



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

Influencia del tamaño corporal, la distancia geográfica y la morfología en el aislamiento reproductivo del género *Balanteodrilus* (OLIGOCHAETA: ANNELIDA)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

ELIZABETH CAMPOS SÁNCHEZ



**DIRECTOR DE TESIS:
DR. CARLOS ENRIQUE FRAGOSO GONZÁLEZ
2011**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Hoja de datos del jurado

1. Datos del alumno

Campos

Sánchez

Elizabeth

56572591

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

303162375

2. Datos del tutor

Dr.

Carlos Enrique

Fragoso

González

3. Datos del sinodal 1

Dra.

María Ana

Fernández

Álamo

4. Datos del sinodal 2

Dr.

Juan

Núñez

Farfán

5. Datos del sinodal 3

Dr.

Carlos Rafael

Cordero

Macedo

6. Datos del sinodal 4

Dr.

Gerardo

Rivas

Lechuga

7. Datos del trabajo escrito

Influencia del tamaño corporal, la distancia geográfica y la morfología en el aislamiento reproductivo del género *Balanteodrilus* (OLIGOCHAETA: ANNELIDA)

88p

2011

Agradecimientos

Tal vez deba empezar por el final; este trabajo culminó con las aportaciones de los miembros del jurado. Extiendo mis agradecimientos a la Dra. María Ana Fernández Álamo, el Dr. Juan Núñez Farfán, el Dr. Carlos Rafael Cordero Macedo y el Dr. Gerardo Rivas Lechuga.

El inicio, desarrollo y conclusión de mi trabajo fue posible gracias al apoyo académico —y colateralmente psicológico— de mi asesor, el Dr. Carlos Fragoso, a quien agradezco también la confianza que depositó en mí desde un principio, la buena actitud y por sembrar en mi la inquietud científica necesaria para acabar mi trabajo e introducirme en el estudio de las lombrices de tierra.

Agradezco también al Biol. Antonio Ángeles Varela, sin cuyo apoyo este trabajo no hubiera podido realizarse, gracias, Toño, por llevarme a todos lados y enseñarme los secretos del cultivo de lombrices.

A todos los miembros eventuales y de base de la Red de Biodiversidad y Sistemática—hasta el 2009 Laboratorio de Biología de Suelos— en el INECOL—Paty, Gaby, Valeria, Karina, Rafa, Liz— por hacer que mis estancias en el instituto fueran de lo más cómodas y divertidas. Aparte tendría que mencionar a Adriana, con quien comparto un sistema de estudio, complejidades metodológicas y quien amenizó mis salidas de campo con su colombiana presencia.

A los profesores de mi taller “Ecología de la biota del suelo; su papel en la dinámica, funcionamiento y restauración de los ecosistemas” y a mis compañeros del mismo.

A Hoshy Maqueo, Catalina Macabra y Rosita Macuqui, por su invaluable ayuda en los montajes experimentales, adoptar a mis ingratos invertebrados algunas veces y ser, en conclusión, de lo más chéveres al cubo.

A mi familia jalapeña —Cuca y Tachis— por proveerme las llaves de su inmueble y siempre hacerme sentir como en casa.

Finalmente, —y porque son el principio— agradezco a mis padres—Mario y Celia—quienes siempre han hecho un esfuerzo sobrehumano por entenderme y apoyarme; en ese tenor me permitieron cultivar lombrices a discreción y facilitaron mis traslados a la capital veracruzana.

Y, bueno, sólo con el fin de desconcertarla, dejó el final a Mariana, mi hermana, por apoyarme con los mapas y porque, aunque a ella nunca le gustaron las lombrices, siempre ha sido pilar de mi bienestar psicológico y porque la quiero y admiro sobremanera.

Dedicatoria

Este trabajo está dedicado a la Universidad Nacional Autónoma de México, y no hablo de la UNAM de la goya y la camiseta, habló de aquella a la que asistí diario; sus pasillos, bibliotecas, sus recintos culturales, las ventanillas 3, 4 y 9. De esa en cuyas aulas me forme —y a veces deforme— no sólo académicamente, si no cultural, social y políticamente.

A mis maestros —todos— porque siempre me enseñaron algo. En el mejor de los casos —y en la Facultad de Ciencias— fue algo de biología, pero hubo algunos—afortunadamente muchos— que al transgredir la frontera académica me inculcaron inquietud científica, ética profesional y calidad humana.

A Hoshy, por el presagio del perrito ridículo, a Yessic, por los disparejos, a Carlos, por ser 400 personas, a Dianis por siempre estar lista para correr, a Adrian, por no ser gordo.

A Itzi, por que me debe un riñón, a Chucho, por ser proclive al desastre, a Olmo, por Juan y Pascual, a todos los miembros de cuadro, por ser rayados.

A Sergio, por las modificaciones postranscripcionales, a German, Nahum y Yola, por las sobredosis de café.

A Zitla, Clau, Rafa, Vicky, Silvia, Estef, David, Juan Pablo y José, por los consejos.

Y, porque me faltaron tantos, dedico esta tesis a los compañeros biólogos con los que pude convivir, trabajar y/o viajar durante mi estancia en la Facultad de Ciencias. Porque en este recinto conocí a las personas más inteligentes, más dedicadas, más rumberas, más anormales, más interesantes y más inquietas que he conocido en mi vida. Curiosamente sobran casos en que estas características convergen—todas— en individuos aislados. ¡Éxito y buen rollo siempre, personas!

Así es la vida, tal
como es la vida, allá, detrás
del infinito; así,
espontáneamente,
delante de la sien legislativa

César Vallejo

It may be doubted whether
there are many other animals
which have played so important
part in the history of the world,
as have these lowly organized
creatures.

Charles Darwin, sobre las
lombrices de tierra

Índice

1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. Marco Teórico	3
1.1.1. Concepto de especie	3
1.1.2. Concepto biológico de especie	4
1.1.3. Aislamiento y barreras reproductivas	5
1.1.4. Especiación	7
1.2. Lombrices de tierra	10
1.2.1. Generalidades	10
1.2.2. Morfología	11
1.2.3. Reproducción y ciclos de vida	14
1.2.4. Ecología	15
1.2.5. Dispersión y especiación en lombrices de tierra	19
1.3. Sistema de estudio: <i>Balanteodrilus</i> spp.	21
2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	26
3. OBJETIVOS	27
3.1. General	27
3.2. Particulares	27
4. HIPÓTESIS	28
5. MÉTODOS	30
5.1. Colecta	31
5.2. Mantenimiento de las poblaciones parentales	33
5.3. Efecto del tamaño: Experimento intermórfico	34
5.4. Efecto de la distancia geográfica: Experimentos intramórficos	36
5.5. Efecto de las diferencias morfológicas reproductivas: Experimento Interespecífico	40

5.6. Análisis estadísticos	42
6. RESULTADOS	43
6.1. Efecto del Tamaño: Experimento Intermórfico	43
6.2. Efecto de la distancia geográfica: Experimentos intramórficos .	49
6.2.1. Morfo chico	49
6.2.2. Morfo grande	54
6.3. Efecto de las diferencias morfológicas reproductivas: Experi- mento interespecífico	59
7. DISCUSIÓN GENERAL	65
7.1. <i>Balanteodrilus pearsei</i>	65
7.1.1. Importancia del tamaño corporal en el aislamiento re- productivo	65
7.1.2. Efecto de la distancia geográfica en el aislamiento re- productivo	68
7.2. Género <i>Balanteodrilus</i>	71
7.2.1. Efecto de las diferencias morfológicas reproductivas . .	71
8. CONCLUSIONES	76
9. Anexo 1	78
10.REFERENCIAS	83

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Marco Teórico

1.1.1. Concepto de especie

La existencia de grupos discretos de organismos que coexisten y que están diferenciados fenotípicamente es una característica que ha sido reconocida consistentemente por observadores independientes durante la historia de la humanidad (Coyne y Orr 1998). ¿Son las especies entidades reales en la naturaleza o sólo son divisiones subjetivas que el ser humano realiza para su conveniencia? La pregunta no es nueva ni trivial, lo cierto es que la especie es la unidad de trabajo biológico fundamental. Aún cuando su delimitación conceptual ha generado problemas semánticos durante casi todo el desarrollo de la biología, el agrupamiento de los organismos en grupos es no sólo evidente morfológicamente, sino también en secuencias genéticas y compatibilidades reproductivas (Turelli *et al.* 2001).

“Ninguna definición ha satisfecho a todos los naturalistas, sin embargo todo naturalista sabe vagamente lo que quiere decir cuando habla de una especie” (Darwin 1859). Sorprende que la cita anterior siga vigente al grado tal que existen más de 25 conceptos de especie diferentes (Mayden 1999; Coyne y Orr 2004), algunos de los cuales son más teóricos y otros tantos, más prácticos y operacionales. No obstante, ninguno está totalmente generalizado para todos los grupos de organismos ni para todas las disciplinas de la biología y, a reserva de encontrar puntos de encuentro, es poco probable que algún concepto llegue a adquirir una aceptación universal (Abbot *et al.* 2008).

Los conceptos que tradicionalmente han tenido una mayor aceptación se enfocan en diferentes áreas como la taxonomía, la reproducción, la ecología o la evolución. La clasificación taxonómica de las especies está basada en la idea Lineana de la esencia específica i.e las brechas morfológicas que di-

ferencian una especie de otra (Abbot *et al.* 2008). Este concepto tipológico de la especie es probablemente el más básico y útil para la mayoría de las personas. Sin embargo, en función de los requerimientos específicos de cada línea de investigación, una especie se puede definir como un complejo distintivo fenotípica y genotípicamente, un conjunto que evoluciona como una unidad independiente, un grupo de genes más estrechamente relacionados entre sí que entre otros grupos de genes, etcétera. Siguiendo esa sentencia, el presente trabajo no pretende ahondar en todos los conceptos existentes y está basado, principalmente, en el concepto biológico de especie (CBE) y sus derivaciones.

1.1.2. Concepto biológico de especie

El CBE es uno de los conceptos más utilizados en el estudio de la especiación de taxa que presentan reproducción sexual. Mayr acuñó el CBE en 1942 como grupos naturales de organismos que presentan flujo genético real o potencial y que están aislados reproductivamente de otros grupos (Mayr 1996). Es preciso mencionar que el CEB no es universal; sólo es aplicable para organismos que poseen reproducción sexual y no es capaz de distinguir especies en una dimensión temporal.

Otro de los problemas que posee el CBE es la relativa imposibilidad de corroborar la existencia de aislamiento reproductivo entre poblaciones geográficamente aisladas. Conforme se han acumulado críticas y opiniones desde diversos campos de la biología, Coyne y Orr (2004) proponen una versión modificada: *las especies son grupos de poblaciones naturales capaces de reproducirse y que están aisladas reproductivamente de otros grupos.*

En sentido estricto y tradicional el CBE requiere que el aislamiento reproductivo entre dos especies sea completo para poder llamarlas así; es decir, que se basa en una ausencia total de flujo genético entre las especies donde la selección natural se encarga de eliminar a los híbridos con baja adecuación

(Coyne y Orr 2004, Abbot 2008); sin embargo, cada vez existen más ejemplos de especies estrechamente relacionadas que no poseen un aislamiento reproductivo completo. El comprender estos fenómenos en lugar de descalificar el CEB promueve la investigación de los procesos que ocurren en la divergencia de las poblaciones al tratar de explicar las causas de la emergencia y mantenimiento de estas brechas reproductivas. De esta manera se puede concebir que el estatus de especie se alcanza cuando el proceso de especiación es irreversible aún cuando el aislamiento no haya llegado a ser total (Coyne y Orr 2004).

Existen algunas derivaciones del CBE. El concepto de reconocimiento de Paterson, contrariamente a enfocarse en los mecanismos que separan una especie de otra lo hace en aquéllos que mantienen la identidad y reconocimiento específico, así, este concepto define a la especie como aquellas poblaciones inclusivas de individuos biparentales que comparten un sistema de fertilización (Templeton, 1989; Ruiz 1999). Templeton en 1989 propone el concepto de especie cohesiva, mediante el análisis de las ventajas y desventajas del concepto anterior y el CEB, como la población más inclusiva de individuos que tienen el potencial de cohesión fenotípica a través de mecanismos intrínsecos de cohesión; estos mecanismos incluyen procesos genéticos y demográficos que promueven y evitan (mecanismos de aislamiento) el flujo genético y otras fuerzas evolutivas.

1.1.3. Aislamiento y barreras reproductivas

Una de las derivaciones importantes del CBE, se refiere a que el efecto de la especiación es la acumulación de mecanismos que promueven el aislamiento reproductivo. Estos mecanismos pueden ser extrínsecos (*vg.* una barrera geográfica impide la transferencia de gametos entre dos poblaciones) y también puede ocurrir que el potencial reproductivo entre dos poblaciones divergentes se interrumpa porque éstas han generado barreras intrínsecas al intercambio

genético.

Estas barreras fueron descritas por Dobzhansky en 1937 y actualmente se dividen en tres tipos (Coyne y Orr 2004; Futuyma 2005):

- Previas al apareamiento (precopulatorias)
- Posteriores al apareamiento (postcopulatorias sin formación de cigoto)
- Posteriores al apareamiento (postcigóticas con formación de híbridos)

En el primer caso, existen características que impiden la transferencia de los gametos de un grupo a otro *v.g.* aislamiento ecológico, aislamiento por comportamiento o aislamiento mecánico en el acoplamiento. En el segundo caso puede existir un intercambio de gametos pero el cigoto no se forma, ya sea por razones de incompatibilidad gamética o por aislamiento competitivo del esperma heteroespecífico. La formación de híbridos corresponde al tercer caso; frecuentemente éstos tienen baja adecuación por razones extrínsecas (*e.g.* inviabilidad ecológica de híbrido) o por razones intrínsecas (*e.g.* inviabilidad de los híbridos por factores del desarrollo o incapacidad de los mismos para producir gametos viables).

Las poblaciones naturales poseen una estructura espacial y temporal; el patrón de la separación geográfica y el alcance del flujo génico entre las poblaciones locales son importantes para la evolución o mantenimiento de la variabilidad genética en las especies (Baurd *et al.* 1996). La aparición de los mecanismos que impiden el apareamiento tiene como consecuencia la evolución independiente de dichas poblaciones (Futuyma 2005). La especiación está íntimamente ligada a la aparición de dichas barreras y la consecuente divergencia genética entre las poblaciones. En promedio, a mayor distancia genética entre un par de poblaciones o especies, menor es la frecuencia de apareamiento y eventos de reproducción, y a su vez menor es el éxito reproductivo, la fertilidad y/o la viabilidad de híbridos (Albert y Schluter 2005).

El proceso de especiación está íntimamente ligado con el estudio de los mecanismos de aislamiento previamente descritos. Es importante señalar que una vez que el flujo genético entre dos poblaciones divergentes es casi nulo, estas barreras continúan acumulándose, haciéndose más fuertes y pudiendo actuar de manera simultánea (Coyne y Orr 2004; Futuyma 2005). No está claro qué tipo de barrera surge primero y es probable que dependa del sistema de estudio, sin embargo, las barreras precigóticas son las que actúan primero en la interacción y restringen de manera más efectiva el flujo genético que las barreras postcigóticas (Turelli *et al.* 2001; Coyne y Orr 2004). Un segundo contacto de poblaciones aisladas con barreras postcopulatorias puede promover la aparición de barreras precopulatorias a lo que se conoce como reforzamiento (Turelli *et al.* 2001).

1.1.4. Especiación

La variación dentro de las especies está estructurada jerárquicamente entre grupos infraespecíficos como subespecies, variedades y poblaciones (Baurd *et al.* 1996). Cada grupo es un complejo adaptativo que está inmerso en un nicho diferente del que ocupan otros. La formación de variedades, razas o subespecies es esencialmente el desarrollo de patrones genéticos que están adaptados a un ambiente definido; la especiación resulta de la fijación de estos parámetros a través del desarrollo de mecanismos de aislamiento (Dobzhansky 1940).

La forma más común de clasificar el proceso de especiación está basada en los patrones espaciales que presentan las especies involucradas (Butlin *et al.* 2008); tradicionalmente el modelo espacial ha jugado un papel dominante en su estudio (Abbot *et al.* 2008) y existen tres formas de especiación geográfica principales:

simpátrica: se da cuando la separación espacial no existe, bajo condiciones

potenciales de panmixia

alopátrica: ocurre cuando las poblaciones divergentes están espacialmente aisladas y no intercambian genes entre ellas *i.e.* hay una barrera extrínseca al apareamiento

parapátrica: posee un nivel intermedio de flujo genético durante la divergencia, por lo que la barrera extrínseca es parcial

Cabe señalar que cuando surgió esta clasificación el modelo alopátrico se reconoció como el más común ya que se creía poco probable que surgieran genes de incompatibilidad reproductiva sin la ayuda de una barrera extrínseca (Abbot *et al.* 2008; Ruiz 1999; Turelli *et al.* 2001; Coyne y Orr 2004); además sería intuitivo pensar que no existiendo fuerzas que actúen para reforzar la compatibilidad reproductiva entre dos poblaciones, eventualmente evolucionen características que las hagan reproductivamente incompatibles. De este modo, en contraste con las fuerzas requeridas para que se produzca especiación simpátrica o parapátrica, la especiación alopátrica sólo requiere aislamiento geográfico y tiempo (Turelli *et al.* 2001). Sin embargo, actualmente el modelo simpátrico ha generado investigación importante y se ha visto que en ciertos organismos como las plantas y los parásitos pueda ser el tipo más común (Ruiz 1999). En general el modelo simpátrico ha probado ser más difícil de comprobarse que el modelo alopátrico, por ello tal vez exista un sesgo sobre la predominancia de un tipo sobre otro (Turelli *et al.* 2001).

Como se mencionó anteriormente, uno de los debates importantes en el estudio de estos procesos es el estatus de poblaciones alopátricas de una misma especie: para algunos investigadores las especies alopátricas por el simple hecho de tener una barrera total al flujo genético representan especies verdaderas ya que no existe fuerza evolutiva alguna que promueva la aparición de otros mecanismos de aislamiento; mientras que otros opinan que las poblaciones alopátricas no pueden ser consideradas especies verdaderas hasta que

se pruebe su independencia en un segundo contacto (Sobel *et al.* 2010). A diferencia de la especiación simpátrica o parapátrica donde la probabilidad de divergencia depende del tipo y magnitud de la selección, la falta de flujo genético entre poblaciones alopátricas permite una divergencia sin una fuerza evolutiva específica. La adquisición del aislamiento reproductivo en estas circunstancias puede estar funcionalmente relacionado con una divergencia adaptativa a diferentes ambientes, o, incluso, puede alcanzarse simplemente como un subproducto de un efecto pleiotrópico en la acumulación de diferencias genéticas que puedan causar incompatibilidades en los híbridos o en el comportamiento sexual (Turelli *et al.* 2001).

