

Genes y especies

A. G. Sáez¹

(1) Departamento de Biodiversidad y Biología Evolutiva. Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC, C/ José Gutiérrez Abascal 2, E-28006 Madrid, España.

➤ Recibido el 4 de diciembre de 2008, aceptado el 8 de enero de 2009.

Sáez, A. G. Genes y especies. (2009). *Ecosistemas* 18(1):3-9.

La posibilidad de secuenciar y manipular los genes sigue abriendo fronteras en el estudio de las especies y la especiación. En tiempos recientes particularmente en dos direcciones. Por un lado, la secuenciación del gen COI (y otros) en miles de muestras de forma sistemática y masiva, el llamado "DNA barcoding", está revelando una gran cantidad de biodiversidad, en buena medida previamente no sospechada y correspondiente a especies crípticas (morfológicamente irreconocibles). En segundo lugar, el estudio de los genes responsables de los cambios morfológicos nos está haciendo volver a dar una creciente importancia a la selección como motor de la especiación y de la evolución, incluso en presencia de dosis importantes de flujo génico.

Palabras clave: especies, especiación, genética evolutiva, códigos barra, biodiversidad, genómica ecológica, especies crípticas.

Sáez, A. G. Genes and species. (2009). *Ecosistemas* 18(1):3-9.

Our increasing access to the identification and manipulation of genes keeps paving the way to our understanding of species and speciation. In my view, following two different threads in recent times: On the one hand, DNA barcoding - a systematic, molecular and complementary approach to species identification - is revealing a great deal of biodiversity, much of it previously unsuspected and morphologically cryptic. Secondly, a functional view of how genes shape microevolutionary changes is emphasizing the role of natural selection in the formation and evolution of species, even in the face of abundant gene flow.

Key words: species, speciation, evolutionary genetics, DNA barcoding, biodiversity, ecological genomics, cryptic species.

Introducción

Desde hace aproximadamente dos décadas, la genética molecular está ejerciendo una influencia enorme en los estudios sobre especies y especiación, es decir, tanto en relación a la caracterización genética de los límites entre especies y poblaciones (Avice 1994), como más recientemente en cuanto a los mecanismos de formación y evolución de las especies (Coyne y Orr 2004). La primera tarea es predominantemente descriptiva, explicándonos el grado o el patrón de diferenciación filogenética entre especies o poblaciones, mientras que la segunda es más funcional. En este artículo pretendo repasar brevemente el primer aspecto, sobre todo centrándome en la reciente influencia que está ejerciendo el "DNA barcoding" sobre nuestra concepción de los límites entre especies. En segundo lugar pretendo repasar la influencia que la genética molecular está ejerciendo sobre nuestra concepción del proceso de especiación y de diferenciación fenotípica de las poblaciones naturales.

El tamborileo a menudo desigual de fenotipos y genotipos

Como escribió el padre de la filogeografía (biogeografía molecular), John Avice, "*morphological and molecular evolution can march to the beats of different drummers*" (Avice 1990). Lo cual no quiere decir que marchen de forma independiente, sino que no tienen porqué marchar necesariamente al mismo ritmo. El ejemplo concreto al que Avice se refería era el de los ciclidos, peces de una morfología y ecología enormemente variada pero, que por tener muchos de ellos un origen muy reciente, presentan unas diferencias moleculares mínimas. Sin embargo, es más común en la literatura el caso contrario, en el que la diferenciación genética supera a la morfológica.

Ese es el caso de las llamadas especies crípticas, que son especies –en cualquiera de las acepciones no morfológicas posibles de este término– pero que a nivel práctico son indistinguibles por su apariencia (Sáez y Lozano 2005). Tan indistinguibles que normalmente, antes de acudir a los marcadores moleculares, se suelen considerar como una sola especie. Uno de los ejemplos más interesantes descubiertos en tiempos relativamente recientes es el caso de unas mariposas americanas conocidas como *Astrartes fulgerator*, y que según Hebert et al. (2004) deberían clasificarse como, al menos, diez especies diferentes. De hecho es muy probable que sean muchas más de diez especies, puesto que estos diez linajes se han descubierto en el noroeste de Costa Rica, mientras que la “especie” tiene un rango de distribución mucho mayor, desde el sur de los EEUU hasta el norte de Argentina. Digo que es un caso muy interesante porque aunque las diferencias morfológicas son mínimas con respecto a los adultos, no lo son en absoluto con respecto a las larvas, de colores muy dispares (**Figura 1**). El problema hasta hace poco es que no se conocía la correspondencia entre larvas y adultos. También presentan diferencias en cuanto a su comportamiento y ecología, además de las genéticas.

