D. melanogaster*. Los segmentos azules muestran la transposición genética de genes de un elemento a otro (*Drosophila* 12 Genomes Consortium, 2007).

Desde este estudio hasta la actualidad se han incrementado las especies analizadas, aunque de momento siguen predominando aquellas que se mantienen fácilmente en los laboratorios, generalmente pertenecientes a los dos subgéneros mayoritarios (*Sophophora* y *Drosophila*), como en el trabajo de Suvorov *et al.* (2022), en el que se analizaron 155 genomas pertenecientes a 149 especies. Los datos que se van obteniendo indican que la introgresión es un fenómeno bastante frecuente en la evolución de la familia Drosophilidae, lo que añade un nuevo factor de complejidad para el establecimiento de una filogenia estable a partir del estudio de unos pocos genes o secuencias.

La introgresión, o transferencia de genes de una especie a otra debido a procesos de hibridación y posteriores retrocruzamientos de los híbridos con alguna de las especies no se consideraba un elemento crítico en *Drosophila*, ya que los híbridos detectados en la naturaleza han sido muy escasos, pero los estudios genómicos indican que es un fenómeno detectable a lo largo de la filogenia de este grupo (Suvorov *et al.*, 2022). El efecto de la introgresión es que las secuencias implicadas dan lugar a un dendrograma que no refleja la

filogenia real de las especies analizadas. En los análisis genómicos es posible detectar dichas secuencia mediante distintas pruebas de incongruencia, siendo quizás la más popular la denominada prueba ABBA-BABA o prueba D de Patterson (Green *et al.*, 2010). De manera sencilla, esta prueba se basa en que cuando se analiza un locus filogenéticamente informativo con dos alelos (A y B) en cuatro especies relacionadas se pueden obtener varias relaciones entre el árbol de la especies y el de los alelos (Figura 11)

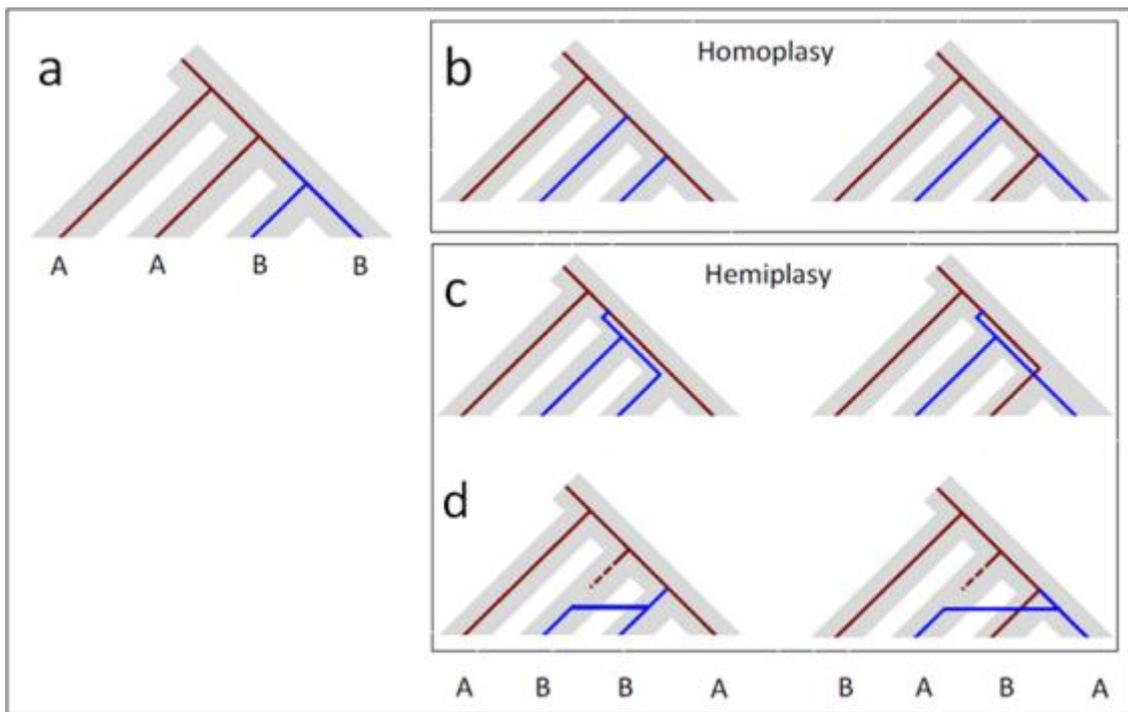


Figura 11. ABBA-BABA prueba genómica, demostrando diferentes escenarios posibles de incongruencia entre sitios genómicos bi-alelicos (alelos coloreados en azul y rojo) y el árbol de especies (en gris). (Yassin, 2021) .