Existen críticas al modelo espacial de la especiación (Butlin *et al.* 2008; Hammond, 1981) considerando que la especiación es un proceso normalmente largo en términos de tiempo es importante tener en cuenta que las condiciones espaciales de divergencia de las poblaciones son dinámicas por lo que es difícil pensar —en la mayoría de los casos— que el proceso de especiación sucede sólo en estricta alopatría o simpatría. Conforme más estudios se realizan se ha visto que la especiación alopátrica y simpátrica son en realidad límites de un continuo de flujo genético entre poblaciones divergentes, en el que lo más común es que exista algún grado de parapatría, aunque este modo de especiación es el que menos se estudia (Butlin *et al.* 2008).

Ante las críticas al modelo geográfico de la especiación se ha propuesto que pudiera ser más productivo enfocarse en las fuerzas evolutivas que promueven la especiación; el balance entre la selección, el flujo genético y la deriva génica (Abbot *et al.* 2008) o, incluso, en los mecanismos que a nivel genético comienzan este proceso.

1.2. Lombrices de tierra

1.2.1. Generalidades

Las lombrices de tierra pertenecen a la subclase Oligochaeta (Phylum Annelida), dentro de la clase Euclitellata definida por la presencia de un clitelo. Dicha estructura es una modificación glandular de la epidermis (Jamieson *et al.* 2002) asociada a la producción de capullos; usualmente se distingue por el aumento en el diámetro corporal, aunque en ocasiones sólo puede reconocerse por un ligero cambio en la coloración del organismo (Edwards y Bohlen 1996).

Existen oligoquetos acuáticos y terrestres. Debido a su reducido tamaño, la mayor parte de los oligoquetos acuáticos son llamados microdrilos caracterizados por poseer un clitelo monoestratificado que secreta capullos de paredes delgadas y albumen escaso. Cada capullo consiste, normalmente, de dos huevos mesolécitos que ocupan una gran proporción del mismo. En contraste, el grupo de los megadrilos —lombrices de tierra; orden Opisthophora— presenta un clitelo de varias capas celulares que secreta capullos de paredes gruesas con varios huevos pequeños de tipo oligolécito suspendidos en una gran cantidad de albumen secretado por el clitelo y/o glándulas asociadas al mismo. Es importante señalar que el albumen, aparte de estar asociado con funciones nutritivas, también preserva la humedad y es capaz de restaurarla en caso de que el capullo haya sido moderadamente deshidratado, por lo que la condición derivada del clitelo multiestratificado en los megadrilos está asociada a la invasión de ambientes terrestres (Omodeo 2000; Jamieson *et al.* 2002).

Los megadrilos probablemente se originaron en la era Paleozoica en suelos inundables de lagunas o pantanos ricos en materia orgánica. Diversificaron durante el Carbonífero cuando los bosques se expandieron hacia los continentes y los suelos ricos en humus se volvieron más comunes (Omodeo 2000;

Fernández-Álamo 2007). La distribución natural de las familias y especies de lombrices de tierra refleja la historia de macro-eventos geológicos como la deriva continental, la formación de islas y los cambios de temperatura global, por lo que representan evidencia importante para el estudio de procesos biogeográficos (Stürzenbaum *et al.* 2009; Omodeo 2000; Fernández-Álamo 2007).

Se calcula que deben existir al menos 7000 especies de lombrices de tierra (Fragoso y Rojas, 2010). Aunque en 1994 sólo se habían descrito 3627, actualmente debe haber alrededor de 4800 especies descritas si suponemos que 68 especies nuevas se describen cada año (Reynolds 1994; Fragoso *et al.* 2003) Del grupo de los megadrilos, la superfamilia más grande y diversa es la Megascolecoidea de origen Gondwanico, nativa de las regiones Neártica, Etiópica, Oriental, Australiana y Neotropical. Dentro de esta superfamilia una de las familias más antiguas es Acanthodrilidae que se distingue por poseer: i) un par de poros masculinos independientes de uno o dos pares de poros prostáticos ubicados en los segmentos anterior y/o posterior; ii) poros dorsales generalmente presentes; iii) clitelo con una extensión de 6 a 7 metámeros situado entre los segmentos 12 y 18 y iv) sistema excretor holonefridial (Edwards y Bohlen 1996). La subfamilia Acanthodrilinae es la predominante en México (Jamieson *et al.* 2002).

1.2.2. Morfología

Las lombrices de tierra son protostomados esquizocelomados bilaterales con segmentación metamérica homómera, la pared corporal consiste de una cutícula delgada con quetas en todos los segmentos (excepto en el primero), una capa externa de músculos circulares seguida de una interna de músculos longitudinales (Edwards y Bohlen 1996; Stürzenbaum *et al.* 2009). La pared corporal también posee, en ocasiones, poros conectados con la cavidad celómica que permiten la secreción de fluido para mantener humedad y promover

el intercambio gaseoso (Fernández-Álamo 2007).

Los oligoquetos están divididos externamente por segmentos a lo largo del cuerpo en donde los surcos intersegmentarios coinciden generalmente con los septos que dividen el cuerpo internamente; para fines prácticos; los segmentos se enumeran anteroposteriormente.

Poseen un conducto alimentario anatómica y funcionalmente diferenciado en boca, faringe, esófago, buche, molleja, glándulas calcíferas, tiflosole y ano. La boca abre en el primer segmento, o peristomio, el cual posee en su superficie dorsal un lóbulo rodeando la boca llamado prostomio (Edwards y Bohlen 1996; Stürzenbaum *et al.* 2009).

El sistema vascular es cerrado con al menos un vaso dorsal contráctil que transporta la sangre con hemoglobina como pigmento respiratorio (Stürzenbaum *et al.* 2009). El sistema excretor comprende la presencia de túbulos pareados llamados nefridios en cada segmento. El intercambio gaseoso es cuticular. El sistema nervioso es escaleriforme, con ganglios cefálicos de donde parten nervios que rodean al tubo digestivo y que esta comunicado con cordones nerviosos longitudinales ventrales conectados a dos ganglios por segmento (Edwards y Bohlen 1996; Fernández-Álamo 2007; Stürzenbaum *et al.* 2009). Las quetas son estructuras que nacen en los folículos del exterior de la pared corporal y se utilizan para adherirse al sustrato, su principal función es la locomoción (Edwards y Bohlen 1996; Fernández-Álamo 2007).

Son organismos hermafroditas con pocas gónadas situadas en posiciones segmentales definidas en la región anterior del cuerpo. Los órganos masculinos consisten en un número variable de vesículas seminales, uno o dos pares de testículos con sus respectivos embudos seminales y glándulas asociadas a los conductos deferentes (*v.g.* próstatas). Por su parte, el sistema reproductor femenino consta de un par de ovarios, ovisacos, oviductos y un número variable de espermatecas (Fernández-Álamo 2007).

Externamente poseen poros femeninos y masculinos. Los primeros son

por lo general un sólo par y en la mayoría de las familias están situados en el segmento 14, mientras que los masculinos son posteriores a los femeninos y en la familia Megascolecidae pueden estar asociados a poros prostáticos. Usualmente las lombrices tienen uno o más poros espermatecales generalmente pareados; éstos son comunmente intersegmentales y están situados normalmente en posición ventral (Edwards y Bohlen 1996; Fernández-Álamo 2007).

A diferencia de otros metazoarios, las lombrices de tierra no tienen una variabilidad morfológica amplia en su plan corporal (Stürzenbaum *et al.* 2009), por lo que durante la primera parte del siglo XX la clasificación de las familias estuvo basada principalmente en caracteres sexuales, ponderando estas estructuras sobre los caracteres somáticos. En el caso de las especies se utilizaron ambos tipos de caracteres, aunque los sexuales siempre tuvieron prioridad sobre los somáticos. Gates (varios trabajos) fue el gran impulsor para considerar a los caracteres somáticos sobre los sexuales, principalmente debido a la ocurrencia de partenogénesis que conlleva la degradación de la genitalia. En la actualidad se han ido incorporando cada vez más a los caracteres somáticos como parte importante de la taxonomía de las lombrices de tierra (Briones, Morán y Posada 2009; Chang *et al.* 2007).

La clasificación de las lombrices está basada tanto en caracteres externos como internos. La pigmentación, el tipo de prostomio, la forma y la posición del clitelo, la posición de los poros masculinos, prostáticos y femeninos y el arreglo de las quetas, son ejemplos de caracteres externos con relevancia taxonómica, mientras que la descripción del sistema excretor (localización y forma de las vesículas nefridiales y nefridioporos), el sistema circulatorio, el sistema digestivo (glándulas calcíferas y sacos asociados) y el sistema reproductor son ejemplos de características internas que brindan a su vez más información para la clasificación de estos organismos. Muchas de estas características, sin embargo, presentan una alta variabilidad intraespecífica que,

aunada al método de preservación empleado, hacen que la taxonomía de las lombrices sea una labor compleja (Briones *et al* 2009).

1.2.3. Reproducción y ciclos de vida

La mayoría de los oligoquetos tienen reproducción cruzada —aunque algunas especies pueden reproducirse partenogenéticamente—, y copulan periódicamente durante el año cuando las condiciones ambientales son propicias (Lee 1985; Edwards y Bohlen 1996). Los individuos son atraídos mutuamente por secreciones glandulares; se acoplan ventralmente y de modo inverso de modo que durante el intercambio de esperma los poros de las espermatecas queden en contacto con los poros masculinos. Después de la cópula, las lombrices se separan y del clitelo de cada una se producen capullos que contienen varios óvulos que son fecundados externamente hasta que se agota el fluido seminal de las espermatecas. El número de óvulos fertilizados por capullo varía de 1 a 20 pero usualmente sólo un individuo logra eclosionar (Edwards y Bohlen 1996).

Las espermatecas son sacos, generalmente pareados, presentes en la mayoría de los oligoquetos que reciben los espermatozoides de otra lombriz al copular, en donde se guardan y nutren hasta la ovoposición. El tamaño y forma de estas estructuras es muy variado y es un carácter importante para separar especies. Cada espermateca consta de un ámpula o saco (estructura esférica u ovoide), un ducto (a veces muscular) que la comunica con el exterior y —en casi todos los megascolécidos— uno o más divertículos asociados a la ámpula y al ducto. En los megascolécidos, el divertículo tiene la función de guardar los espermatozoides recibidos en la cópula, mientras que el ámpula contiene el líquido prostático proveniente de la otra lombriz que servirá de alimento al cigoto cuando ocurra la fecundación. Al diseccionar una lombriz adulta, si el divertículo es iridiscente (por la presencia de espermatozoides) indicará que ha ocurrido cópula e intercambio de esperma (Omodeo 2000;

Stephenson 1930).

Una vez realizado el intercambio espermático, los individuos secretan capullos que pueden producirse en cualquier periodo del año siempre que las condiciones sean propicias. La producción varía, no obstante, de acuerdo a la especie, a la cantidad de nutrientes del alimento disponible y a la temporalidad del hábitat. El tamaño de los capullos se relaciona positivamente con el tamaño del clitelo de los adultos (Omodeo, 2000). El periodo de incubación responde a factores exógenos como la temperatura del suelo o la humedad (los capullos pueden resistir condiciones más adversas que los organismos) y a factores propios de cada especie; la viabilidad, por otro lado, está más estrechamente relacionada con factores endógenos (Lee 1985; Edwards y Bohlen 1996).

Normalmente el tamaño del capullo se relaciona de manera positiva con en el tamaño del organismo que eclosiona. Al nacer las lombrices carecen de pigmento y mientras que algunas especies nacen con un número de segmentos definidos otras adicionan segmentos después su crecimiento. Durante la etapa juvenil ganan peso de manera continua hasta que alcanzan la madurez sexual, etapa en la cual la tasa de crecimiento disminuye. La estructura poblacional varía dependiendo de la temporalidad. Debido al sobrelape de las generaciones, los organismos de varias etapas de desarrollo coexisten siempre y cuando existan condiciones ambientales favorables (Edwards y Bohlen 1996).

1.2.4. Ecología

En la mayoría de los casos, las lombrices alteran positivamente el suelo donde habitan, aumentando la aireación y la infiltración mientras mezclan y remueven las capas del suelo (Fernández-Álamo, 2007; Edwards y Bohlen 1996) y facilitando la fragmentación de la materia orgánica en descomposición (Lavelle 1996).

Están presentes en una amplia variedad de tipos de ambientes, exceptuando regiones climáticas muy extremas como los polos y los desiertos (Lee 1985). En los distintos ecosistemas, sin embargo, existen factores ambientales que limitan la abundancia de estos organismos.

La humedad es un factor crucial en la actividad de las lombrices, aunque los requerimientos de la misma varían según la especie y el tipo de suelo, su intensidad y temporalidad determinan muchas de las características de la historia de vida de estos organismos. Dado que del 75 al 90 % del peso de las lombrices es agua, la prevención de la pérdida de este vital líquido se logra mediante la migración vertical u horizontal a lugares más húmedos (Edwards y Bohlen 1996).

La temperatura incide de manera importante en el crecimiento, metabolismo y reproducción de las lombrices de tierra; sus límites de sobrevivencia varían de acuerdo a la especie desde temperaturas bajo cero hasta mayores de 40 °C. (Lee 1985).

Como respuesta al estrés de factores tan cruciales como la temperatura o la humedad, los organismos pueden migrar o entrar en un estado de dormancia o estivación, durante el cual se entierran en las capas más profundas del suelo, dejan de alimentarse y su actividad es nula. Durante estos periodos los caracteres sexuales primarios y secundarios sufren una regresión. En algunos casos estos ciclos corresponden con periodos estacionales y se pueden concebir como mecanismos endógenos. Para hacer dicha diferenciación se distinguen tres procesos de comportamiento (Lee, 1985; Edwards y Bohlen 1996).

Diapausa: es una respuesta a la sequía; los organismos vacían su canal alimentario y construyen cámaras esféricas en las que se enrollan secretando una capa de muco para prevenir la pérdida de agua por lo que el tejido no se deshidrata. Este tipo de proceso es normalmente obligatorio y de origen endógeno.

Paradiapausa o diapausa facultativa: presenta las mismas características que la diapausa aunque es un proceso facultativo sobretodo en respuesta a amputaciones caudales.

Quiescencia: es una respuesta a la sequía o a las bajas temperaturas edáficas. Las lombrices dejan de alimentarse y entran en un estado de torpor, sin embargo no se construyen cámaras y hay una deshidratación severa. El comportamiento cambia de acuerdo al factor exógeno que lo promueve; en condiciones de anhidrobiosis, se pueden encontrar grandes cantidades de individuos congregados y enrollados entre si, mientras que como respuesta a bajas temperaturas, los organismos se enrollan individualmente en las capas superficiales del suelo sin formar cámaras. Una vez que las condiciones favorables regresan los organismos se reactivan.

El tipo de suelo, su estructura, el contenido de materia orgánica y la textura, inciden también en la abundancia y composición de las comunidades de estos organismos. Suelos ligeros y limosos con alto contenido de materia orgánica presentan mayor abundancia que aquellos con altos porcentajes de arcillas, poca aeración y materia orgánica escasa (Edwards y Bohlen 1996). A escalas locales, las lombrices se encuentran en parches de alta densidad separados por áreas de baja densidad. La formación de estos parches y el comportamiento de agregación responde a complejos fenómenos demográficos asociados a la migración o emigración, interacciones intraespecíficas e interespecíficas y condiciones edáficas (Mathieu *et al.* 2010). Se sabe que algunas especies más móviles tienen un comportamiento de migración positivo cuando se enfrentan a altas densidades poblacionales (Mathieu *et al.* 2010).

Cuando existen condiciones favorables de temperatura, nutrientes y humedad del suelo un hábitat puede poseer una diversidad de lombrices de aproximadamente seis especies (Stürzenbaum *et al.* 2009). En los trópicos, la

riqueza de especies de lombrices de tierra varía de cuatro a catorce con una media de 6.5. En estos ambientes, la abundancia y la biomasa están relacionadas con la riqueza del suelo y la precipitación y en general, la distribución horizontal depende del primer parámetro mientras que la distribución vertical y los cambios temporales del segundo. Las mayores densidades se han registrado en localidades cuya precipitación varía de 2000 a 4000 mm anuales, mientras que por debajo de los 2000 mm las abundancias son muy bajas (Fragoso y Lavelle 1992).

Las comunidades de lombrices de tierra pueden analizarse en función de las categorías de la clasificación de Bouché como epigeas, endogeas y anéclicas. Estas divisiones ecológicas están basadas principalmente en sus tasas reproductivas, o modo de alimentación y otras características morfológicas y/o etológicas (Lavelle 1996; Fragoso 2003).

Las lombrices epigeas habitan y forrajean en la hojarasca del suelo (miden de 3 a 9 cm de largo), no llegan más allá de las capas húmicas, actúan como agentes de fragmentación del mantillo transformándolo en materia orgánica estable (Fragoso y Lavelle 1995; Fragoso 2003), tienden a tener una tasa reproductiva alta y un metabolismo rápido. La forma de vida epigea es la más expuesta a las variaciones de las condiciones climáticas y a los depredadores, una adaptación hacia estas condiciones es su pigmentación (desde rojos hasta grises o azules). De manera general, no pueden sobrevivir en suelos desprovistos de toda cobertura vegetal.

Las lombrices de tierra endogeas viven permanentemente en el suelo y presentan diferentes adaptaciones dependiendo de la profundidad del perfil edáfico en el que habitan. Su talla varía desde 5 cm a un 1 m. Son geófagas, en general carecen de pigmento y se alimentan de humus; consumen grandes cantidades de partículas minerales y orgánicas del suelo así como raíces. Las lombrices endogeas mantienen relaciones mutualistas con la microflora que consume junto con el suelo y que les permite aprovechar la materia

orgánica de baja calidad. Según la profundidad, se pueden distinguir tres sub-divisiones; oligohúmicas, mesohúmicas y polihúmicas (Lavelle 1996). Las primeras habitan en los estratos más profundos del suelo donde hay poca materia orgánica. Las mesohúmicas habitan estratos intermedios del perfil edáfico que tiene mayor contenido de materia orgánica. Las polihúmicas son las de menor tamaño, se alimentan y viven en la rizósfera y en los estratos más superficiales y ricos en materia orgánica. Las lombrices endogeas contribuyen al mantenimiento de la fertilidad, pues construyen y mantienen la estructura de los macroagregados resistentes y liberan nutrientes a partir de residuos vegetales y de la materia orgánica del suelo, adicionalmente, protegen físicamente el humus dentro de sus turrículos compactos (Fragoso 2003).

Por último, las anecicas, son lombrices de tierra más longevas, resisten periodos estivales en estado de letargo en horizontes profundos del suelo y construyen galerías verticales por donde se desplazan. En general, son de mayor diámetro y su talla puede alcanzar más de un metro; tienden a moverse verticalmente, transportando y consolidando partículas orgánicas de la superficie hacia el interior de sus galerías, a veces a muy grandes profundidades del perfil. Presentan pigmento y tienen una tasa de reproducción baja (Fragoso y Lavelle 1995; Fragoso 2003).

En México existen 98 especies descritas de lombrices de tierra (Fragoso 2007); debido a su reducida vagilidad, presentan numerosos endemismos, lo que permite delimitar claramente su distribución geográfica. Cuando el hábitat es perturbado la mayoría de las especies nativas desaparecen y a menudo son sustituidas por especies exóticas (Fragoso 1999).