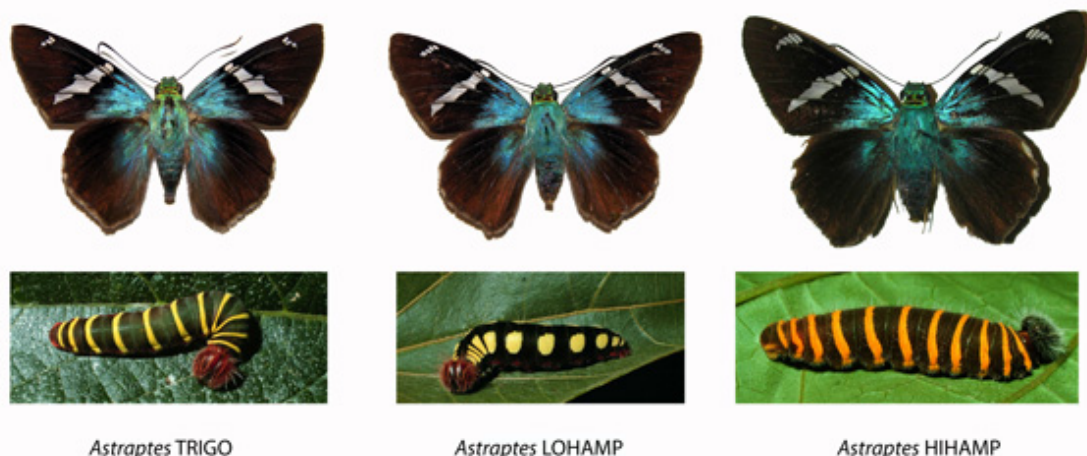


Figura 1. Especies crípticas inicialmente descritas como *Astrartes fulgerator*. Adultos (mariposas) y larvas (orugas). Sólo las orugas son claramente distinguibles morfológicamente. También se distinguen ecológica y genéticamente. Los nombres mostrados son provisionales. Las fotografías de este montaje fueron amablemente cedidas por el profesor Daniel Janzen (Universidad de Pensilvania, EEUU).

Se puede argumentar que las especies crípticas no son entidades naturales, puesto que son nuestros sentidos y nuestra capacidad de discernimiento la que las define. Sin embargo, en mi opinión, eso no les quitaría relevancia. Para empezar, muchos conceptos biológicos tienen una buena dosis de subjetividad, como sin ir más lejos el mismo concepto de especie, que puede estar basado en diferentes criterios, como el reproductivo, filogenético, ecológico, etc, cuya elección depende del propio taxónomo, quien puede dar más énfasis a unos aspectos que a otros. Eso no quiere decir que las especies no existan, sino que no existen bajo una sola definición, y que son una realidad multifacética y continua, y no unidimensional y discreta (Hey 2001). Por otro lado, el hecho de que normalmente las especies sean distinguibles por su morfología, mientras que otras no lo sean, o con mucha dificultad, tiene implicaciones biológicas reales. Por ejemplo, nos puede indicar que las especies crípticas se encuentran en un pico adaptativo del que les resulta difícil salir. Es decir, que aunque sigan cambiando a nivel genético, ecológico, o etológico, su morfología se encuentra “congelada”, tal vez porque sea óptima y no necesite cambiar, o tal vez porque los cambios que pudieran ser ventajosos no se puedan dar, por ejemplo por constricciones en su desarrollo. Pudiera tal vez también indicarnos que el modo de reconocimiento entre esas especies no fuera visual, puesto que su morfología es similar o idéntica, sino químico (feromonas), o comportamental.