Mientras que la disposición alélica en la Figura 11a es congruente con el árbol de las especies, en los casos 11b, 11c y 11d se observan incongruencias. Suponiendo que el árbol específico se haya obtenido de datos genómicos, la mayoría de los loci informativos serán congruentes, y aquellos que presentan incongruencias se deberán a casos de homoplasia (el mismo alelo se ha originado de manera independiente en dos casos) o de hemiplasia (alelo tiene un origen único que puede haberse originado en un momento anterior y coexistido con su alternativa, 11c, o haberse originado en una especie y haber pasado a otra por introgresión, 11d). Mientras que en los casos 11b y 11c, el resultado se debe a procesos aleatorios, y por tanto se espera

que exista en el genoma un número similar de lugares ABBA y BABA, el exceso de una de las dos configuraciones apoya la existencia de introgresión.

De los análisis realizados por Suvorov *et al.* (2022) se desprende que la mayoría de las agrupaciones del dendrograma muestra signos de introgresión y al menos un 10 % del genoma daría lugar a unos árboles alterados en alguna zona de su topología.

Aunque de momento no se han resuelto muchas de las incógnitas que surgieron con los análisis filogenéticos tradicionales, el incremento progresivo de especies secuencias, en especial aquellas que presentan más dificultades para su mantenimiento en los laboratorios, irán conduciendo a la obtención de filogenias más fiables, obteniéndose la creación de una estructura taxonómica de referencia y la integración de datos moleculares y morfológicos a gran escala.

Tampoco se puede olvidar que varias expediciones de muestreo, principalmente en las regiones tropicales del Nuevo y Viejo Mundo, y en las islas de Hawai, han proyectado el número aproximado de especies de Drosophilidae (Kaneshiro 1997; Grimaldi y Nguyen 1999; Grimaldi *et al.* 2000). Una estimación conservadora, basada en estos datos, es que solo el 75% de las especies se conocen actualmente (O'Grady *et al.*, 2018). Dadas estas estimaciones, la diversidad el número de especies en esta familia puede llegar a alcanzar las 5200, lo que significa que centenares de especies esperan ser descubiertas, descritas y ubicadas en la filogenia de *Drosophila*.

5. CONCLUSIÓN

Las moscas de la familia Drosophilidae han sido una parte importante de biología. De los primeros mutantes visibles descubiertos en laboratorio. Estas moscas han hecho importantes contribuciones a nuestra comprensión de casi todos los aspectos de la biología moderna. Pocos grupos de organismos han recibido tanta atención como *D. melanogaster* y sus parientes cercanos del género *Drosophila* y la familia Drosophilidae. Aún queda mucho por

conocer acerca de las relaciones filogenéticas dentro de este sistema modelo. Sin embargo, al igual que *D. melanogaster* sirve como modelo para la genética humana y el desarrollo, la familia Drosophilidae sirve como un maravilloso ejemplo de la naturaleza revisionista de la sistemática, y la forma en que los sistemáticos incorporan continuamente información biológica dispar y explotan nuevas tecnologías para refinar los esquemas de clasificación. Drosophilidae también es un modelo poderoso de cómo se llevará a cabo la investigación sistemática futura.

Es probable que dentro de una década, muchas especies de *Drosophilas* tengan genomas completamente secuenciados, grandes cantidades de datos morfológicos e información de rasgos de comportamiento y una comprensión detallada de la arquitectura genética.

6. REFERENCIAS

1. Adams, M.D., Celniker, S. E., Holt, R. A., Evans, C.A., *et al.*, (2000). "The Genome Sequence of *Drosophila melanogaster*", *Science*, 287, pp. 2185-2195.
2. Bächli, G. (2008) *TaxoDros: The database on taxonomy of Drosophilidae*. Disponible en: <https://www.taxodros.uzh.ch> (Accedido: 20 de agosto de 2023).
3. Bininda-Emonds, O. R. P. (2004) "The evolution of supertrees", *Trends in ecology and evolution*, 19(6), pp. 315-322.
4. Bosco, G. P., Campbell, J. T., Leiva-Neto, y T. A. Markow, 2007 "Analysis of *Drosophila* species genome size and satellite DNA content reveals significant differences among strains as well as between species" *Genetics* 177, pp. 1277–1290.
5. Caccone, A., Amato, G. D. y Powell, J. R. (1988) "Rates and patterns of scnDNA and mtDNA divergence within the *Drosophila melanogaster* subgroup", *Genetics*, 118, pp. 671–683.
6. Clark, A.G., Eisen, M.B., Smith, D. R., Bergman, C. M., Oliver, B., Markow, T. A., y Gelbrt, W. 2007. "Evolution of genes and genomes on the *Drosophila* phylogeny". *Nature*, 450(8), pp. 203-218.