1.2.5. Dispersión y especiación en lombrices de tierra

La capacidad de dispersión de los organismos puede tener una influencia directa en procesos tan importantes como la dinámica poblacional, la

persistencia de una especie, su rango de distribución, la estructura de la comunidad y —mediante el flujo genético entre poblaciones— adaptación local y la especiación (Mathieu *et al.* 2010).

La distribución actual de algunas lombrices de tierra está estrechamente ligada a las actividades de la agricultura humana. Las lombrices que son dispersadas por estas actividades son llamadas especies peregrinas y se ha señalado que el intercambio y establecimiento de cultivos exóticos tal vez sea uno de los procesos causales más importantes en la dispersión de estos organismos (Fragoso *et al.* 1999).

La mayoría de las especies peregrinas tienen una serie de características que las distinguen como colonizadoras exitosas. La aparente exclusión de las lombrices nativas por las peregrinas puede deberse en parte a la capacidad de estas últimas para soportar las condiciones microambientales que generan las actividades agrícolas y a las que en general las nativas no logran adaptarse (Lee 1985).

En cuanto a los mecanismos de dispersión natural, éstos pueden dividirse en pasivos y activos. En el primer caso se encuentran agentes naturales como el agua, las aves o el ganado; los capullos son especialmente propensos a ser dispersados por dichos agentes. En el segundo caso los organismos migran por sus propios medios. Por ejemplo es común que cuando llueve y el suelo llega a inundarse, las lombrices pueden salir de sus galerías dispersándose activamente para buscar hábitats más favorables (Lee 1985; Pickford 1937; Mathieu *et al.* 2010). Sin embargo, las lombrices tienen una baja tasa de migración pues la dispersión natural observada no rebasa los 5-10m por año (King *et al.* 2008). La habilidad de éstas para trasladarse activamente está restringida por sus preferencias de hábitat altamente especializadas (Pickford 1937). Dado que el promedio de precipitación anual es uno de los factores más importantes que determinan la presencia de las lombrices de tierra, las deficiencias locales de humedad constituyen una barrera importante a la mi-

gración y flujo entre las poblaciones (Pickford 1937; Lee 1985).

Tradicionalmente se ha resaltado la importancia de la separación geográfica (especiación alopátrida) en los procesos de especiación de las lombrices. Mediante el uso de metodologías moleculares, recientemente, se ha encontrado en el grupo de los oligoquetos una alta diversidad intraespecífica entre diversos taxones que representan potenciales casos de diversidad críptica, por lo que es posible que en las lombrices de tierra la especiación simpátrica sea más común de lo que se pensaba (Stürzenbaum *et al.* 2009; King *et al.* 2008), algo anticipado por Lee (1959) hace más de 50 años.

1.3. Sistema de estudio: *Balanteodrilus* spp.

El género *Balanteodrilus* perteneciente a la familia Acanthodrilidae, posee dos caracteres diagnósticos principales (Pickford, 1938):

- Reducción balantina que significa la pérdida de las próstatas anteriores y de las espermatecas posteriores (Omodeo, 2000) i.e un par de poros prostáticos (y sus próstatas respectivas) en el segmento 19 asociados a un par de poros espermatecales en el intersegmento 7/8 (y espermatecas en 8)
- Cinco glándulas calcíferas en la región 7-11

Fue descrito en 1938 por Pickford a partir de una sólo especie *Balanteodrilus pearsei* con ejemplares colectados en dos cuevas del estado de Yucatán. Más tarde fue registrado por Gates (1971) para el mismo estado en la cueva de Oxctuzcab y en los últimos años Fragoso y Rojas (1997) lo han registrado en numerosas localidades del sureste mexicano. Recientemente se añadieron dos nuevas especies al género: *B. psammophilus* y *B. extremus* (Fragoso y Rojas 2007). Las tres especies se diferencian por la localización de los poros prostáticos (*B. pearsei* en 19, *B. psammophilus* en 20 y *B. extremus* en 21),

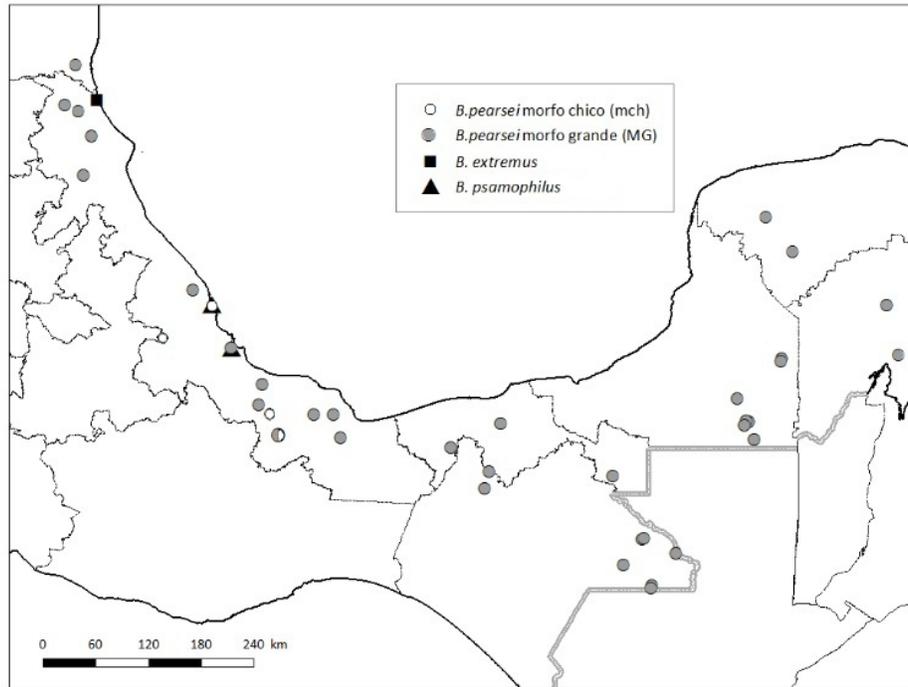


Figura 1. Distribución del género *Balanteodrilus* en México

todas pertenecen a la categoría endogea y se presentan por debajo de los 1000 m de altitud.

B. psammophilus se encuentra distribuida en los suelos arenosos del centro del estado de Veracruz, en las selvas tropicales subdeciduas de La Mancha y en pastizales de la región de Paso del Toro, Veracruz. *B. extremus* se restringe al norte del estado de Veracruz en una localidad del municipio de Tampico Alto. En contraste, *B. pearsei* posee la distribución más amplia; es prácticamente ubicua en el sureste mexicano (Veracruz, Tabasco, Campeche y toda la península de Yucatán), probablemente debido a que posee una gran plasticidad adaptativa y amplia variabilidad morfológica (Fragoso 1993; Fragoso *et al.* 1999, Ortiz- Ceballos *et al.* 2005).

La variación en *B. pearsei* se evidencia en los diferentes patrones de marcas genitales y —más conspicuamente— en el tamaño corporal. En 1997, Fragoso y Rojas midieron el tamaño corporal y diámetro postclitelar en varias poblaciones de *B. pearsei* del sureste mexicano encontrando dos morfos claramente separados. El morfo de mayor tamaño incluyó todas las poblaciones (13) con excepción de La Mancha (en el centro de Veracruz) y presentó una variación en la longitud de 6.45 a 11 cm, mientras que el diámetro postclitelar varió entre 1.84 mm y 3.4 mm. La población de La Mancha fue significativamente más pequeña; 3.57 cm de longitud y 1.6 mm de diámetro postclitelar promedio (Fragoso y Rojas, 1997). Esta población presentó la reducción balantina (un par de próstatas en 19) y las glándulas calcíferas características de *B. pearsei*, pero un patrón de marcas genitales distintas (Fragoso 1993). En la localidad de La Mancha solamente se encontró otra especie nativa, que curiosamente fue *B. psammophilus*, cuyos poros prostáticos se desplazaron al segmento 20 (Fragoso y Rojas 2007). Fragoso y Rojas (1997) intentaron explicar la coexistencia de dos especies congenéricas y el cambio de tamaño de esta población de *B. pearsei* como un posible desplazamiento de carácter. Propusieron tres hipótesis para explicar el cambio en el tamaño corporal:

- Determinado por el contenido diferencial de los nutrientes del suelo u otras variables ecológicas.
- Resultado de eventos de competencia en el pasado entre la población de *B. pearsei* de la Mancha y *B. psammophilus* con la que coexiste en simpatría.
- Por un desplazamiento de carácter reproductivo fijado por selección natural para impedir apareamientos interespecíficos en los suelos arenosos entre *B. pearsei* y *B. psammophilus*.

Ángeles (1996) encontró diferencias en la distribución vertical de las dos especies de La Mancha, mientras que *B. pearsei* fue una endogea polihúmi-

ca concentrada en los primeros centímetros del suelo, *B.psamphilus* fue considerada una endoanécica que habita desde los 50 o más centímetros de profundidad hasta la superficie. De este modo las dos especies exhibieron una clara separación del nicho vertical y alimenticio. Mediante experimentos en el laboratorio Ángeles (1996) concluyó que la interacción de ambas especies no afectó su tasa de crecimiento ni otros aspectos demográficos relacionados con la adecuación, aunque sí observó una disminución de la actividad (túriculos producidos y galerías) cuando las dos especies coexistieron. Propuso, finalmente, que el cambio en el tamaño de la población de la Mancha de *B. pearsei* puede deberse a eventos de competencia que ocurrieron en el pasado.

De la Cruz (2005), evaluó la influencia de la textura y materia orgánica del suelo sobre la población de pequeño tamaño de *B. pearsei* de la Mancha (morfo chico) y de otra población de mayor tamaño de la misma especie proveniente de Tabasco (morfo grande). Las propiedades del suelo donde habitan ambas poblaciones difirieron significativamente, pues mientras que el suelo de La Mancha estuvo compuesto por un 90 % de arena, el suelo de Tabasco presentó una textura arcillosa. Este autor realizó experimentos de trasplante de las poblaciones entre los dos suelos con y sin la adición de la leguminosa *Mucuna pruriens*. Encontró que esta planta afecta positivamente algunas variables demográficas en ambas poblaciones, independientemente del tipo de suelo. No obstante, observó que el morfo pequeño tuvo una amplitud del nicho edáfico más restringida comparada con el morfo grande de Tabasco, ya que el morfo chico no pudo reproducirse en el suelo arcilloso aún con la adición del alimento, mientras que el morfo grande pudo desarrollarse y reproducirse en ambos tipos de suelo con y sin *M. pruriens*. Debido a la restricción de nicho edáfico, a que su tamaño no aumenta mucho aún con la adición de nutrientes y a la diferente cantidad de segmentos, De la Cruz (2005) propuso al morfo chico de la Mancha como una probable subespecie de la especie *B. pearsei*.

Un poco antes Brown *et al.* (2004) publicaron un registro en el municipio de Isla, Veracruz donde se encontró una segunda población con las características del morfo chico de *B. pearsei*, pero coexistiendo con individuos del morfo grande de la misma especie.

De este modo las evidencias poco a poco han ido surgiendo que el morfo chico en realidad pudiera ser otra especie del género *Balanteodrilus* a pesar de la similitud morfológica con *B. pearsei*.

2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

El género *Balanteodrilus* es endémico del sureste mexicano y comprende, hasta ahora, tres especies nativas cuyos rangos de distribución natural en general no se sobrelapan. *B. pearsei* posee en particular una amplia variabilidad morfológica y amplia tolerancia edáfica; debido a estas características puede representar un modelo ideal para el estudio de la adaptación de las lombrices de tierra a nuevos ambientes, los cambios morfológicos asociados y el grado en que estos cambios corresponden a procesos de especiación incipientes. Por otro lado, es importante conocer sus diferencias interpoblacionales ya que la especie posee un alto potencial agrícola para la manipulación *in situ* (Ortiz-Ceballos *et al.* 2007). Ante la oleada de avances moleculares es necesario averiguar si la especiación críptica molecular también se ve reflejada en un aislamiento reproductivo así como hasta qué nivel las preferencias ecológicas y reproductivas pueden incidir en la diversificación del grupo. Finalmente creemos que estos procesos pueden encontrar soporte o inclusive aportar información en el estudio de los procesos geológicos de nuestro país.

3. OBJETIVOS

3.1. General

- Determinar el papel del tamaño corporal, la distancia geográfica y otras diferencias morfológicas del aparato reproductor en el aislamiento reproductivo de especies y poblaciones del género de lombriz de tierra *Balanteodrilus*.

3.2. Particulares

- Comparar la fecundidad y otros caracteres de historia de vida entre dos especies del género *Balanteodrilus* y entre dos morfos de distinto tamaño de la especie *Balanteodrilus pearsei*.
- En caso de encontrar aislamiento reproductivo, determinar si éste es pre o postcigótico.

4. HIPÓTESIS

Efecto del tamaño Justificación: En la especie *B. pearsei* se han reconocido dos morfos que difieren en cuanto al tamaño (Fragoso y Rojas, 1997) y que estudios subsecuentes han propuesto como subespecies (De la Cruz, 2005). Hasta el momento las diferencias morfológicas no se han considerado suficientes para separarlas como especies, sobre todo si se comparan con aquellas del aparato reproductor encontradas en las otras dos especies recientemente descritas (Fragoso y Rojas, 2007). Dado que existe un registro en donde los dos morfos coexisten (Brown *et al.* 2004) es posible que estos dos morfos se encuentren aislados reproductivamente y que la diferenciación en el tamaño corporal represente una barrera mecánica total o parcial en el acoplamiento de la genitalia de los organismos. Consecuentemente la primera hipótesis establece que:

H1: Habrá reproducción entre individuos del mismo morfo y aislamiento reproductivo entre los organismos de distinta talla (morfo grandes vs morfo pequeño).

Efecto de la distancia geográfica: Justificación: Con la implementación de metodologías moleculares en el estudio de las lombrices de tierra se ha visto que poblaciones geográficas de la misma especie pueden acumular divergencias genéticas importantes, sugiriendo que existe una amplia diversidad críptica dentro de algunos grupos de megadrilos (King *et al.* 2008). Con algunas excepciones (Domínguez *et al.* 2005) en la mayoría de los casos esto no se ha relacionado con aislamiento reproductivo. Por otro lado se sabe que a mayor distancia geográfica entre poblaciones, mayor es la distancia genética y probablemente el aislamiento reproductivo entre éstas (Futuyma 2005, Coyne y Orr 2004). Por lo tanto la segunda hipótesis establece que:

H2: Para los dos morfos de la especie *B. pearsei* —chico y grande—, habrá mayor reproducción entre individuos de la misma población que entre individuos provenientes de poblaciones separadas geográficamente.

Efecto de las diferencias en el aparato reproductivo Justificación: *Balanteodrilus extremus* está separada taxonómicamente de *B. pearsei* por el desplazamiento dos segmentos atrás de los poros prostáticos (Fragoso y Rojas 2007) lo que en la taxonomía tradicional es considerado generalmente como un carácter que avala la separación de especies. De este modo la tercer hipótesis establece que:

H3: No habrá reproducción entre *B. extremus* y *B. pearsei*.

5. MÉTODOS

En aras de realizar cultivos en condiciones controladas y obtener individuos vírgenes para el montaje experimental, se localizaron poblaciones abundantes de *B. pearsei* en cuatro localidades de los estados de Veracruz y Tabasco —dos del morfo chico y dos del grande— así como una población de *B. extremus* en el municipio de Tampico Alto, Ver. (Cuadro 1).

Con base en trabajos previos realizados con *B. pearsei* (Ortiz-Ceballos *et al.*, 2005; De la cruz, 2005) el sustrato elegido para los experimentos y cultivos fue el suelo arenoso de la localidad de La Mancha Ver. secado a temperatura ambiente y tamizado a través de una malla de 2 mm de apertura, mezclado con 2% de la leguminosa *Mucuna pruriens* var. *utilis*, cuyas hojas fueron secadas y molidas para después ser incorporadas como alimento de los organismos.

El alimento fue obtenido de distintas fuentes, sin embargo, dado que hubo un momento en que ya no fue posible obtener más hojas, a principios de septiembre del 2009 se sembró un cultivo de *M. pruriens* en una parcela dentro de la estación CICOLMA en la misma localidad, con cosechas a finales de octubre y de noviembre del mismo año. Esta planta es una enredadera de la familia Fabaceae con altas cantidades de nitrógeno que ha probado ser una buena fuente de alimento para *Balanteodrilus pearsei* en distintos trabajos (Ortiz-Ceballos *et al.* 2005; De la cruz 2005).

5.1. Colecta

Se realizaron cuatro salidas durante el verano del 2008, 2009 y 2010. La localidad de La Mancha fue visitada más veces con el objetivo de colectar suelo suficiente para el mantenimiento de las poblaciones y el montaje de los experimentos. En cada una de las salidas fueron colectados individuos adultos y juveniles de las cuatro poblaciones de *B. pearsei* y una de *B. extremus* colectada en 2010.

En cada localidad se colectaron alrededor de 30 individuos, excepto en Tampico alto en donde sólo se lograron recolectar 5 individuos de *B. extremus*. Los organismos fueron recolectados a mano y transportados en recipientes de plástico de 4l en su suelo de origen al laboratorio de Invertebrados del suelo en Xalapa, Ver, y posteriormente a la Ciudad de México.

Cuadro 1. Características generales de las localidades de colecta

Localidad	Municipio	Vegetación	Coordenadas	Especificaciones	Textura del suelo	Precipitación (mm)*	Temperatura (°C)**	Clima ***
La Mancha,	Actopan, Veracruz,	Relicto de Selva Mediana subperenifolia	19° 36' N 96° 22' 44'' O	Centro de Investigaciones Costeras (CICOLMA)	Arenosa (77% ¹ - 80% ² arena)	1500-2000	24.5°	Aw1(w)(i) cálido subhúmedo con lluvias en verano
Cosamaloapan,	Cosamaloapan, Veracruz	Pastizal abandonado inundado	18°14'27.9''N 95°39'39.9''O	Sobre la carretera 150	Arenosa (estimación cualitativa)	1200-1500	24°	Aw1(w)(i) cálido subhúmedo con lluvias en verano
Rio Papaloapan,	Cosamaloapan, Veracruz	Pastizal abandonado	18°20'53.3''N 95°47'36.5''O	Municipio de Cosamaloapan a orillas del río	Arcillosa (estimación cualitativa)	1200-1500	24°	Aw1(w)(i) cálido subhúmedo con lluvias en verano
Tamulté,	Del Centro, Tabasco.	Parcela de sembradio de maíz	18° 7' 2.5'' N, 92°48'35.7''O	Cerca del río Jolochero	Arcilloso (34.4% ² arena)	2000 – 2500	29.8°	Am (f) W ³ (i) g cálido húmedo con lluvias en verano
Tampico Alto	Tampico alto, Veracruz	Solar domestico con parche de selva mediana subperenifolia al lado	22°07'N; 97°47'W	Orilla de la carretera 180 sobre el km 26	Arenosa (70.8% ³ arena)	1200-1500	25.2°	Aw1(w)(i) cálido subhúmedo con lluvias en verano

* Vidal-Zepeda (1990)** Garcia (1998a), *** Garcia (1998b)

¹Fragoso (1993), ²De la Cruz (2005), ³Fragoso (en prep.)