Los marcadores moleculares han permitido un aumento exponencial de la identificación de las especies crípticas (Bickford et al. 2007). Pero una aproximación relativamente reciente, el “DNA barcoding”, que podríamos traducir por “códigos de ADN”, está acelerando todavía más ese reconocimiento. Esta es la idea de que la descripción taxonómica de las especies debería basarse no sólo en la descripción morfológica de los ejemplares *tipo*, sino además, en una secuencia de ADN que fuera fácil de obtener para cualquier organismo. Existe un consenso bastante generalizado en cuanto a cuál debe ser el gen a amplificar en animales: la subunidad I de la oxidasa del citocromo c (ó COI, de “cytochrome c oxidase subunit I”; Hebert et al. 2003).

En plantas todavía se está buscando ese consenso (Pennisi 2007). Los códigos de ADN son una idea surgida desde la ecología, más que desde la biología evolutiva, que es más consciente de la simplicidad del planteamiento, y por lo tanto de sus problemas. Pero, a pesar de ellos, es precisamente la generalización de su uso lo que convierte la idea en útil. Iniciativas coordinadas por el “Consortium for the Barcode of Life” (<http://www.barcoding.si.edu/>), entre otras, agrupan proyectos que

conllevan la secuenciación de enormes grupos de muestras, normalmente referidas a grandes grupos taxonómicos, como por ejemplo a las aproximadamente 10.000 especies de aves existentes en nuestro planeta, o a las más de 30.000 especies de peces, o las referidas al muestreo de áreas geográficas más o menos extensas, además de numerosas iniciativas más específicas.

Los códigos de ADN aportan una fuente masiva y muy eficiente de información molecular, lo que sin duda nos ofrece una primera aproximación muy útil. Sin embargo, no son capaces de ofrecernos una descripción detallada de la biodiversidad, ni de estudiar los procesos evolutivos subyacentes. Por ejemplo, en mi opinión, el uso de un solo marcador no puede ser definitivo en la asignación de especies crípticas (Sáez et al. 2003). Individuos de una misma especie pueden diferir bastante en relación a una secuencia génica dada (por ej., Sáez et al. 2000). Es cierto que los estudios con códigos de ADN intentan tener eso en cuenta considerando también las diferencias intraespecíficas, que típicamente tienen una media estadística claramente menor que la media de las diferencias interespecíficas. Pero aun así, la distribución de la biodiversidad, sea a nivel genotípico o fenotípico, no es uniforme, y por lo tanto sería prematuro establecer límites entre especies basándose en un solo gen, especialmente en especies sexuales, que mezclan sus genealogías mediante segregación cromosómica y recombinación. De forma ideal, lo que nos hace decidir que dos linajes son independientes es que diferentes marcadores moleculares nos den el mismo patrón, con dos o más grupos monofiléticos recíprocos. Si además, los diferentes linajes conviven en el espacio y en el tiempo, es decir, son simpátricos, teniendo por lo tanto la posibilidad de cruzarse sexualmente, entonces podremos estar más seguros de que estamos hablando de aislamiento reproductivo, que aún es el criterio más generalizado para distinguir especies.

De Darwin a Mayr y otra vez a Darwin, pasando por los genes

Fue de hecho Ernst Mayr, a veces llamado “el Darwin del siglo XX”, el mayor instigador del “concepto biológico de especie”. Según este popular criterio, las especies que catalogamos debieran ser entidades naturales caracterizadas por su mutuo aislamiento reproductivo. Aunque la mayor parte de los autores admitimos este concepto como válido en términos generales, también hay muchos que pensamos que hay que abandonar la idea de mantener un único criterio para definir las especies. Porque aunque la biodiversidad es “discontinua”, esas discontinuidades no son ni absolutas en relación a los organismos o poblaciones, ni tampoco universales en relación a los caracteres más distintivamente discontinuos. Por eso, las especies taxonómicas sólo pueden ser una aproximación de las reales, que corresponden a entidades dinámicas y multifacéticas, y que en última instancia, son los taxónomos los que deben consensuar unos límites entre especies que no pueden ser sino hasta cierto punto arbitrarios (Hey 2001). El estudio molecular de la especiación parece apoyar esta visión, que de hecho, como muchas otras ideas en biología, fue primero propuesta por Darwin -*“I believe that species come to be tolerably well-defined objects”*, aunque tengan que haber pasado 150 años para que empecemos a darle la razón (Darwin 1859).