7. Coyne, J. A., Boussy, I. A., Prout, T., Bryant, S. H., Jones, J. S., y Moore, J. A. (1982). "Longdistance migration of *Drosophila*". *Am. Nat.* 119, pp. 589–595.

8. David JR., Capy, P., (1988) "Genetic variation of *Drosophila melanogaster* natural populations". *Trends Genet* 4, pp. 106–111.

9. DeSalle, R., (1992) "The phylogenetic relationships of flies in the family Drosophilidae deduced from mtDNA sequences". *Molecular Phylogenetics and Evolution* 1, pp. 31– 40.

10. Drosophila 12 Genomes Consortium, A. G., Clark, M. B., Eisen, D. R., y Smith, C. M., 2007 "Evolution of genes and genomes on the *Drosophila* phylogeny". *Nature* 450, pp. 203–218.

11. Gao, J., Y. Hu, M. J. Toda, T. Katoh, and K. Tamura, 2011 "Phylogenetic relationships between *Sophophora* and *Lordiphosa*, with proposition of a hypothesis on the vicariant divergences of tropical lineages between the Old and New Worlds in the family Drosophilidae". *Mol. Phylogenet. Evol.* 60, pp. 98–107.

12. Green, R. E., Krause, J., Briggs, A.W., Maricic, T., Stenzel, U., y Kircher, M (2010). A draft sequence of the Neandertal Genome [Online]. *Science*, 328(5979), 710–722. Available: <https://doi.org/10.1126/science.1188021>.

13. Grimaldi, D. A., y T. Nguyen, 1999 Monograph on the spittlebug flies, genus *Cladochaeta* (Diptera, Drosophilidae, *Cladochaetini*). *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* 241: 1–316.

14. Grimaldi, D. A., E. L. Quinter, and T. Nguyen, 2000 Fruit flies as ecological indicators: species diversity and abundance of Drosophilidae (Diptera) along an altitudinal transect in the Parc National de Marojejy, Madagascar. *Fieldiana Zool.* 97: 123–135.

15. Grün, D., Wang, Y. L., Langenberger, D., Gunsalus, K. C. y Rajewsky, N. (2005) "MicroRNA target predictions across seven *Drosophila* species and comparison to mammalian targets", *PLoS computational biology*, 1(1): e13. doi: 10.1371/journal.pcbi.0010013

16. Haudry, A., Laurent, S., y Kapun, M., (2020). Population Genomics on the Fly: Recent Advances in *Drosophila*.

17. Kaneshiro, K. Y., 1997. "Perkins' legacy to evolutionary research on Hawaiian Drosophilidae (Diptera)". *Pacific Science* 51, pp. 450–46.

18. Katoh, T., K. Tamura, y T. Aotsuka, 2000 "Phylogenetic position of the subgenus *Lordiphosa* of the genus *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) inferred from alcohol dehydrogenase (*Adh*) gene sequences." *J. Mol. Evol.* 51, pp. 122–130.

19. Keller, A., (2007) “*Drosophila melanogaster*’s history as a human commensal. *Current Biology*”

20. Kwiatowski, J., Skarecky, D., Bailey, K., y Ayala, F. J. (1994) “Phylogeny of *Drosophila* and related genera inferred from the nucleotide sequence of the Cu,Zn Sod gene”. *Journal of Molecular Evolution* 38, pp. 443–454.

21. Lachaise, D., Cariou, M. L., David, J. R., Lemeunier, F., Tsacas, L., y Ashburner, M. (1988). “Historical biogeography of the *Drosophila Melanogaster* species subgroup”. *Evol. Biol.* 22, 159–225.

22. Lachaise, D. y Silvain, J. F. (2004) "How two Afrotropical endemics made two cosmopolitan human commensals: the *Drosophila melanogaster*-*D. simulans* palaeogeographic riddle", *Genetica*, 120, pp. 17-39.

23. Markow, A. y O’Grady, M. (2007) “*Drosophila* Biology in the Genomix Age”, *Genetics* 177, pp. 1269-1276.

24. Müller, J. H., 1940. “Bearings of the *Drosophila* work on systematics”, pp. 185-268 en *New systematics*, editado por J. HUXLEY. Clarendon Press, Oxford.

25. Nei, M., Kumar, S., (2000) *Molecular Evolution and Phylogenetics*. 1.º ed. Oxford University Press.

26. O’Grady, P. M., 1998 Phylogenetic relationships of flies in the family Drosophilidae inferred by combined analysis of molecular and morphological data sets. University of Arizona.