5.2. Mantenimiento de las poblaciones parentales

La aclimatización de los individuos comenzó en Xalapa y se continuó en la Ciudad de México (casa de la autora). En este último sitio se montó una cámara de cultivo en un estantería con 5 niveles cubierta por todos lados de poliestileno; en cada nivel se colocó una instalación eléctrica con 4 focos rojos de 20 watts con el fin de mantener una temperatura constante entre 25 y 27 °C.

Los individuos adultos de cada población fueron colocados en recipientes de plástico con 700g de suelo proveniente de la Mancha con 2% de *Mucuna pruriens* y cuya humedad estuvo monitoreada en cada uno de los recipientes cada 4 días para mantenerla constante al 35% (Ortiz-Ceballos *et al.* 2005). El suelo se cambió semanalmente y se revisó de forma manual para buscar capullos. El peso de las lombrices se monitoreó aproximadamente cada 15 días mediante una balanza semianalítica Ohaus de 10g; para determinarlo, cada individuo se sumergió en agua y se secó en papel absorbente, al mismo tiempo, se registró la aparición de clíelo o el cambio a estados de quiescencia.

Los capullos encontrados fueron incubados a la misma temperatura sobre cajas Petri con papel absorbente humedecido, las cuales se revisaron diariamente para monitorear si algún individuo había eclosionado y para mantener la humedad. La progenie de cada población creció aislada en recipientes plásticos con 90g de suelo y 1% de *Mucuna pruriens* molida, con cambios de suelo cada 15 días.

5.3. Efecto del tamaño: Experimento intermórfico

Se realizó del 16 de marzo al 22 de abril del 2009. Se utilizaron quince individuos adultos vírgenes de dos poblaciones de *Balanteodrilus pearsei*; una del morfo chico y una del morfo grande provenientes de Cosamaloapan, Ver (mch) y Tamulté de las Sabanas, Tab.(MG) respectivamente (Figura 2).

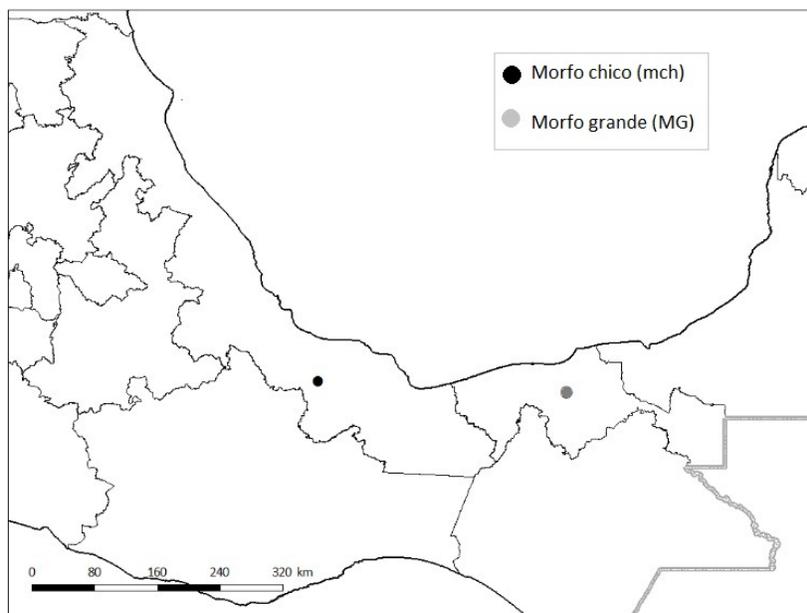


Figura 2. Ubicación de las poblaciones de *B. pearsei* utilizadas para el experimento intermórfico

El experimento contó con cinco réplicas por tratamiento (Cuadro 2). Cada unidad experimental consistió de un recipiente plástico de 300ml, 2 individuos vírgenes, 250g de suelo arenoso de La Mancha con 2% *M. pruriens* a una humedad de 33%. A dichas unidades se les asignó un número aleatorio para ocupar su sitio en los estantes del dispositivo experimental.

El experimento tuvo una duración de 40 días, en los cuales se realizaron 4 revisiones cada 10 días en las que se cambió el suelo y el alimento. La hu-

medad se monitoreo cada cuatro días pesando cada unidad experimental, en caso de que el peso fuera menor que el peso inicial se taró lo que faltaba con agua. Como variables de respuesta se registraron el peso de cada individuo, el número, el peso y la viabilidad de los capullos. Una vez terminado el experimento cada individuo se fijó en formol al 4 % y se realizaron disecciones de las espermatecas con el fin de evaluar el tamaño y coloración del divertículo.

Cuadro 2: Tratamientos del experimento intermorfico

Tratamiento	Descripción
<i>mchmch</i>	Morfo chico; cruzas intramórficas
<i>mchMG</i>	Morfo grande y morfo chico; cruzas intermórficas
<i>MGMG</i>	Morfo grande, cruzas intramórficas

5.4. Efecto de la distancia geográfica: Experimentos intramórficos

Con el fin de determinar el papel de la distancia geográfica en la afinidad reproductiva de *Balanteodrilus pearsei* se realizaron dos experimentos distintos debido a la imposibilidad de tener individuos suficientes para realizarlos a la par.

En ambos experimentos se utilizaron organismos provenientes directamente de las localidades a causa de problemas en el cultivo (Anexo 1). Para todos los tratamientos se utilizaron organismos juveniles no clitelados sin embargo, con el fin de asegurar que los individuos de los tratamientos interpoblacionales fueran vírgenes se seleccionaron a los organismos de menor peso.

El primer experimento (Cuadro 3, Figura 3) fue realizado durante los meses de septiembre y octubre del 2010 con dos poblaciones del morfo chico — La Mancha (m) y Cosamaloapan (c)— para lo cual se utilizaron 30 individuos juveniles (15 de cada población).

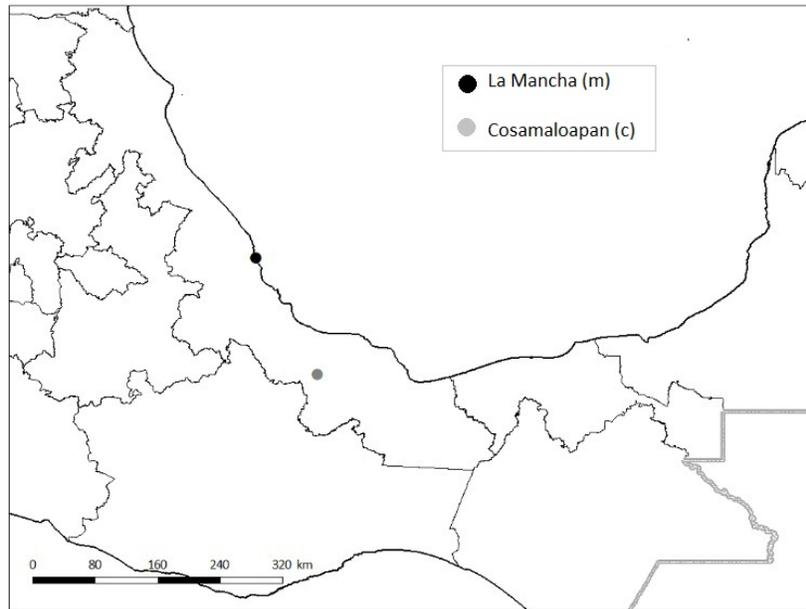


Figura 3. Ubicación de las poblaciones utilizadas de *B. pearsei* para el experimento intramórfico chico

Cuadro 3: Tratamientos del experimento intramórfico chico

Tratamiento	Descripción
<i>mm</i>	Cruza intrapoblacional,
<i>mc</i>	Cruzas interpoblacionales 165.83km de distancia
<i>cc</i>	Cruza intrapoblacional

El segundo experimento (Cuadro 4, Figura 4) se realizó el 1ro. de diciembre del 2010 con 30 individuos provenientes de dos poblaciones del morfo grande de Tamulte (T) y Papaloapan (P).

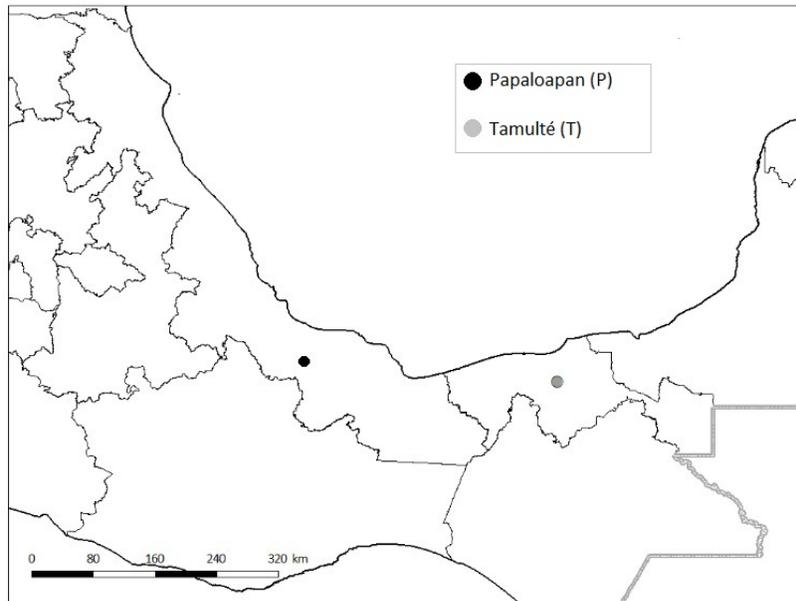


Figura 4. Localización de las poblaciones utilizadas para el experimento intramórfico grande

Ambos experimentos incluyeron tres tratamientos con cinco réplicas en cada uno en las mismas condiciones, duración y variables de respuesta del experimento anterior. En este caso, sin embargo, el análisis de las espermotecas fue más profundo y se realizaron varias mediciones con una rejilla microscópica (Figura 5).

Cuadro 4: Tratamientos del experimento intramórfico grande

Tratamiento	Descripción
<i>PP</i>	Cruza intrapoblacional,
<i>PT</i>	Cruzas interpopulacionales 314km de distancia
<i>TT</i>	Cruza intrapoblacional

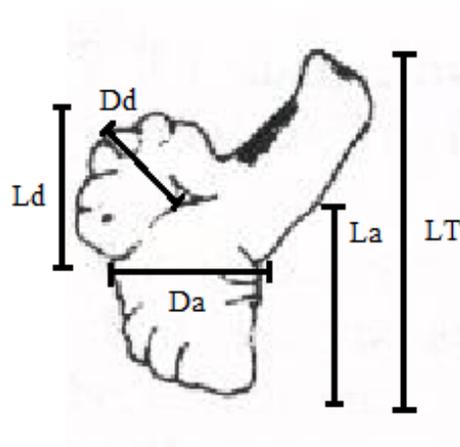


Figura 5. Mediciones realizadas en las espermatecas de *B. pearsei*; LT, longitud total. LA, longitud del ápula. Ld, longitud del divertículo. Da, diámetro del ápula. Dd, diámetro del divertículo

5.5. Efecto de las diferencias morfológicas reproductivas: Experimento Interespecífico

Se montó el 27 de Noviembre de 2010, unos días antes del experimento intramórfico del morfo grande (Figura 6).

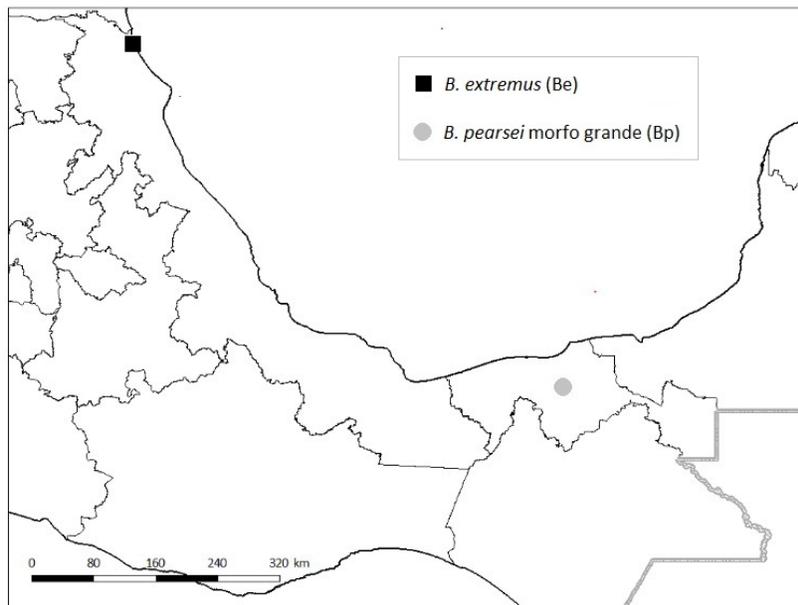


Figura 6. Ubicación de las poblaciones utilizadas para el experimento interespecífico

En el caso del tratamiento interespecífico BpBe y el intraespecífico BeBe, se utilizaron lombrices vírgenes (adultos no clitelados) obtenidas de capullos producidos por las poblaciones parentales. Debido a la imposibilidad de obtener más organismos con estas características, para el tratamiento intraespecífico BpBp se utilizaron las mismas réplicas montadas del experimento intramórfico grande (TT) que fueron juveniles recolectados del campo.

Las variables de respuesta y condiciones experimentales fueron las mismas que en los experimentos previos, sin embargo, dado que no se pudieron

obtener suficientes individuos vírgenes de *B. extremus*, el experimento no pudo balancearse correctamente en cuanto al número de réplicas (Cuadro 5)

Cuadro 5: Tratamientos del experimento interespecífico

Tratamiento	Descripción	No. de replicas
<i>BpBp</i>	<i>B. pearsei</i> x <i>B.pearsei</i>	5
<i>BpBe</i>	<i>B. pearsei</i> x <i>B. extremus</i>	4
<i>BeBe</i>	<i>B. extremus</i> x <i>B. extremus</i>	1

5.6. Análisis estadísticos

En todos los experimentos las variables de respuesta fueron el peso, el número y la viabilidad de los capullos, así como el peso y la mortalidad de los individuos.

La estadística descriptiva de los datos obtenidos sobre los aspectos reproductivos en cada tratamiento fueron analizados mediante los programas STATISTICA y Excel.

Con los datos de peso se calculó la tasa de cambio de crecimiento individual en el tiempo, es decir, la ganancia de peso en cada revisión. Esta tasa de cambio temporal individual fue ajustada a un modelo lineal y se calculó la pendiente (Gotelli y Ellison 2004). Las pendientes individuales fueron comparadas mediante pruebas de Kruskal-Wallis.

El número de capullos se comparó, dependiendo del experimento, con pruebas Kruskal-Wallis o pruebas de Wilcoxon para dos muestras.

Con los datos de las mediciones de las espermatecas se calculó el área del ámpula y del divertículo y se realizaron correlaciones con los datos transformados del número de capullos. Con los datos de iridiscencia en el divertículo de cada una de estas estructuras se realizaron pruebas de χ^2 para comparar los tratamientos.

6. RESULTADOS

6.1. Efecto del Tamaño: Experimento Intermórfico

El experimento incluyó tres tratamientos. Dos intramórficos que pueden ser considerados controles (mchmch y MGMG) y un intermórfico con el que se responden las preguntas e hipótesis planteadas (mchMG).

Cuadro 6. Aspectos del crecimiento en el experimento intermórfico

Tratamiento	Pendiente de la tasa de crecimiento*			Tasa diaria de crecimiento (mg/día)
	Mediana	\bar{x}	DE	
<i>mchmch</i>	-0.072	-0.122	0.138	1.71±0.62
<i>mchMG</i>	-0.139	-0.137	0.128	mch 3.22±0.83 MG 23.55±5.99
<i>MGMG</i>	-0.323	-0.336	0.157	19.41±9.42

*prueba K-W $H(2, 30)=8.705$ $p=0.0129$

Mediante una prueba de Kruskal-Wallis se compararon las pendientes de la tasa de crecimiento individual y se constató que la media de los rangos de las pendientes de la tasa de crecimiento en el tratamiento intramórfico grande (MGMG) fue menor (Cuadro 6) y significativamente diferente a la de los otros dos tratamientos ($H=8.71$, $p < 0.05$). Esto significa que en dicho tratamiento la ganancia de peso disminuyó en el tiempo y puede explicarse de dos maneras. Puede ser que la asignación de recursos destinados al crecimiento se vio comprometida por la reproducción —ya que en dicho tratamiento fue donde se produjeron más capullos— o bien podría deberse a que en estas réplicas la tasa de crecimiento se vio afectada por la competencia generada por el recurso limitante; en comparación con los otros tratamientos, en el tratamiento MGMG dos individuos de mayor tamaño tuvieron comparativamente

menos alimento y por lo tanto pudieron afectar mutuamente su crecimiento como reflejo de una interacción competitiva.

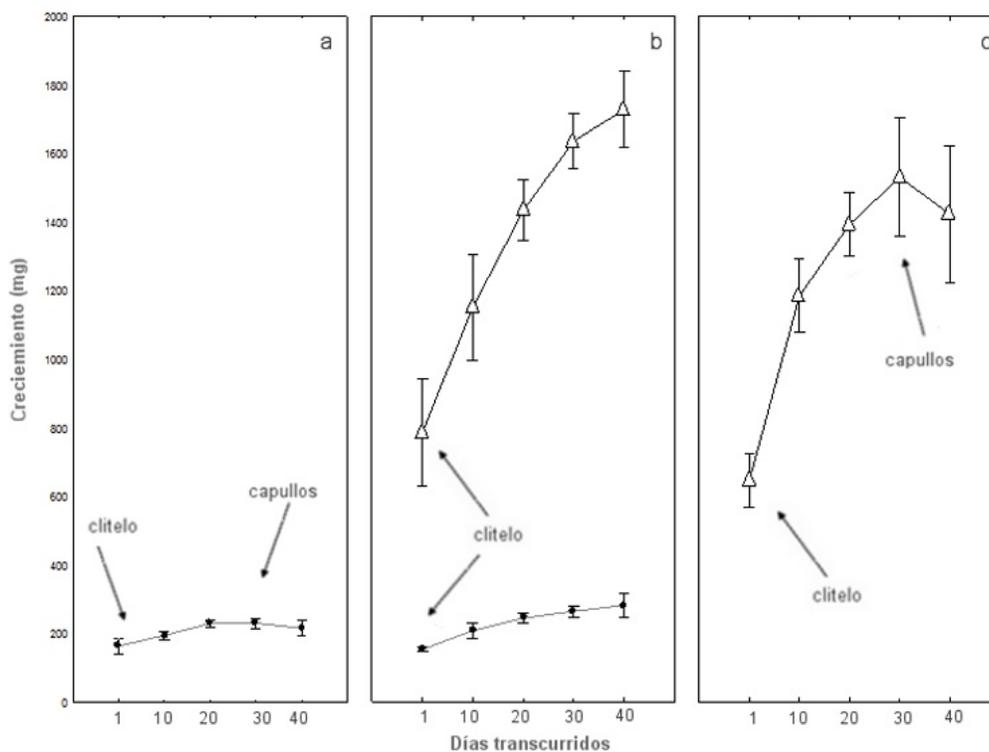


Figura 7. Crecimiento de los individuos en cada uno de los tratamientos; a) mchmch, b) mhcmg, c) MGMG. ● Población del morfo chico de Cosamaloapan; △ Población morfo grande de Tamulté. (Media +/- error estándar)

Crecimiento

En los tres tratamientos se alcanzó el peso óptimo para la reproducción coincidiendo con las observaciones de trabajos previos; pasando los 160 mg para el morfo chico y los 600 mg en el morfo grande (Ángeles 1996; De la Cruz 2005). En el tratamiento mchmch, la ganancia de peso total del principio al

fin del experimento fue de 68.4mg, en el tratamiento intramórfico grande (MGMG) fue de 776.6mg, mientras que para el tratamiento intermórfico (mchMG) fue de 128 mg para el morfo chico y 944mg para MG (Figura 7). De igual forma, la ganancia diaria de peso fue mayor en los individuos sometidos al tratamiento intermórfico que en aquellos de los tratamientos intramorficos (Cuadro 6). Es probable que lo anterior se relacione a que los individuos de en este tratamiento, al no producir capullos, (Figura 7b) destinaron los recursos de la reproducción al crecimiento (Cuadro 7).