En mi opinión, la idea más coherente, con unos límites reales pero inextricables entre especies, venida de la biología molecular es “la visión génica de la especiación”, de Chung-I Wu. Según Wu y Ting (2004), el intercambio génico al comienzo de la especiación está permitido para la mayor parte del genoma pero no para ciertas regiones, para las que la selección no permite la persistencia de las variantes alélicas de una de las subpoblaciones en la otra. Esas zonas “prohibidas” serán como islas genómicas que no se podrán intercambiar con éxito entre las poblaciones divergentes, e irán extendiéndose hacia ambos lados del cromosoma conforme se vaya completando el proceso de aislamiento reproductivo (**Figura 2**).

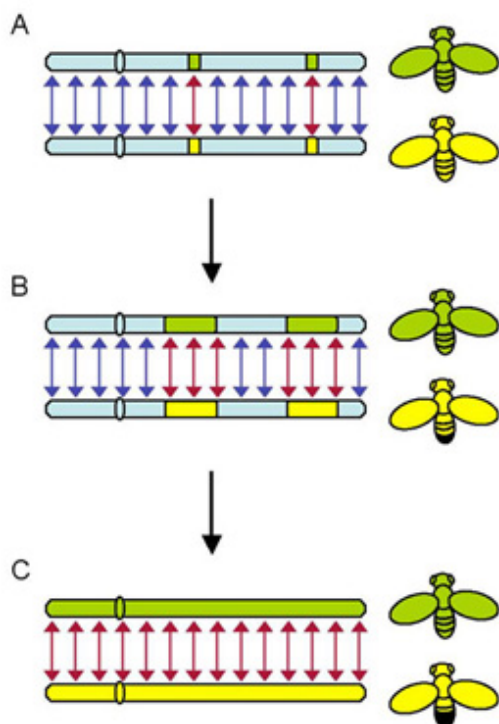


Figura 2. Modelo de especiación de Wu (revisado por Wu y Ting 2004). Las poblaciones sufren un proceso de diferenciación en sus fenotipos (representado por el color verde o amarillo de las moscas), por ejemplo debido a su especialización ecológica. Dichos fenotipos están codificados por uno o más loci del genoma (representado aquí por un sólo cromosoma). El flujo génico se mantiene (en simpatría o parapatría) para la mayor parte del genoma (flechas azules), con la excepción de los loci especializados (flechas rojas), cuyos alelos son diferencialmente eliminados de las poblaciones respectivas. Con el tiempo (del panel A al C), las regiones no intercambiables van extendiéndose hasta llegar a cubrir todo el cromosoma. Según mi propia interpretación, cabría esperar que a lo largo de este progresivo aislamiento genético, otros caracteres fenotípicos también evolucionen (representado aquí por la pigmentación del abdomen de las moscas amarillas).

Esta hipótesis explicaría porqué hay muchas especies, ecotipos, o subespecies (denominaciones en el fondo bastante arbitrarias), que aunque no estén aisladas reproductivamente, sí se diferencian claramente a nivel fenotípico. Es el caso, por ejemplo, de los dos "morfos" del caracol marino *Littorina saxatilis*. Este molusco, nativo de las costas del Atlántico Norte, presenta dos morfologías distintas, cada una de ellas asociada a uno de los lados de la zona intermareal. Se distinguen por el grosor de la concha, el tamaño de la apertura y la forma de las espirales. Tales diferencias parecen ser adaptativas al entorno, con una zona alta intermareal más cálida y con más predadores, y otra más baja. En algunos lugares intermedios de la franja se pueden encontrar híbridos aparentemente fértiles de características intermedias, lo que indica que el aislamiento reproductivo no se ha completado entre los dos ecotipos. En un estudio en el que se pretendía averiguar si la diferenciación en este organismo afectaba a todo el genoma en su conjunto, o bien por el contrario sólo se basaba en una porción de éste, se utilizaron numerosos marcadores moleculares distribuidos por todo el genoma de este caracol. Se encontró que sólo alrededor del 5% de los marcadores utilizados mostraban unas diferencias por encima de las esperadas entre ambos ecotipos, sugiriendo que sólo era una pequeña parte del genoma la que estaba dirigiendo esta diferenciación (Wilding et al. 2001).