27. O’Grady, P.M., De Salle, R., (2018) “Phylogeny of the Genus *Drosophila*”, *Genetics*. 209, pp. 1-25.

28. O’Grady, P. M. y Kidwell, M. G. (2002) "Phylogeny of the subgenus *Sophophora* (Diptera : Drosophilidae) based on combined analysis of nuclear and mitochondrial sequences", *Molecular phylogenetics and evolution*, 22, pp. 442–453.

29. O’Grady, P. M., y Markow, T. A., 2009 “Phylogenetic taxonomy in *Drosophila*”. *Fly (Austin)* 3, pp. 10–14.

30. O’Grady, P. M., Lapoint, R. T., Bonacum, J., Lasola, J., Owen, E., Wu, Y., y DeSalle, R. 2011. “Phylogenetic and ecological relationships of the *Hawaiian Drosophila* inferred by mitochondrial DNA analysis”. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 58 , pp. 244-256.

31. Pelankis, M., D., Higgins, G., y Solignac, M., 1991 "Molecular phylogeny of the subgenus *Sophophora* of *Drosophila* derived from large subunit of ribosomal RNA sequences". *Genetics* 8, pp. 87-94
32. Queiroz, A., Gatesy. J., 2006 "The supermatrix approach to systematics". *Trends in Ecology and Evolution*. 22 (1), pp. 34-41.
33. Russo, C. A., Mello, B., Frazão, A., y Voloch, C. M., 2013 "Phylogenetic analysis and a time tree for a large drosophilid data set (Diptera: Drosophilidae)". *Zool. J. Linn. Soc.* 169, pp. 765–775.
34. Silva, J. C., y Kidwell, M. G., (2000) "Horizontal transfer and selection in the evolution of P elements", *Molecular biology and evolution*, 17, pp. 1542–1557.
35. Silva, J. C., y Kidwell, M. G., (2004) "Evolution of P elements in natural populations of *Drosophila willistoni* and *D. sturtevantii*", *Genetics* 168, pp. 1323–1335.
36. Sturtevant, A. H., (1921). *The North American species of Drosophila* (Washington: Carnegie Institution of Washington).
37. Suvorov, A., Kim, B. Y., Wang, J., Armstrong, E. E. *et al.* (2022) "Widespread introgression across a phylogeny of 155 *Drosophila* genomes", *Current biology*, 32(1), pp. 111-123.
38. Tataronov, A., Kwiatowski, J., Skarecky, D., Barrio, E. y Ayala, F. J. (2001) "On the evolution of Dopa decarboxylase (Ddc) and *Drosophila* systematics". *Journal of Molecular Evolution* 48, pp. 445–462.
39. Throckmorton, L. H. (1962) "The problem of phylogeny in the genus *Drosophila*". *University of Texas Publication* 6205, pp. 207-343.
40. Throckmorton, L. H., 1975 "The phylogeny, ecology and geography of *Drosophila*", pp. 421–469 in *Handbook of Genetics*, edited by R. King. Plenum Publishing Corporation, New York.
41. Throckmorton, L. H., 1982 "Pathways of evolution in the genus *Drosophila* and the founding of the repleta group", pp. 33–47 in *Ecological Genetics and Evolution: the Cactus-Yeast-Drosophila Model System*, edited by J. F. S. Barker and W. T. Starmer. Academic Press, New York.
42. Van der Linde, K., y Yassin, A., 2010 "The fruit fly formerly known as *Drosophila*". *New Sci.* 206, pp. 24–25.

43. Van der Linde, K., y Houle, D., 2008 “A supertree analysis and literature review of the genus *Drosophila* and closely related genera (Diptera, Drosophilidae)”. *Insect Syst. Evol.* 39, pp. 241–267.
44. van der Linde, K., G. Bächli, M. J. Toda, W. X. Zhang, T. Katoh *et al.*, 2007 *Drosophila* Fallen, 1832 (*Insecta*, Diptera): proposed conservation of usage. *Bull. Zool. Nomencl.* 64, pp. 238–242.
45. Von Haeseler, A. Do we still need supertrees?. *BMC Biol* 10, 13 (2012). <https://doi.org/10.1186/1741-7007-10-13>.
46. Yassin, A., 2013 Phylogenetic classification of the Drosophilidae *Rondani* (Diptera), “the role of morphology in the postgenomic era”. *Syst. Entomol.* 38, pp. 349–364.
47. Yassin, A. (2021). Systematics in the (Post)genomic Era: A Look at the *Drosophila* Model. In *Systematics and the Exploration of Life* (eds P. Grandcolas and M.-C. Mauren). <https://doi.org/10.1002/978111947670.ch4>