Reproducción

Sólo se encontraron capullos en los dos tratamientos intramórficos. El tratamiento mchmch fue el que menor producción tuvo. La producción media de capullos fue de 4.4 capullos, con un intervalo de 0 a 10 capullos. Los capullos totales producidos por este tratamiento fueron 22. El peso promedio de los capullos fue de 3.9 mg, con una varianza de 2 a 6 mg. La viabilidad fue de 9.09%; es decir, que sólo eclosionaron 2 organismos de los 22 capullos producidos. El tiempo promedio que tardaron en eclosionar los capullos fue de 37.5 días después de su recolección (Cuadro 7, Figura 8).

Cuadro 7. Aspectos reproductivos de experimento intermórfico.

Tratamiento	Num. de capullos		Peso de los capullos*		Tiempo de eclosión**		Peso al eclosionar*		Viabilidad %
	N	\bar{x}	\bar{x}	DE	\bar{x}	DE	\bar{x}	DE	
<i>mchmch</i>	22	4.4	3.91	0.97	37.5	1.91	5	1.41	9.09
<i>mchMG</i>	0	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>MGMG</i>	69	13.8	14.68	2.02	23.34	6.7	11.95	2.45	58

* miligramos (mg)

** días

Contrastantemente, en el tratamiento intramórfico del morfo grande todas las réplicas presentaron capullos, siendo el promedio 13.8 por cruza. El total

de capullos producidos fue de 69, de los cuales 40 eclosionaron en un periodo promedio de 23.34 días, el peso promedio de los organismos eclosionados fue de 11.95 mg. El máximo de capullos producidos por réplica fue de 22 mientras que el mínimo fue de 5 (Cuadro 7, Figura 8).

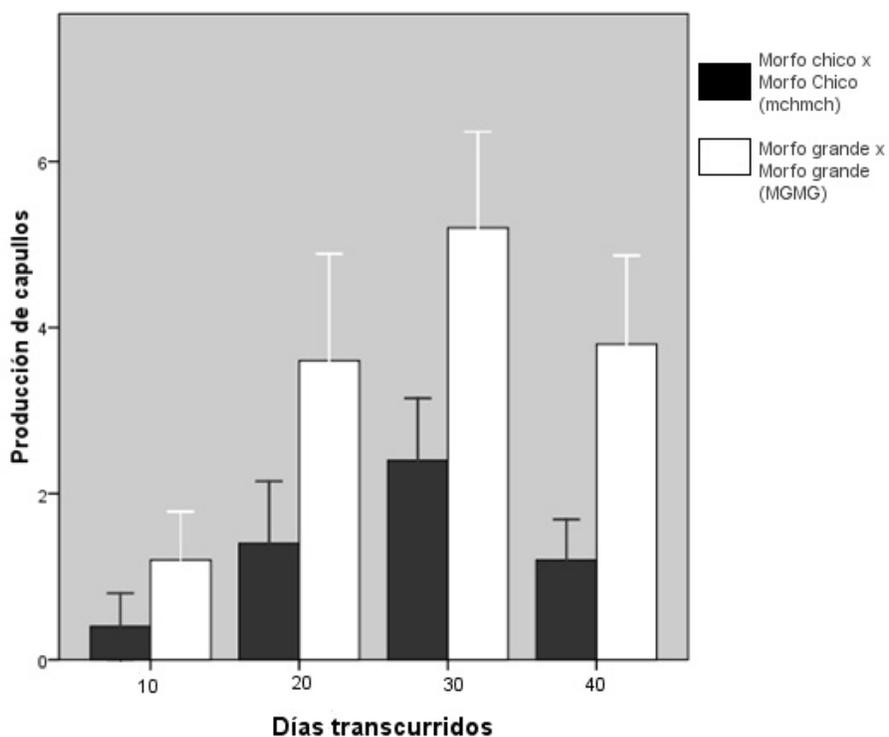


Figura 8. Producción de capullos promedio a lo largo del experimento. Los intervalos corresponden al error estándar.

Mediante una prueba de Wilcoxon de dos muestras se pudo constatar que la producción total de los capullos (Figura 8) en los dos tratamientos que se reprodujeron fue diferente ($U = 2.5$ $p < 0.05$); las réplicas de MG produjeron más capullos que las del mch. La viabilidad también resultó ser menor en el morfo chico, esto puede estar relacionado con que al ser los capullos más

pequeños, guardan menos nutrientes y a una observación cualitativa de que dichos capullos resultan ser más susceptibles a ser infestados por hongos y nemátodos (Figura 9).



Figura 9. Comparación de tamaño de los capullos producidos en el experimento intermórfico de *B. pearsei*. A la izquierda el morfo pequeño y a la derecha el morfo grande

Análisis de las espermatecas

Una vez que los organismos fueron fijados en formol se realizaron disecciones para extraer las espermatecas de los organismos, observándose iridiscencia en el divertículo de todas las réplicas intramórficas y ausencia de la misma en las intermórficas. Adicionalmente, se encontraron diferencias en la morfología del divertículo de las espermatecas de ambos morfos. Los organismos del morfo grande presentaron un divertículo reticulado o multilocular, mientras que los organismos del morfo chico poseen uno liso o unilocular (Figura 10).



Figura 10. Morfología de las espermatecas: a) Comparación de tamaño de las espermatecas mch y MG. b) Morfo chico c) Morfo grande. A la izquierda tratamiento intermórfico, a la derecha tratamiento intramórfico donde se observa iridiscencia en los divertículos)

6.2. Efecto de la distancia geográfica: Experimentos intramórficos

6.2.1. Morfo chico

El primer experimento intramórfico fue realizado con individuos provenientes de dos poblaciones del morfo chico separadas por 165.85 km de distancia; la Mancha (m) y Cosamaloapan (c). Consistió en tres tratamientos: dos intrapoblacionales (mm y cc) y uno interpoblacional (cm).

Cuadro 8. Aspectos del crecimiento en el experimento intramórfico chico

Tratamiento	Pendiente de la tasa de crecimiento*			Tasa diaria de crecimiento
	Mediana	\bar{x}	DE	(mg/día)
<i>cc</i>	-0.013	-0.033	0.106	1.05±0.3
<i>mc</i>	-0.358	-0.407	0.292	1.45±0.09
<i>mm</i>	-0.107	-0.197	0.233	1.01±0.52

*prueba K-W H (2, 30)=14.33, p=0.008

La pendiente de la tasa de cambio de crecimiento de los individuos en el tratamiento cm fue menor que en los otros dos tratamientos (H=14.33, p<0.01). Esto puede deberse a que en dicho tratamiento se utilizaron a los organismos más pequeños, con el fin de asegurar que fueran vírgenes, por lo que la pendiente fue menor, ya que al inicio dichos organismos ganaron más peso, ganancia que fue disminuyendo de forma más evidente conforme pasó el tiempo (Cuadro 8).

Crecimiento

La ganancia de peso promedio del principio a fin del experimento fue de 50.75 mg, 42mg y 118.28 mg, para mm, cc y mc, respectivamente (Figura

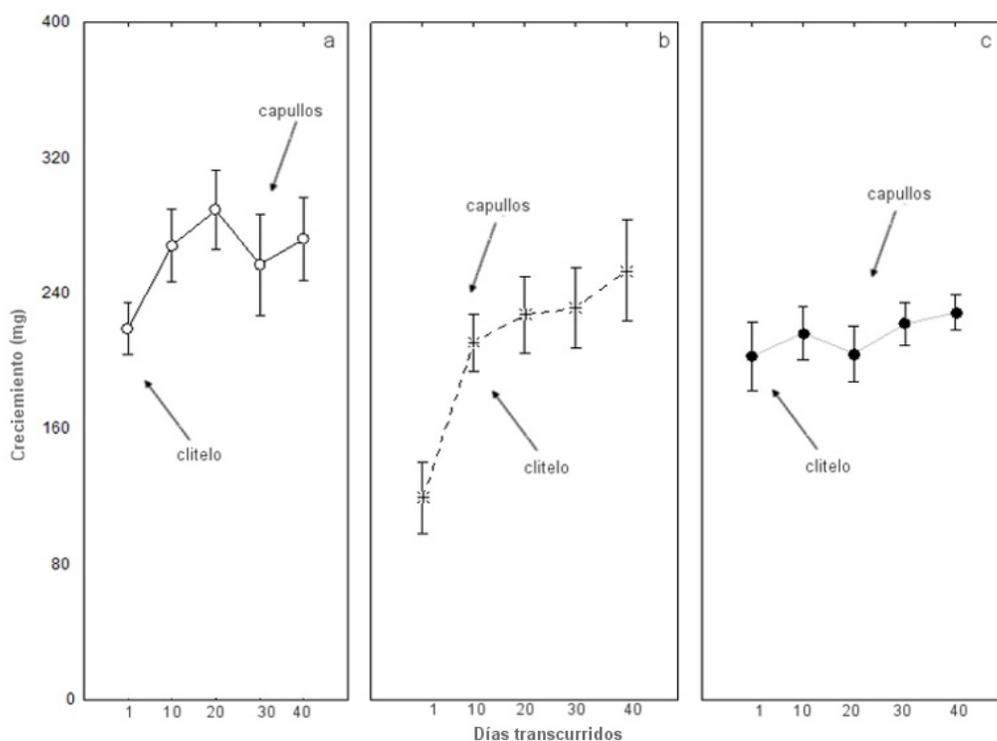


Figura 11. Crecimiento de los individuos del morfo chico de *B. pearsei* en cada uno de los tratamientos; a) mm, b) mc, c) cc; ○ Población de La Mancha ● Población de Cosamaloapan; ※ Ambas poblaciones (Media +/- error estándar)

11). La ganancia diaria de crecimiento fue de 1.05 ± 0.3 mg/día para mm, 1.01 ± 0.51 mg/día para los individuos del tratamiento intrapoblacional de Cosamaloapan (cc) y 1.45 ± 0.96 mg/día para el tratamiento interpoblacional (mc). Se registró mortalidad en los tres tratamientos; dos individuos en una misma réplica en el tratamiento mm, y, al final del experimento, tres individuos del tratamiento mc y uno del cc también murieron..

Reproducción

El tratamiento mm fue el que produjo más capullos; 28 en total, de los

cuales eclosionaron 4 organismos. De las 4 réplicas que se reprodujeron, la que produjo más capullos tuvo 13 y la de menor producción solo uno. En las cruza intrapoblacionales del tratamiento cc se encontraron capullos en todas las cruza sumando en total 15 capullos, 2 de los cuales eclosionaron. La réplica con más capullos presentó 7 y la de menor producción tuvo 1. Por su parte, en el tratamiento interpoblacional (mc), 3 de las 5 cruza produjeron capullos, produciendo en total 9 siendo la producción máxima de 4 y la mínima 2 capullos. Sólo un individuo eclosionó en este tratamiento (Figura 11, Cuadro 9).

A priori parecería que la población de La Mancha produjo más capullos que la población de Cosamaloapan (Figura 12), pero si retomamos los resultados del experimento intramórfico (tratamiento mchmch) donde se utilizaron individuos de la población de Cosamaloapan criados desde su eclosión en suelo de La Mancha, podemos ver que esto puede solo estar reflejando el efecto de someter a individuos juveniles provenientes directamente del campo a un cambio de suelo, lo cual pudo haber funcionado en detrimento a su adecuación. Además el análisis estadístico de la producción de capullos probó que no había una diferencia significativa entre los tres tratamientos. ($H=1.32$, $p=0.52$).

Cuadro 9. Aspectos reproductivos de experimento con poblaciones del morfo chico de *B. pearsei*

Tratamiento	Num. de capullos		Peso de los capullos*		Tiempo de eclosión**		Peso al eclosionar*		Viabilidad %
	N	\bar{x}	\bar{x}	DE	\bar{x}	DE	\bar{x}	DE	
cc	15	3	3.96	1.19	37.75	4.27	5.5	1	14.28
mc	9	1.8	3.77	1.28	44	-	4	-	11.11
mm	28	5.6	3.71	1.45	42.5	2.12	4.5	0.7	13.33

* *miligramos (mg)

** días

Análisis de las espermatecas

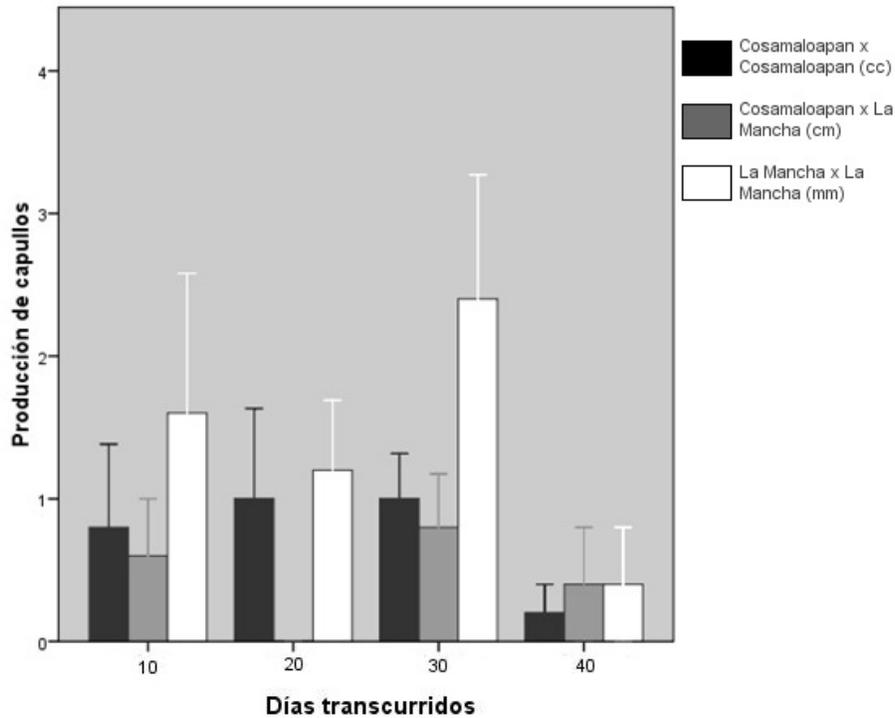


Figura 12. Producción promedio de capullos durante el experimento intramorfico chico; Media +/- error estándar)

En el análisis de las espermatecas no se encontraron diferencias significativas ($\chi^2 = 5.79$, $p > 0.05$) en la iridiscencia del divertículo, presente en el 66 % y 100 % de los individuos sometidos a los tratamientos intrapoblacionales — cc y mm respectivamente— y en el 43 % del tratamiento interpoblacional. Tras medir las estructuras que componen la espermateca no se encontró una correlación significativa entre el área del ámpula ($r = 0.36$, $p = 0.11$) y el número de capullos producidos y tampoco la hubo entre el tamaño del divertículo y el mismo parámetro ($r = -0.29$, $p = 0.17$) (Figura 13).

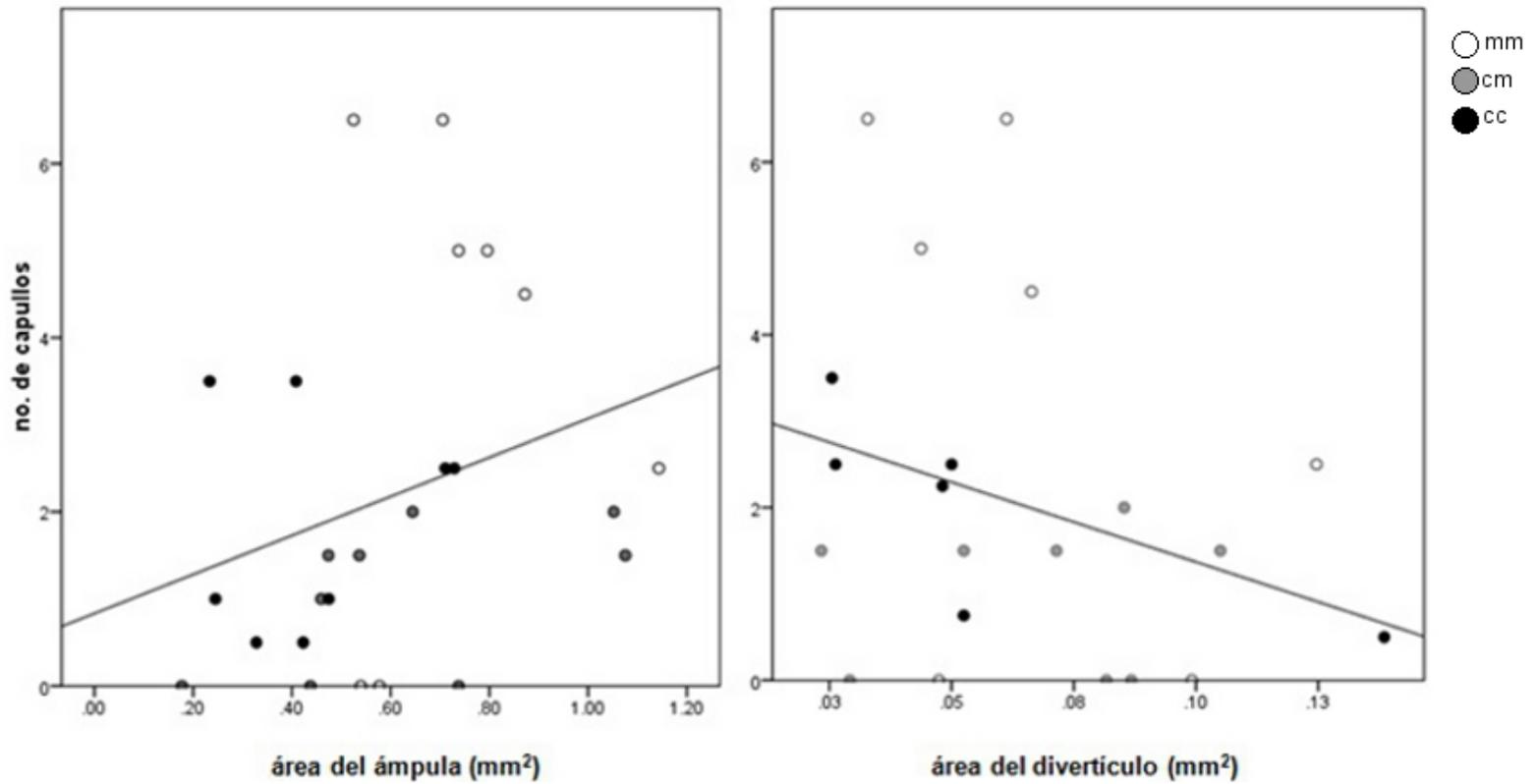


Figura 13. Relación entre el tamaño del ámpula; ($r^2=0.11$), el tamaño del divertículo ($r^2=0.08$) y el número de capullos en los tratamientos inter e intrapoblacionales del morfo chico de *B. pearsei*.