Los genes responsables de esa especialización en *Littorina saxatilis* no se han aislado todavía, pero sí que se han aislado de otras especies: varias de *Drosophila*, peces con diferentes adaptaciones ecológicas, algunas plantas, y de varios otros organismos (Carroll 2006; Noor y Feder 2006). Estas diferencias pueden tener que ver con la morfología de los organismos, con sus adaptaciones ecológicas, y/o con su aislamiento reproductivo. De todos estos estudios yo creo que lo que más sorprende es que estas diferencias parecen depender de un pequeño número de genes. El modelo de especiación dominante hasta hace muy pocos años era, bajo distintas variantes, de Mayr. Según este modelo, la diferenciación entre poblaciones afectaría a todo el genoma de forma similar, de tal forma que cada gen tendría un efecto muy pequeño sobre la evolución del fenotipo: "The genetic basis of isolating mechanisms, in particular, seems to consist largely of a large number of genetic factors with small individual effects" (Mayr 1963). En claro contraste, por ejemplo, el gen *Odysseus* es capaz, cuando se transfiere entre distintas especies de *Drosophila*, de crear híbridos estériles, aunque requiere de algunos otros genes que por

sí solos no producen esterilidad (Sun et al. 2004). Ya se conocen muchos genes con un efecto directo sobre la evolución de las especies. Algunos de ellos se han mostrado “reincidentes”, por haber provocado cambios fenotípicos parecidos en distantes linajes evolutivos, y por lo tanto de forma paralela o independiente, múltiples veces a lo largo de la evolución. Es el caso del receptor de la melanocortina-1 (MC1R), responsable de cambios en la coloración de muy diversos grupos animales, como distintas especies de ratones, aves, algunos reptiles, y hasta humanos y neandertales (Carroll 2006).

Si uno reconstruye la filogenia con genes “neutrales” de especies o poblaciones recientemente diferenciadas, con frecuencia encuentra que esas filogenias no reflejan las diferencias morfológicas existentes entre dichas poblaciones. O sea, que los individuos con distinta morfología pueden coincidir en la misma parte del árbol, mientras que individuos similares en sus fenotipos puedan resultar muy separados en estas filogenias (**Figura 3B**). Es decir, que todavía la diferenciación no se observa en una gran parte del genoma. Sin embargo, es muy interesante comprobar que, en ocasiones, las reconstrucciones filogenéticas realizadas utilizando los genes directamente responsables de las diferencias fenotípicas, pueden resultar muy similares a los árboles que esperaríamos en base a esas diferencias. Ello sucede, por ejemplo, con *Odysseus*, gen mencionado anteriormente, en las moscas *Drosophila* o con la ectodisplasia, gen implicado en la diferenciación morfológica del pez espinoso desde su ecotipo marino al de agua dulce, transición que siguió a la última glaciación, hace de 10.000 a 20.000 años (**Figura 3A**). Así, mientras que la filogenia construida con la ectodisplasia distingue dos clados claramente diferenciados, cada uno correspondiente a un ecotipo, un árbol reconstruido con polimorfismos provenientes de un conjunto de marcadores diversos no ofrece separación alguna de los ecotipos (Colosimo et al. 2005; **Figura 3**). Estas observaciones son compatibles con el escenario propuesto por Wu y Ting (2004) en su visión génica de la especiación (**Figura 2**), pero en todo caso se encuentran más de acuerdo con Darwin, por el protagonismo otorgado a la selección natural, que con Mayr: - “Populations will drift apart genetically until a discontinuity through reproductive isolation develops, provided extrinsic barriers reduce dispersal” (Mayr 1976).