6.2.2. Morfo grande

El experimento se realizó con dos poblaciones del morfo grande; una del estado de Veracruz, en el municipio de Cosamaloapan a orillas del río Papaloapan (P) y la población de Tamllté de las Sábanas (T) que se utilizó en el experimento intermórfico. Ambas localidades están separadas entre ellas por una distancia de 314 km. Al igual que los experimentos previamente descritos, consistió en tres tratamientos: dos intrapoblacionales (PP y TT) y uno interpoblacional (PT).

Cuadro 10. Aspectos del crecimiento en poblaciones del morfo grande de *B. pearsei*

Tratamiento	Pendiente de la tasa de crecimiento*			Tasa diaria de crecimiento (mg/día)
	Mediana	\bar{x}	DE	
<i>PP</i>	-0.594	-0.529	0.343	12.9±6.1
<i>PT</i>	-0.455	-0.542	0.272	19.78±7.23
<i>TT</i>	-0.295	-0.301	0.176	22.44±5.52

*prueba K-W H (2, 30)=6.30 p=0.042

La pendiente de la tasa de crecimiento individual (Cuadro 10) resultó ser diferente entre los tres tratamientos evaluados (H=6.30 p=0.042); bajo observaciones previas y conocimiento de ambas poblaciones es relevante decir que la población de Tamulté, Tabasco tiene un periodo de aclimatación muy corto comparada con cualquier otra población y que la facilidad de su cultivo siempre resultó ser superior a las otras poblaciones estudiadas. Esto se explica debido a que en la región agrícola donde se colectó es común el uso de la leguminosa *M. pruriens* como acompañamiento de la siembra de alimentos, por lo que esta población está naturalmente sometida al alimento utilizado en estos experimentos y probablemente por eso tuvo un mejor éxito reproductivo

y la pendiente de su tasa crecimiento fue menor, al destinar más recursos a la reproducción conforme pasó el tiempo.

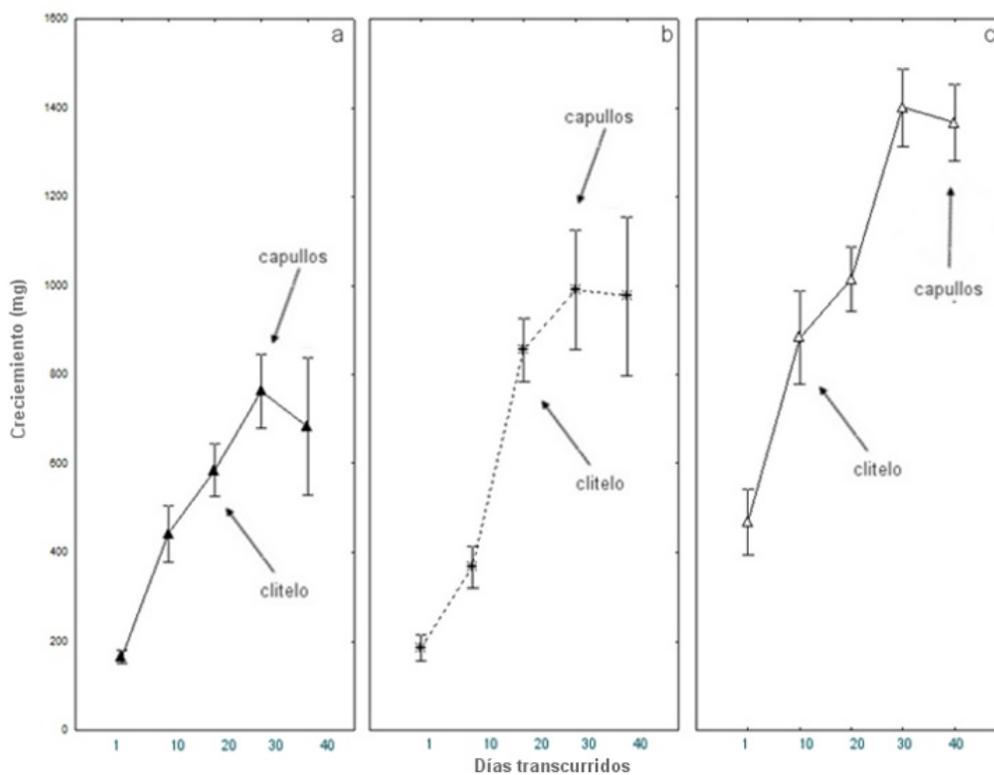


Figura 14. Crecimiento de los individuos del morfo grande de *B. pearsei* los tratamientos; a) PP, b)PT, c)TT.▲ Población de Papaloapan; △ Población de Tamulté; * Ambas poblaciones (Media +/- error estándar)

Crecimiento

Se registró una ganancia de peso total promedio de 518 mg para el tratamiento PP, 897.8 mg para TT y para PT 791.4mg. La ganancia diaria de crecimiento fue de 19.75 ± 7.23 mg/día, 22.4 ± 4.5 mg/día y 12.96 ± 6.11

mg/día para PP, TT, y PT respectivamente (Figura 14). Se registró la muerte de un individuo al final del experimento en el tratamiento PP.

Reproducción

Los organismos pertenecientes al tratamiento PP produjeron en total 24 capullos, de los que eclosionaron 9 organismos. El promedio por réplica fue de 4.8 y el número máximo de capullos producidos en una fueron 12, mientras el mínimo fue 0. Dos organismos en dos réplicas experimentales retrajeron su clítelos conforme el experimento avanzó, lo cual pudo ser efecto del estrés que causa el cambio de sustrato en los organismos. En el tratamiento TT todas las réplicas se reprodujeron produciendo en total 40 capullos (en promedio 8 por réplica), de los cuales eclosionaron 22 con un peso promedio de 13.9mg. El número máximo de capullos producidos por una réplica fue 14, mientras que el mínimo fue 1 (Cuadro 11, Figura 15).

En el tratamiento interpoblacional, dos de las cinco réplicas montadas produjeron capullos, una de ellas produjo 7 y la otra 6. El peso promedio de los capullos fue 11.62 mg y después de 60 días de incubación ninguno eclosionó. La producción de capullos en los tres tratamientos no fue significativamente diferente ($H(15, 2) = 3.62$ $p = 0.1632$). Aunque puede observarse que la producción total de la población de Tamulté es casi el doble que la producción de la población de Papaloapan (Figura 15).

Análisis de las espermatecas

La iridiscencia encontrada en el divertículo de las espermatecas fue significativamente diferente ($\chi^2 = 16.19$, $p < 0.05$); 80 % de los individuos del tratamiento PP y el 100 % de TT la presentaron, por su parte en el tratamiento PT sólo el 25 % de los individuos presentaron iridiscencia en el divertículo y, por lo tanto, intercambiaron esperma. Al analizar las dimensiones de las

Cuadro 11. Aspectos reproductivos de experimento con poblaciones del morfo grande de *B. pearsei*

Tratamiento	Num. de capullos		Peso de los capullos*		Tiempo de eclosión**		Peso al eclosionar*		Viabilidad %
	N	\bar{x}	\bar{x}	DE	\bar{x}	DE	\bar{x}	DE	
PP	24	4.8	12.96	1.69	28.33	6.69	10.55	2.8	37.5%
PT	13	2.6	11.62	2.66	-	-	-	-	-
TT	40	8	13.9	2.48	27.8	4.34	12.38	1.86	55%

*miligramos (mg)
** días

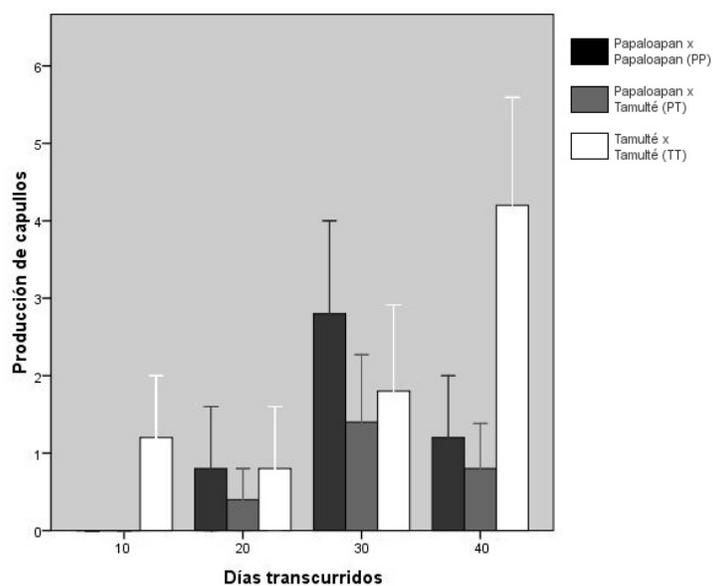


Figura 15. Producción promedio de capullos durante el experimento (Media +/- error estándar)

espermatecas se encontró una correlación positiva tanto del tamaño del divertículo ($r=0.76$, $p<0.05$) como del tamaño del ampulla ($r=0.56$ $p<0.05$) y los capullos producidos (Figura 16).

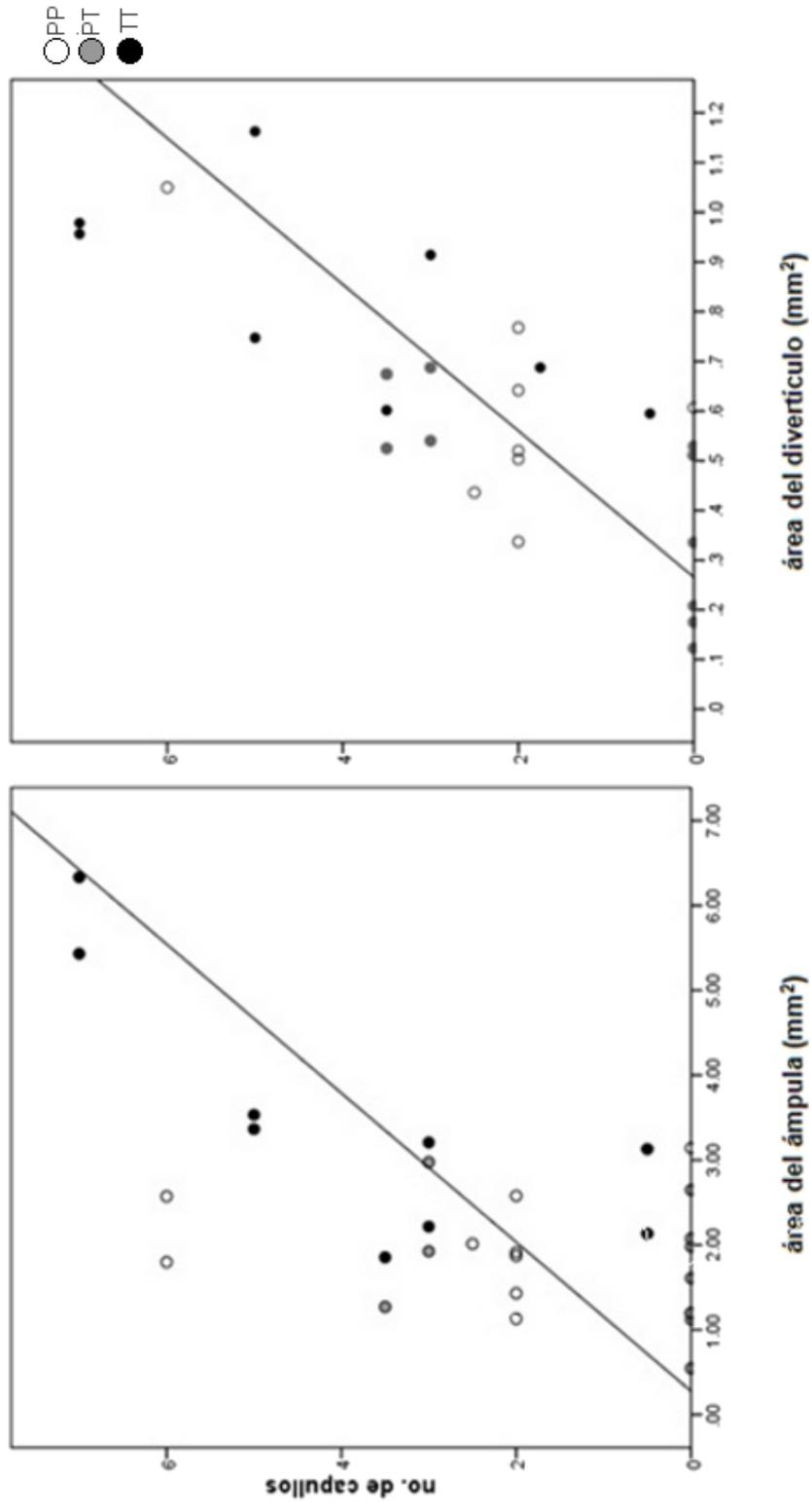


Figura 16. Relación entre tamaño del ámpula; $r^2=0.31$ (a) y el tamaño del divertículo; $r^2=0.58$ (b) y el número de capullos en los tres tratamientos

6.3. Efecto de las diferencias morfológicas reproductivas: Experimento interespecífico

Este experimento fue realizado a la par del experimento anterior y, lamentablemente, no se pudieron montar las réplicas suficientes para tener datos estadísticamente significativos; a esto se le suma que las condiciones experimentales no fueron estrictamente iguales ya que los individuos pertenecientes al tratamiento BpBp provenían directamente del campo (mismas réplicas utilizadas en el tratamiento TT del experimento anterior) mientras que todos los demás fueron organismos criados desde su eclosión en condiciones controladas (Cuadro 12). Cualitativamente, se puede observar (Cuadro 12, Figura 17) que el crecimiento del tratamiento interespecífico (BpBe) fue mayor que los otros dos tratamientos; sobretodo de la especie *B. pearsei* en comparación de la congénérica *B. extremus*.

Crecimiento

En el tratamiento intraespecífico de *B. extremus*, los dos individuos pertenecientes a la única réplica ganaron en promedio 600mg a lo largo del experimento, acumulando 15 ± 4.03 mg/día; en el tratamiento BpBe el crecimiento a lo largo de todo el experimento de las especies *B. pearsei* y *B. extremus* fue de 962 y 462 mg respectivamente, con un crecimiento de 24.05 ± 21.7 mg/día para Bp y 7.71 ± 2.8 mg/día para Be (Figura 17).

Reproducción

En la única réplica del tratamiento BeBe se encontraron 5 capullos de los cuales 2 eclosionaron. Cabe destacar que el tamaño y forma de los capullos de *B. extremus* es diferente de aquellos de *B. pearsei*, siendo estos últimos más grandes y más ovalados. El tratamiento BpBp produjo en promedio 8 capullos por réplica (en total 40), de los cuales eclosionaron 22 (Figura 18,

Cuadro 12. Aspectos del crecimiento en el experimento interespecífico

Tratamiento	Pendiente de la tasa de crecimiento*			Tasa diaria de crecimiento (mg/día)
	Mediana	\bar{x}	DE	
BeBe	-0.159	-0.159	0.017	15±4.03
BpBe	-0.093	-0.1	0.098	Be 7.71±2.82
BpBp	-0.295	-0.301	0.176	Bp 24.05±21.7

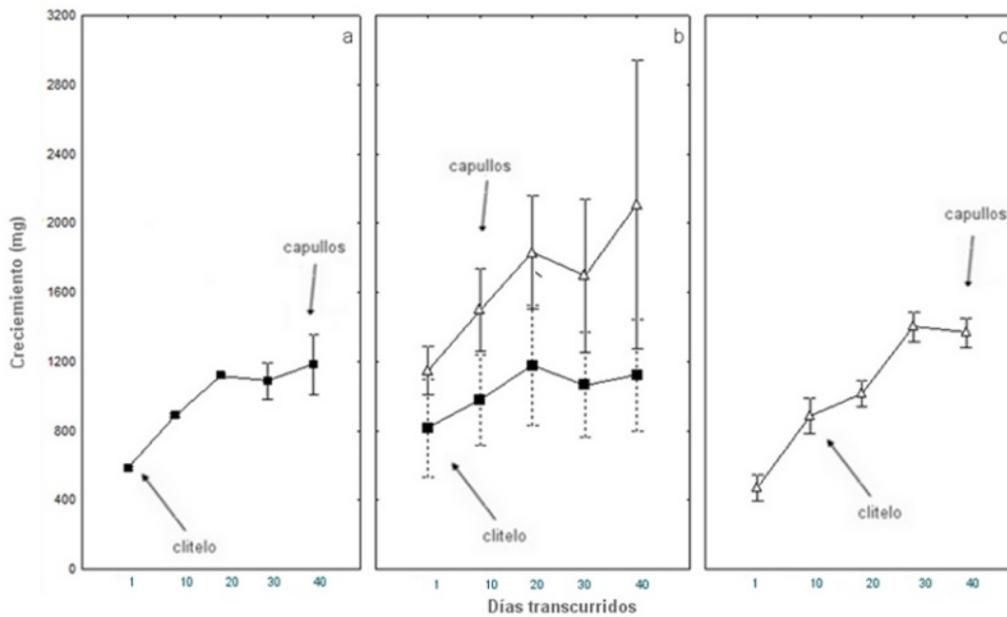


Figura 17. Crecimiento de los individuos en cada uno de los tratamientos; a) BeBe b) BpBe c) BpBp ■ Población de *B. extremus*; △ Población morfo grande de *B. pearsei* (Media +/- error estándar)

Cuadro 13). Por su parte, en el tratamiento interespecífico sólo en una réplica de las 4 montadas se encontraron capullos, en esta se encontraba un individuo de Bp que alcanzó un peso anormal; rebasando los 4000 mg, en total dicha réplica produjo 4 capullos, ninguno de los cuales eclosionó después de 60 días

de incubación (Cuadro 13).