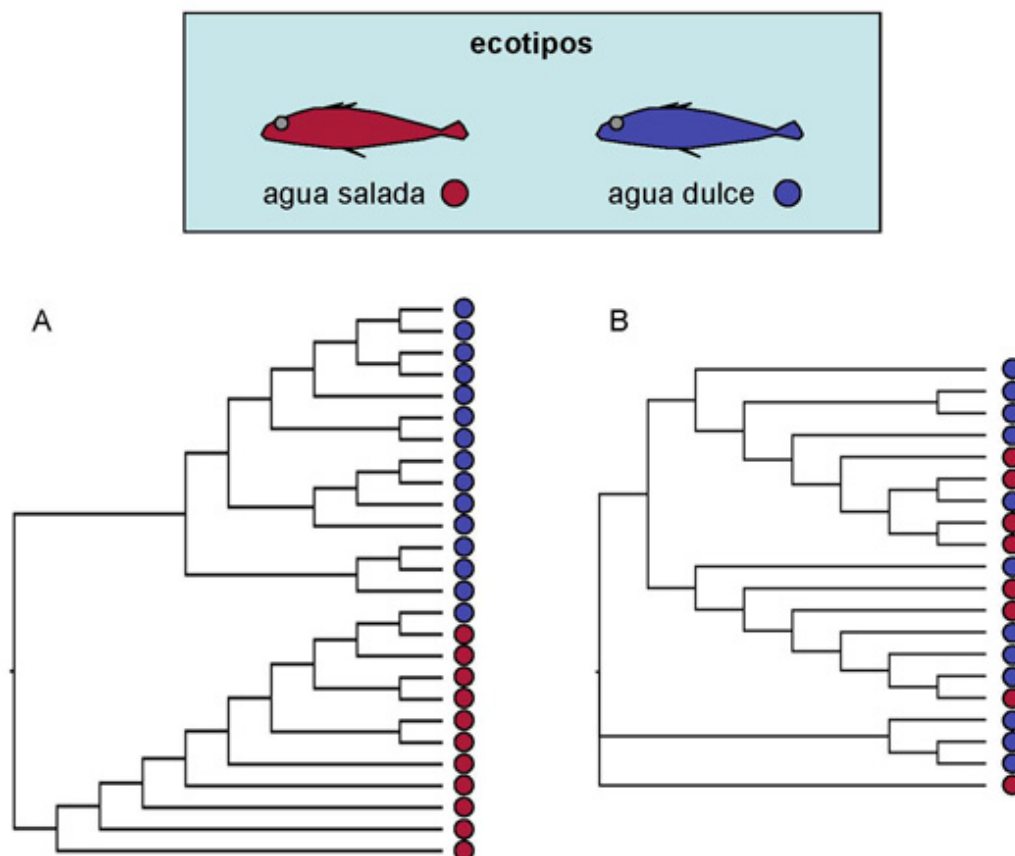


Figura 3. El pez espinoso (*Gasterosteus aculeatus*) habita las aguas costeras del Atlántico Norte, y presenta dos “ecotipos” aquí indicados esquemáticamente: el ancestral de agua salada, con placas endurecidas (en rojo), y el derivado, mejor adaptado al agua dulce y con menos placas (en azul). Mientras que la filogenia construida con el gen involucrado en dicha diferenciación, la ectodisplasia, ofrece una filogenia que mayoritariamente separa los dos tipos morfológicos (panel A), una segunda filogenia construida con 25 genes nucleares escogidos al azar no puede separarlos (panel B). Adaptado de Colosimo et al. (2005).

Pero lo más característico y dominante del legado de Mayr en relación a la especiación es la enorme importancia que concedió a las barreras geográficas. Por ejemplo, cuando dijo: *“It is unproven and unlikely that reproductive isolation can develop between contiguous populations”* (Mayr 1976). Sin embargo, y gracias en gran parte a la genética molecular, hoy se duda más de la contribución relativa de la especiación simpátrida (sin barreras físicas) frente a la alopátrida (con ellas), que de que la primera pueda tener lugar. La primera publicación al respecto realmente persuasiva fue la de Schlieven et al. (1994), a la que han seguido unas pocas más, todavía más convincentes. Lo que estos trabajos intentan demostrar es la altísima improbabilidad de una especiación en presencia de barreras geográficas, demostrando la existencia de especies recientemente originadas en lugares muy pequeños y aislados, y por lo tanto implicando, por exclusión, una especiación simpátrida. Estos hábitats son muy pequeños: lagunas surgidas de un cráter, o remotas y diminutas islas, y sin relevantes barreras físicas internas. Es además muy importante que estén lo más aislados posibles, para convencernos de que sea altamente improbable que las especies respectivas no provengan de poblaciones externas. Y por supuesto tienen que demostrar que las especies estén separadas reproductivamente, o en vías de ello. Aunque es difícil que se den todos estos criterios, tanto el trabajo de Schlieven et al. (1994) como otros trabajos posteriores son bastante convincentes, y por lo tanto, la especiación en simpatria es hoy más aceptada, aunque todavía no sepamos de su predominancia. Por supuesto es muy difícil pensar en que una especiación con flujo génico pueda tener lugar sin selección (natural o sexual), y por lo tanto ambos conceptos están estrechamente relacionados. De hecho, todos estos casos de especiación en simpatria implican algún tipo de especialización ecológica más o menos evidente, o de selección sexual. Será importante estudiar cuáles son los genes responsables de estos procesos de diferenciación, porque nos ayudarán a entender la secuencia de eventos acaecidos.