Cuadro 13. Aspectos reproductivos de experimento intraspecifico

Tratamiento	Num. de capullos		Peso de los capullos*		Tiempo de eclosión**		Peso al eclosionar*		Viabilidad %
	N	\bar{x}	\bar{x}	DE	\bar{x}	DE	\bar{x}	DE	
<i>BpBp</i>	40	8	13.9	2.48	27.8	4.34	12.38	1.86	55%
<i>BpBe</i>	4	1	15.5	1.91	-	-	-	-	0%
<i>BeBe</i>	5	-	23.6	2.60	46.5	2.12	23	1.41	40%

*miligramos (mg)

** días

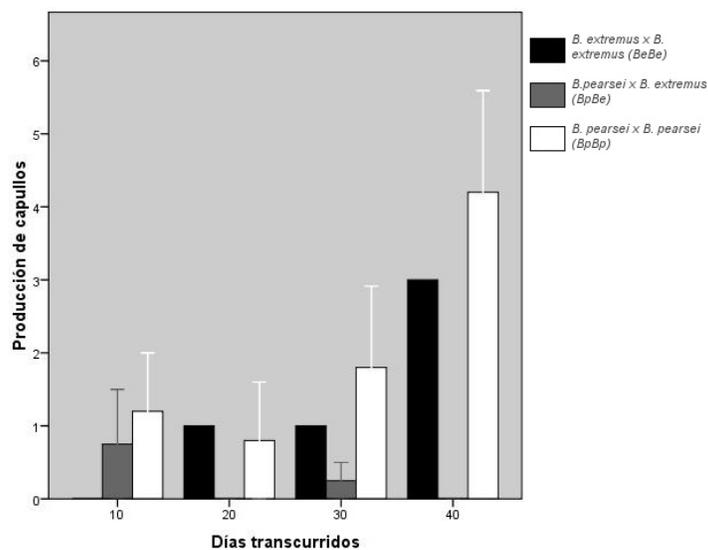


Figura 18. Producción de capullos por réplica durante el experimento interespecifico de Bp y Be (Media +/- error estándar)

Análisis de las espermatecas

Al analizar los divertículos y ámpulas de las espermatecas (Cuadro 14) se encontró 100% de iridiscencia en el tratamiento BpBp y el BeBe.

En cuanto al tratamiento BpBe se encontró iridiscencia sólo en un individuo de *B. extremus* proveniente de la réplica en la que se encontraron capullos, dicha iridiscencia fue muy poca y concentrada en la parte inferior del divertículo. Es evidente que este organismo recibió una cierta cantidad de espermatozoides y líquido prostático (Figura 19b), lo que no se encontró en el individuo *B. pearsei* de la misma réplica. Aunque por el tamaño y forma de los capullos es probable que la que puso los 4 capullos fue *B. pearsei*. Debemos recordar que los poros prostáticos de ambas especies difieren en posición 2 segmentos por lo que la disparidad en la cópula pudo haberse debido a la imposibilidad de que los poros espermatecales de ambos individuos se alinearan con los poros prostáticos respectivos.

Cuadro 14. Aspectos morfométricos de las espermatecas en el experimento interespecífico

Tratamiento	Organismo	Área del ámpula*		Área del divertículo*		Iridiscencia del divertículo %
		\bar{x}	DE	\bar{x}	DE	
<i>BpBp</i>		3.47	1.5	0.81	0.19	100%
<i>BpBe</i>	Bp	2.09	0.76	0.69	0.14	-
	Be	1.79	0.24	0.24	0.11	12%
<i>BeBe</i>		1.29	0.09	0.33	0.17	100%

*mm²

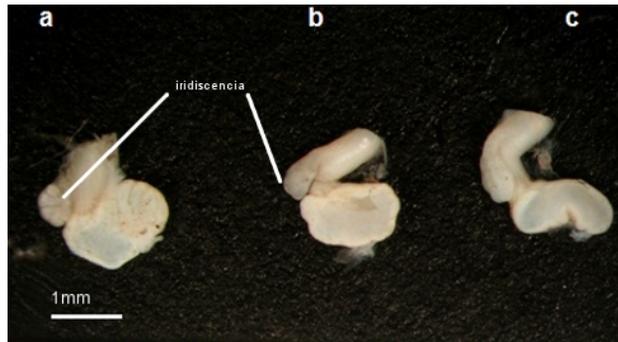


Figura 19. Aspecto de las espermatecas de individuos de *B. extremus* provenientes de los tratamientos a) BeBe. b) de la réplica de BpBe donde se encontraron capullos, c) y de una de las réplicas BpBe sin producción de capullos



Figura 20. Comparación del tamaño y forma de los capullos de *B. extremus* y *B. pearsei*

7. DISCUSIÓN GENERAL

7.1. *Balanteodrilus pearsei*

7.1.1. Importancia del tamaño corporal en el aislamiento reproductivo

Los cambios con relevancia taxonómica en las lombrices de tierra rara vez son caracteres adaptativos. El tamaño y la coloración son dos caracteres externos que normalmente son usados en la taxonomía de muchos taxa animales; sin embargo, en las lombrices dichos caracteres son evolutivamente menos conservados (alta variación intraespecífica) y están sujetos a la influencia ambiental, por lo que pocas veces son utilizados (Chang *et al.* 2007). No obstante, los cambios en la pigmentación pueden estar dados por la especialización diferencial en la alimentación y esto podría representar un aislamiento ecológico relevante. De igual forma los cambios de tamaño podrían tener una alta importancia biológica ya que probablemente afectan la reproducción por la incapacidad mecánica en la cópula (Pickford 1937).

En cuanto a la pigmentación, recientemente Domínguez *et al.* (2005) realizaron un experimento para determinar si *Eisenia fetida* y *Eisenia andrei* pertenecían a la misma especie biológica. Sus resultados mostraron que aún cuando hubo cruza interespecíficas, éstas resultaron en capullos inviábiles, por lo que concluyeron que estas dos especies indistintamente nombradas *Eisenia fetida* están aisladas reproductivamente por inviabilidad híbrida (aislamiento postcopulatorio, precigótico).

Otro ejemplo interesante es el estudio que realizaron Lowe y Butt (2008) con *Allolobophora chlorotica*; en dicha especie existen dos morfos de distinta pigmentación—uno verde y uno rosa— que están separados ecológicamente por sus preferencias en la humedad del suelo (Lowe y Butt, 2007). Al realizar cruza controladas encontraron que los híbridos de la generación F1 fueron

estériles, lo que sugirió que ambos representaban distintas especies.

Pickford (1937) ejemplifica el problema del tamaño con una especie africana llamada *Chilota africanus*. Esta autora describió una variedad de mayor tamaño *Chilota africanus* var *gigas*, a su vez identificó un poco de intergradación regional en la talla pero encontró una localidad donde ambos morfos coexistían. Aunque no lo comprobó experimentalmente, Pickford sugirió que la copulación entre ambas variedades resultaría imposible debido a que la distancia entre los poros espermatecales y los poros prostáticos eran casi el doble de un morfo a otro, de modo que propuso que aunque taxonómicamente eran iguales, ambos linajes deberían estar genéticamente aislados.

En cuanto al sistema de estudio, en trabajos anteriores (De la Cruz, 2005) se ha probado que el cambio en el tamaño de los dos morfos de *B. pearsei* evaluados no es una respuesta plástica, sino que está fijada en las poblaciones del morfo chico las cuales no aumentan su tamaño aun con la adición de nutrientes extra en el sustrato. En el presente trabajo se encontró aislamiento reproductivo total entre los individuos del morfo chico y el morfo grande de *Balanteodrilus pearsei*. El mecanismo de aislamiento es precigótico ya que no hubo producción de capullos ni intercambio de esperma y probablemente —como lo intuyó Pickford en el ejemplo anterior— esté basado en una incapacidad mecánica en la cópula debido a la distancia de los poros prostáticos respecto a los poros espermatecales en ambos individuos.

Este trabajo propone que el morfo chico debe considerarse como una especie biológica distinta por las siguientes características encontradas en esta investigación que se suman a lo observado en trabajos previos:

1. Aspectos morfológicos

- La morfología del divertículo de la espermateca es diferente en ambos morfos; unilocular en el morfo chico y multilocular en el grande.

- Todos los individuos del morfo chico poseen 2 marcas genitales en el segmento 18 las cuales nunca se presentan en los individuos del morfo grande (Fragoso y Rojas, en prep.)
- De la Cruz (2005) encontró una diferencia significativa en el promedio de la cantidad de segmentos en individuos adultos (102 ± 4.22 para el morfo chico y 148 ± 0.89 para el grande)

2. Aspectos ecológicos

- El morfo chico posee un nicho edáfico restringido a suelos arenosos; el morfo grande no posee esta restricción
- Se ha reportado una localidad (Isla, Ver.) donde ambos morfos coexisten en simpatria (Brown, 2004)
- Se encontró aislamiento reproductivo total
- El morfo grande posee una mayor fecundidad; De la Cruz (2005) calculó que el morfo chico produce 60 capu/ind /año mientras que el morfo grande 238 capu/ind /año

Sin embargo, aun quedan preguntas por responder, como por ejemplo ¿porqué la fecundidad del morfo chico es menor que la del morfo grande? De acuerdo a la teoría de historias de vida los organismos al poseer un mayor tamaño comprometen en cierto grado su reproducción debido a una disyuntiva en la asignación de los recursos, por lo que se esperaría una mayor fecundidad en el morfo chico. La baja fecundidad de dicho morfo puede deberse a que éste está adaptado a suelos arenosos que en general contienen menor porcentaje de materia orgánica y nutrientes y son más pobres por lo que la fecundidad de este morfotipo puede ser un carácter fijado durante la evolución.

Esto último puede dar un indicio sobre el proceso de especiación que influyó en la divergencia de ambos linajes. Existen dos escenarios para explicar la divergencia de este taxón. En el primero de ellos el morfo chico invadió suelos

arenosos muy pobres y el cambio en el tamaño es sólo reflejo de su respuesta a este estrés ambiental que posteriormente se fijó en la población para luego dispersarse a suelos más ricos. El segundo escenario es más complejo y fue propuesto por Fragoso y Rojas en 1996, quienes sostienen que, el morfo chico se aisló, acumuló diferencias genéticas en alopatria y posteriormente hubo un segundo contacto con una población congénérica que ocupaba un nicho muy parecido al de ella por lo que el cambio en el tamaño es el resultado de un desplazamiento de carácter para evitar apareamientos interespecífico. Sin duda la filogenia molecular del género será el elemento decisivo que determinará cuál de los escenarios es el más viable (Casallas, en prep).

7.1.2. Efecto de la distancia geográfica en el aislamiento reproductivo

Los oligoquetos no son un grupo que se caracterice por poseer una diversidad morfológica importante. Esto puede deberse a que los organismos edáficos se enfrentan a condiciones ecológicas particulares de alta heterogeneidad espaciotemporal y es probable que la alta especialización a estos hábitats haya generado el desarrollo de estrategias evolutivas (*vg.* selección estabilizadora) capaces de minimizar o eliminar los cambios morfológicos desfavorables para enfrentarlas (King *et al.* 2008; Mathieu *et al.* 2010). No obstante con la implementación —relativamente reciente— de metodologías moleculares al grupo de los oligoquetos se ha encontrado un alta diversidad intraespecífica entre diversos taxones que representan casos potenciales de diversidad críptica (King *et al.* 2008). ¿Acaso esta diversidad genética puede reflejarse en la afinidad reproductiva? Una de las hipótesis centrales del trabajo es que la afinidad reproductiva tiene que verse desfavorecida si se aumenta la distancia entre poblaciones que en principio pertenecen a la misma especie y al mismo morfo.

Respecto al ejemplo mencionado anteriormente con *A. chlorotica* que po-

see dos morfos que difieren en su pigmentación, otro grupo de investigadores realizó análisis moleculares de un gen mitocondrial en la misma especie y encontraron que en realidad existían 5 haplotipos diferentes; 2 rosas y 3 verdes —*i.e* 1 morfo \neq 1 especie— por lo que existen 5 linajes distintos. Ante tan complejo panorama los autores proponen que con el fin de dilucidar las barreras específicas entre las especies de oligoquetos es importante realizar metodologías moleculares con varios marcadores, tener información de experimentos ecológicos que expliquen si las diferencias crípticas se traducen en requerimientos o tolerancias ecológicas diferenciales, y realizar experimentos de cruza para dilucidar la fuerza y la naturaleza de los mecanismos de aislamiento que han generado las especies potenciales (King et al 2008).

En los tratamientos interpoblacionales que se realizaron en este trabajo, en ambos experimentos se encontró reproducción entre poblaciones separadas por 165 km (60 % de las parejas experimentales) y 314 km (40 % de las réplicas) para el morfo chico y grande, respectivamente. Aunque la cantidad total de capullos producidos no presentó diferencias significativas entre los tres tratamientos de ambos experimentos, la viabilidad en los tratamientos interpoblacionales resultó ser menor en el caso del morfo chico y nula en el caso del morfo grande. Se infiere que las poblaciones alejadas de los mismos morfos poseen mecanismos de reconocimiento que hacen que el flujo reproductivo no se interrumpa de manera total. No obstante, las poblaciones de ambos morfos han comenzado a generar mecanismos de aislamiento postci-gótico, los cuales se espera que surjan primero en condiciones de alopatria (Coyne y Orr, 2004). Sin embargo, no se puede confirmar la naturaleza y fuerza de este aislamiento ya que lamentablemente sólo eclosionó un individuo del tratamiento interpoblacional chico por lo que no pudo realizarse una cruda de F2 para ver si éste era fértil.

Es importante recalcar que el hecho de que surjan mecanismos de aislamiento entre poblaciones no significa que éstas se traduzcan en especies

distintas; las poblaciones de oligoquetos poseen una estructura espacial compleja y probablemente por procesos de alopatría se estén acumulando diferencias que pueden no traducirse morfológicamente pero que alteran los procesos biológicos de las poblaciones. Sin embargo el flujo genético generado por la dispersión pasiva (la cual es promovida por los seres humanos en la región) puede alterar y atenuar la divergencia de estos linajes. En un escenario hipotético, si por alguna razón dos poblaciones del mismo morfo llegaran a coexistir en la misma localidad, podría ocurrir que un linaje se extinga por que otro es más competitivo o —un poco menos probable de acuerdo a los resultados— que su pool genético vuelva a cohesionarse (Coyne y Orr, 2004). Por esta razón no se propone que las cuatro poblaciones estudiadas (dos del morfo chico y dos del morfo grande) representen especies biológicas estrictamente hablando pues si bien se observó que existe aislamiento en cierto grado, no se encontraron diferencias en preferencias ecológicas, diferencias morfológicas o respuestas reproductivas contrastantes.

Un resultado colateral muy interesante de los experimentos realizados en este estudio fue el análisis de las espermatecas. Por un lado en el morfo chico no existió una relación significativa entre el tamaño del divertículo y el ámpula con el número de capullos producidos, aunque la tendencia con el número de capullos fue ligeramente negativa entre el tamaño del divertículo y positiva con el ámpula. Podría parecer intuitivo pensar que la tendencia negativa se debería a que entre más capullos pone una lombriz menos esperma va a quedar en el divertículo conforme lo va usando; pero lo mismo debería haberse observado con el tamaño del ámpula lo que no ocurrió.

En cuanto al morfo grande las relaciones positivas y significativas encontradas tanto del tamaño del ámpula y del divertículo con el número de capullos producidos estaría indicando que entre más esperma intercambien los organismos más capullos ponen y que el tamaño de dichas estructuras permanece fijo. A su vez, también podría deberse a una relación de alome-

tría debido exclusivamente a la variación intrapoblacional en el tamaño de las espermatecas.

Dado que la morfología de las espermatecas es diferente entre ambos morfos surgen algunas dudas sobre aspectos reproductivos, por ejemplo, ¿qué consecuencia tiene la morfología de las espermatecas en el comportamiento reproductivo de estos organismos? ¿las cámaras del divertículo del morfo grande podrían funcionar para guardar el esperma de distintas cópulas? Quizás, en lugar del área del divertículo y del ámpula se pudo haber medido el volumen del esperma y del líquido prostático respectivamente, para obtener relaciones más claras con la producción de capullos.

Es inegable que aún se desconoce mucho sobre el comportamiento reproductivo de estos organismos y que sería interesante estudiarlo más profundamente en investigaciones futuras.

7.2. Género *Balanteodrilus*

7.2.1. Efecto de las diferencias morfológicas reproductivas

La separación morfológica del género *Balanteodrilus* está basada en el desplazamiento de los poros prostáticos, carácter presumiblemente neutro o no adaptativo. Las condiciones necesarias para el establecimiento de lombrices de tierra son en general ubicuas y disponibles siempre que existan plantas y suelo adecuado (Pickford 1938). El suelo, sin embargo, es un sistema que presenta discontinuidades o heterogeneidades importantes y, dado que son organismos de poca vagilidad, pueden tener la oportunidad de diversificarse alopatricamente en distancias pequeñas (King *et al* 2008). La reducida vagilidad puede promover la especiación permitiendo que las poblaciones locales se adapten a su ambiente particular pero también puede evitarla al reducir la tasa de colonización de las poblaciones (Coyne y Orr, 2004). Existen 3 especies aceptadas en el género *Balanteodrilus*. Este trabajo propone que lo

que se ha considerado como morfo chico de la especie *Balanteodrilus pearsei* sea la cuarta.

La barrera más obvia en la distribución de las especies válidas para el género *Balanteodrilus* es el Eje Neovolcanico Transversal, cuya formación data de 5 a 15 ma (Fragoso 1993). Las dos últimas especies descritas del género —*B. psammophilus* y *B. extremus*— se encuentran al norte o sobre dicha barrera y es probable que ésta haya generado la divergencia inicial del género por un proceso de aislamiento geográfico con la consecuente divergencia morfológica en la posición de los poros prostáticos. Se ha propuesto que la fragmentación del hábitat debido a los cambios climáticos en el Pleistoceno pudo haber generado la segunda separación entre estas dos especies (Fragoso 1993). La distribución actual de *B. pearsei* (morfo grande) rebasa los límites del eje como barrera natural, sin embargo, su presencia ahí puede estar relacionada con procesos de dispersión pasiva debido a las actividades primarias de la región (Fragoso 1993). Bouché (1983) calcula que la diversificación de las superfamilias de lombrices comenzó con la separación de Pangea del siguiente modo; Lumbricoidea en Laurasia y Megascolecoidea y Glossoscoidea en Gondwana hace aproximadamente 230 ma (Bird y Burke, 2006). Basado en la presencia de algunos géneros dentro de la familia Acanthodrilidae que comparten Sudamérica y Africa, Omodeo (2000) propone que esta familia estaba establecida hace aproximadamente 180ma. En un cálculo que realiza Bouché propone que los géneros de lombrices de Francia estaban establecidos a principios del Paleoceno hace aproximadamente 65 ma, por lo que *B. extremus* y *B. psammophilus* podrían ser especies relativamente recientes.

Lo anterior se puede apoyar debido al hecho de que en La Mancha se encontró un individuo de *B. psammophilus* con el desplazamiento de los poros prostáticos en el segmento 21 (en rigor, *B. extremus*, Fragoso y Rojas 2007), pero coexistiendo y formando parte de la población de *B. psammophilus* — en esta especie los poros se encuentran en el segmento 20— indicando que el

desplazamiento de los poros prostáticos podría no ser un carácter totalmente fijado en la evolución de estos linajes.