Agradecimientos

A Pedro Jordano por invitarme a participar en este número, y al Ministerio de Ciencia e Innovación por su apoyo económico: contrato Ramón y Cajal y proyecto del Plan Nacional I+D con referencia CGL2005-00307.

Referencias

Avise, J.C. 1990. Flocks of African fishes. *Nature* 347:512-513.

Avise, J.C. 1994. *Molecular markers, natural history and evolution*. Chapman and Hall, New York. USA.

Bickford, D., Lohman, D.J., Sodhi, N.S., Ng, P.K., Meier, R., Winker, K., Ingram, K.K., Das, I. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 22:148-155.

Carroll, S.B. 2006. *Endless forms most beautiful: The new science of Evo Devo*. Norton, New York. USA.

Colosimo, P.F., Hosemann, K.E., Balabhadra, S., Villarreal, G., Jr., Dickson, M., Grimwood, J., Schmutz, J., Myers, R.M., Schluter, D., Kingsley, D.M. 2005. Widespread parallel evolution in sticklebacks by repeated fixation of Ectodysplasin alleles. *Science* 307:1928-1933.

Coyne, J.A., Orr, H.A. 2004. *Speciation*. Sinauer Associates, Sunderland, MA. USA.

Darwin, C.R. 1859. *On the origin of species by means of natural selection*. John Murray, London. UK.

Hebert, P.D., Cywinska, A., Ball, S.L., deWaard, J.R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 70:313-321.

Hebert, P.D., Penton, E.H., Burns, J.M., Janzen, D.H., Hallwachs, W. 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101:14812-14817.

Hey, J. 2001. *Genes, categories, and species : the evolutionary and cognitive causes of the species problem*. Oxford University Press, Oxford. UK.

Mayr, E. 1963. *Animal species and evolution*, Harvard University Press, Cambridge, MA. USA.

Mayr, E. 1976. *Evolution and the diversity of life. Selected essays*. The Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, MA. USA.

- Noor, M.A., Feder, J.L. 2006. Speciation genetics: evolving approaches. *Nature Reviews Genetics* 7:851-861.
- Pennisi, E. 2007. Wanted: A Barcode for Plants. *Science* 318:190-191.
- Sáez, A.G., Escalante, R., Sastre, L. 2000. High DNA sequence variability at the $\alpha 1$ *Na/K-ATPase* locus of *Artemia franciscana* (brine shrimp): polymorphism in a gene for salt-resistance in a salt-resistant organism. *Molecular Biology and Evolution* 17:235-250.
- Sáez, A.G., Probert, I., Geisen, M., Quinn, P., Young, J. R., Medlin, L.K. 2003. Pseudo-cryptic speciation in coccolithophores. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100:7163-7168.
- Sáez, A.G., Lozano, E. 2005. Body doubles. *Nature* 433:111.
- Schlieven, U.K., Tautz, D., Paabo, S. 1994. Sympatric speciation suggested by monophyly of crater lake cichlids. *Nature* 368:629-632.
- Sun, S., Ting, C. T., Wu, C. I. 2004. The normal function of a speciation gene, *Odysseus*, and its hybrid sterility effect. *Science* 305:81-83.
- Wilding, C. S., Butlin, R. K., Grahame, J. 2001. Differential gene exchange between parapatric morphs of *Littorina saxatilis* detected using AFLP markers. *Journal of Evolutionary Biology* 14:611-619.
- Wu, C. I., Ting, C. T. 2004. Genes and speciation. *Nature Reviews Genetics* 5:114-122.