Cabe preguntarse cuál de las especies es la que dio origen a todas las demás. La amplia distribución de *B. pearsei* (morfo grande) aunada a que posee más morfotipos en los patrones de marcas genitales podrían representar evidencias de que es la más basal de las cuatro. Fragoso (1993) propone que el centro de origen de la especie es Chajul Chiapas porque ahí se encuentra la mayor diversidad de patrones en las marcas genitales. Si esto es cierto, existe una tendencia de diversificación hacia el norte del estado de Veracruz donde emperzaría en el centro con el morfo chico de *B. pearsei* y *B. psammophilus* y *B. extremus* como la más norteña. Lo que pudiera indicar que el morfo chico de *B. pearsei* sea más antigua que *B. psammophilus* y *B. extremus*. Incluso, el morfo chico pudiera ser más antigua que *B. pearsei* con base en que el arreglo del divertículo sin cámaras (unilocular) en sus espermatéas podría considerarse más basal y la divergencia del género pudo haber empezado en el centro del estado; la filogénia molecular del género (Casallas, en prep.) y estudios de reloj molecular sin duda brindarán información relevante para dilucidar esta pregunta.

En el presente estudio cualitativamente pudo observarse que tanto la reproducción como el crecimiento de *B. extremus* y *B. pearsei* fueron bastante similares. Entre las diferencias observadas a nivel biológico se encontró que en general, los individuos de *B. extremus* produjeron capullos más grandes y con una forma ligeramente distinta. A nivel morfológico, estos individuos carecieron de marcas genitales y tienen una ligera pigmentación anterodorsal. Las cruas interespecíficas realizadas entre ambas especies señalan que existe aislamiento precopulatorio parcial en el reconocimiento (de 4 parejas sólo una copuló), aunado a un aislamiento postcopulatorio precigótico—ya que hubo intercambio de esperma no recíproco y es probable que los capullos que se produjeron no estuvieran fertilizados aunque está no se evaluó—. Este

resultado apoya el modelo de especiación alopátrica, es decir, que la principal fuerza de divergencia entre estos dos taxones es simplemente el tiempo de separación geográfica en el que han acumulado cambios que se traducen en incompatibilidades reproductivas (Coyne y Orr, 2004).

Lamentablemente en el presente trabajo no fue posible encontrar ejemplares de la especie *B. psammophilus*. No obstante, tomando en cuenta que se encontró algo de reconocimiento sexual entre *B. pearsei* de Tamulté y *B. extremus* de Tampico alto, se puede esperar que entre *B. extremus* y *B. psammophilus* y *B. psammophilus* y *B. pearsei*, debería existir también reconocimiento. Dado que en el primer caso, el carácter de los poros puede no estar fijo (Fragoso y Rojas 2007, encontraron en la población de *B. psammophilus* de la Mancha un individuo con los poros prostáticos en 21, que es lo que define a *B. extremus*), tal vez podrían reproducirse o ser incluso subespecies de la misma especie biológica en proceso de aislamiento. Esta afirmación se basa en que la divergencia entre estas dos especies puede ser relativamente reciente y teniendo en cuenta que los procesos de especiación alopátrica pueden ser lentos en poblaciones que están aisladas geográficamente en ambientes similares —ya que no existen fuerzas evolutivas que promuevan la divergencia de los linajes— se espera que la aparición de barreras postcigóticas no estén completas para ambos linajes. Dicha hipótesis podría probarse mediante cruces interespecíficas en el futuro y estudios de genética de poblaciones. Un experimento pendiente es tratar de reproducir a *B. psammophilus* con *B. pearsei*. Por los resultados obtenidos, sin embargo, se puede predecir que habrá cópula entre ambas especies, aunque probablemente exista ya un aislamiento postcopulatorio precigótico.

El género *Balanteodrilus* es poco diverso comparado con otros géneros de lombrices nativas tropicales en México. Los procesos de divergencia entre las poblaciones indican que el modelo de especiación que más se ajusta al sistema de estudio es el alópatrico y posiblemente sea predominantemente lento

con poca evolución morfológica y periodos largos sin diversificación entre los linajes; no obstante, basado en lo encontrado en estudios moleculares con otras especies (King *et al* 2008) y en lo que se encontró en los experimentos del efecto de la distancia geográfica en la reproducción, este trabajo no descarta la posibilidad de que futuros estudios de genética de poblaciones puedan encontrar una amplia diversidad críptica dentro del género.

8. CONCLUSIONES

La estructura de las poblacionales y la biología de los oligoquetos terrestres pueden constituir un modelo atractivo para el estudio de la especiación en un ambiente tan complejo como es el suelo. No cabe duda que para que esto se realice todavía falta estudiar a profundidad aspectos básicos sobre el comportamiento reproductivo. En este sentido este trabajo aporta información para facilitar su cultivo en ambientes controlados (Anexo 1). A su vez, aporta datos interesantes sobre los mecanismos de aislamiento que han promovido —o están haciéndolo— la divergencia del género *Balanteodrilus*. Es evidente que el modelo de especiación más relevante para el sistema estudiado es el alopátrico, y por ende las barreras post copulatorias pueden estar jugando un papel predominante en este sistema por la acumulación de diferencias neutras que con el tiempo se traducen en mecanismos de incompatibilidad reproductiva entre poblaciones. No obstante, la existencia de diferencias en el tamaño o la pigmentación deben de reconocerse como caracteres que pueden tener una importancia biológica a nivel evolutivo y en los procesos de formación de especies en este grupo.

La influencia de las actividades humanas puede incidir en el destino evolutivo de los linajes estudiados. La mayoría de las especies nativas de lombrices de tierra en nuestro país poseen una distribución muy restringida y constantemente se ven amenazadas por el cambio en el uso del suelo y la posible competencia por la invasión de especies exóticas invasoras mejor adaptadas a este tipo de ambientes. Contrastantemente, dentro de las nativas, *Balanteodrilus pearsei* posee la distribución más amplia en nuestro país (Fragoso y Rojas, 2010) y es prácticamente ubicua en el sureste del mismo. Su abundancia en ambientes perturbados puede entenderse como resultado de la plasticidad de la especie y a que posee caracteres de historia de vida que han sido benéficos para enfrentar la interacción con especies competitivas y/o el cambio en

condiciones microambientales generadas por las actividades humanas. Estas características han promovido que la especie rebase su distribución natural y que potencialmente pueda estar interactuando con especies congénicas y otras especies nativas. Por lo tanto es relevante conocer qué tipo de cambios podría generar dicha interacción en los procesos evolutivos de cada linaje.

En la actualidad, la taxonomía del grupo de los oligoquetos está siendo revisada a la luz de datos moleculares. Las evidencias encontradas señalan porcentajes importantes de divergencia entre organismos que pertenecen a la misma especie tipológica tanto dentro como entre distintas poblaciones. Esto tiene relevancia en la concepción misma de la diversidad del grupo así como en los diversos estudios ecológicos que se realizan sin el conocimiento de dicha diversidad. Una de las perspectivas más interesantes del trabajo es la de estudiar la naturaleza de esta divergencia a nivel genético.

9. Anexo 1

El cultivo de lombrices de tierra de las especies utilizadas puede ser un tanto complicado si no se toman en consideración algunos aspectos que se enlistan a continuación:

Sustrato:

El suelo utilizado debe tamizarse con una maya de 2 mm de apertura para facilitar la búsqueda de capullos. Para el crecimiento individual, en recipientes pequeños de 200ml de capacidad, es suficiente con colocar 90 g de sustrato y cambiarlo semanalmente o en un periodo no mayor de 15 días. Para el suelo de La Mancha —que es rico en arenas— el porcentaje de humedad ideal es de 33 a 35 %. Es recomendable utilizar agua potable o destilada. No es deseable someter el sustrato a ningún tratamiento de esterilización debido a que las lombrices forman asociaciones simbióticas con bacterias y microflora del suelo en su sistema digestivo; cuando el suelo se utiliza un poco húmedo es común que organismos como hongos o nemátodos interfieran con el crecimiento de los sujetos experimentales. En el desarrollo de este trabajo se encontró que en especial los nemátodos que proliferan en el cultivo pueden representar serios problemas para el mismo, no sólo porque parasitan capullos sino porque también llegan a tener una interacción depredadora de lombrices enfermas cuando los hay en grandes cantidades. Este problema puede solucionarse dejando el suelo experimental secando al sol por varios días antes de usarlo. Así mismo, se encontró una interacción con algún tipo de patógeno que eliminó a todos los individuos de las poblaciones que eran ajenas a La Mancha; para aminorar la posibilidad de contagio de algún patógeno presente en organismos provenientes directamente del campo, es recomendable cambiar el agua que se utiliza para lavar las lombrices antes de pesarlas cada que se evalúan organismos de diferentes poblaciones.

Alimento:

El alimento debe de estar molido e incorporado en el suelo. Se habló en la metodología que la especie *M. pruriens* var. *utilis* resulta un alimento óptimo para el cultivo de estos organismos al 2% del suelo utilizado. Sin embargo, durante el desarrollo de este trabajo, por la falta de dicho alimento, se evaluó el desempeño de la alfalfa (*Medicago sativa*) debido a que algunos experimentos de laboratorio reportan un efecto positivo sobre el crecimiento de lombrices de otras especies con el uso de esta planta (Shipitalo, *et al.* 1988; Tiang *et al.* 1997). La alfalfa posee una cantidad de nitrógeno parecida a *M. pruriens* (Capo-chichi *et al.* 2002), sin embargo, casi todos los organismos experimentales murieron probablemente debido a sustancias contaminantes o tóxicas que se encuentran en la alfalfa de uso comercial. Posteriormente se realizó un pequeño experimento con ajillo (*Petiveria alliacea*) que es una planta herbácea que crece en el manchón de selva mediana donde se encuentra la población del morfo chico de la Macha, Ver. En este caso el resultado tampoco fue favorable, ya que los organismos sometidos a este alimento perdieron peso de manera rápida. Por lo que este trabajo recomienda el uso de mucuna aunque no descarta que se pueda encontrar otro alimento que sea favorable para estos organismos (muchos experimentos con lombrices endogeas utilizan abono incorporado en el sustrato como alimento experimental).

El monitoreo de los organismos puede describirse de acuerdo a la categoría de edad a la que pertenecen:

Capullos: Su encubación se facilita en en cajas petri con papel absorbente o filtro humedecido (con agua destilada o purificada) sobre el cual se colocan los capullos, se puede colocar una capa de papel absorbente humedecido adicional sobre los mismos. La humedad excesiva provoca que los capullos se hinchen y rompan; la falta de humedad provoca que éstos se deshidraten y pierdan turgencia (si la pérdida de agua no

es excesiva generalmente los capullos pueden continuar su desarrollo normal al adicionar agua). Es especialmente importante monitorear las cajas de petri diariamente no sólo para asegurarse de que posean una humedad adecuada sino también para verificar si existen capullos que empiezan a descomponerse o que están parasitados por nematodos; el papel puede cambiarse cada semana. Cuando un capullo es viable se observa un cambio de coloración conforme pasa el tiempo: son hialinos en la recolección, y conforme avanza la recolección, se vuelven amarillos, naranjas y rojos hasta la eclosión (Figura 21c).

Lombrices recién eclosionadas, juveniles y adultos no clitelados Es la etapa de crecimiento más activa por lo que si se quiere promover, el sustrato tiene que cambiarse idealmente cada semana; aunque se puede extender el periodo hasta 10 días. Si el sustrato no se cambia los organismos comienzan a perder peso y —en casos extremos— entrar en etapas de latencia. Existen algunos indicios en los que nos podemos basar para saber que una lombriz está sana, uno de ellos puede verificarse tan sólo observando los turrículos superficiales que produce el organismo, los cuales crecen en proporción al tamaño del individuo —los turrículos propucidos por *B. pearsei* grande y *B. extremus* son en mayor cantidad y menos compactos que los producidos por *B. pearsei* del morfo chico (Figura 21 f y g)—. Otros indicios son cuando esta observando al organismo; si éste reacciona a la manipulación, si nada una vez colocado en agua y rehuye a la luz, se puede pensar que está en óptimas condiciones. Si por el contrario, la lombriz, sale a la superficie y no presenta movimiento al manipularlo puede que sea un organismo enfermo. Es importante señalar que si los contenedores poseen más de un organismo y alguno de estos muere, puede generar la mortalidad o baja de peso en los demás.

Adulto Una lombriz se considera adulta una vez que ha desarrollado el clitelo; al principio esta estructura se distingue como un ligero cambio en la coloración de los individuos, en esta etapa las lombrices pueden copular y una vez que comienzan a colocar capullos la estructura se hincha. Esta etapa es un tanto delicada ya que la falta de alimento, humedad o cambios en la temperatura pueden generar que el organismo retraiga dicha estructura y se interrumpa su etapa reproductiva. Los cuidados que necesitan estos organismos son prácticamente los mismos que en la descripción anterior, aunque es relevante decir que la producción de turrículos superficiales disminuye en las etapas reproductivas. Cuando los organismos se vuelven seniles presentan una pérdida de peso con una eventual pérdida del clitelo. Cuando en un recipiente hace falta alguna lombriz no es fácil determinar si ésta murió o se escapó ya que si la revisión tarda, puede no encontrarse un cadáver correspondiente, pues la descomposición es muy rápida. La presencia de hongos nos podría indicar que la lombriz murió, ya que en general las endogeas no se caracterizan por ser lo suficientemente activas como para que se escapen con frecuencia.

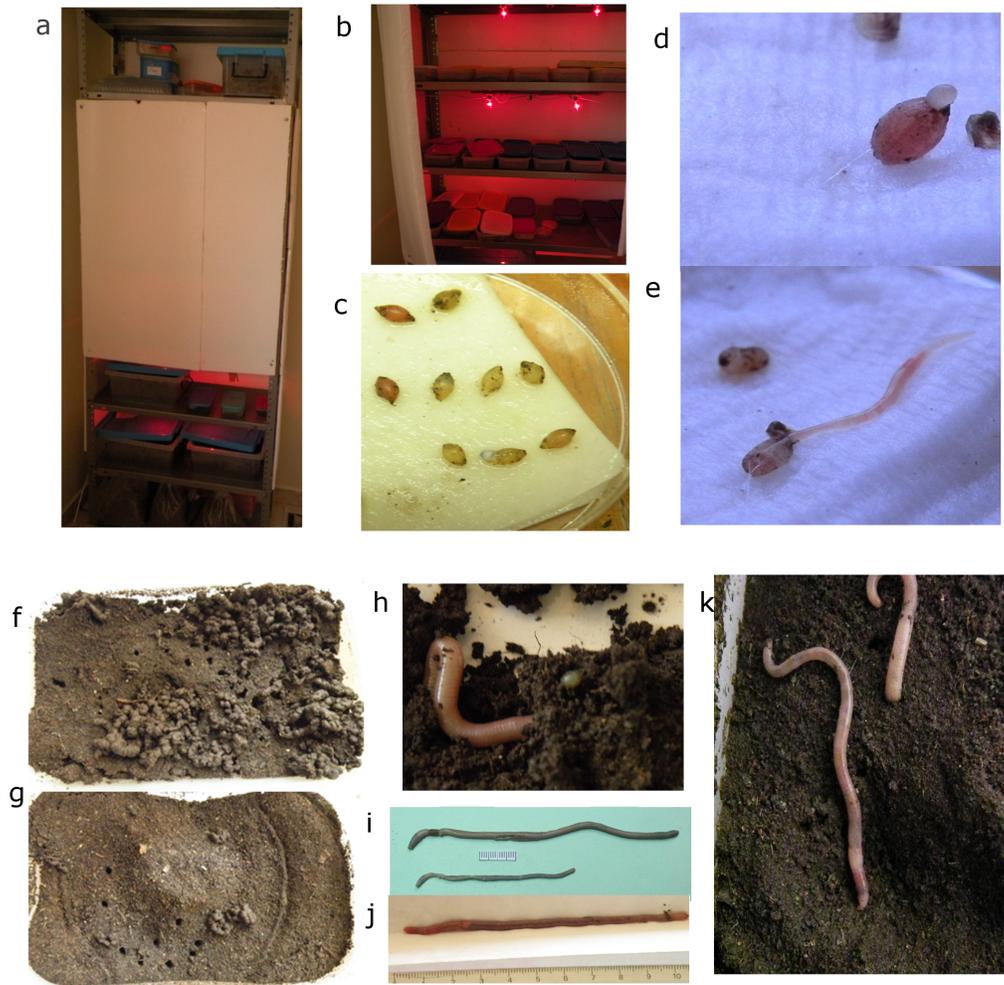


Figura 21. Imágenes del cultivo. a) y b) Dispositivo experimental. c) Aspecto de capullos de *B. pearsei* morfo grande. d) y e) eclosión de un individuo de *B. pearsei* morfo chico. Turrículos del f) morfo grande y g) morfo chico de *B. pearsei*. h) Capullo en el sustrato. i) Comparación de individuos fijados del morfo chico y morfo grande de *B. pearsei*. j) *B. extremus*. k) Individuos de *B. pearsei* morfo chico.

10. REFERENCIAS

- Abbott R., M. Ritchie y P. Hollingsworth. 2008. Introduction. Speciation in plants and animals: pattern and process, *Phil. Trans. R. Soc.* 363: 2965-2969
- Albert, A. y D. Schluter. 2005. Primer: Selection and the origin of species. *Current Biology* 15: 283–288.
- Angeles, A. 1996. *Aspectos demográficos e interacciones de dos especies simpátricas de Balanteodrilus (Oligochaeta:Annelida), en una selva costera del estado de Veracruz*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. Universidad Veracruzana. Córdoba, Veracruz, 76 p.
- Baurd B., B. Schmid, J. Gaston. 1996. Spacial and temporal patterns of genetic diversity within species, en: Gaston KJ, ed. Biodiversity— a biology of numbers and differences. Blackwell Science. Cambridge, UK: pp. 13-47
- Bird D. y K. Birke. 2006. Pangea breakup: Mexico, Gulf of Mexico, and Central Atlantic Ocean. En, *Expanded Abstracts of the Technical Program: Society of Exploration*, pp. 1013-1016.
- Bouché M. 1983. The establishment of earthworms communities. En Satchell (ed) *Earthworm Ecology*. Chapman and Hall. USA. pp 431-448
- Briones M, P. Morán y D. Posada. 2009. Are the sexual, somatic and genetic characters enough to solve nomenclatural problems in lumbricid taxonomy? *Soil Biology & Biochemistry* 41(11): 2257–2271.
- Brown G., A. Moreno, I. Barois , C. Fragoso, P. Rojas, B. Hernández. y J. Patrón. 2004. Soil macrofauna in SE Mexican pastures and the effect of

- conversion from native to introduced pastures, *Agriculture. Ecosystem & Environment*. 103: 313-327
- Butlin R., J.Galindo y J. Grahame. 2008. Sympatric, parapatric or allopatric: the most important way to classify speciation? *Phil. Trans. R. Soc.* 363, 2997-3007
- Capo-chichi L., Weaver D. y Morton C. 2002, Agronomic and genetic attributes of velvetbean (*Mucuna sp.*): an excellent legume cover crop For use in sustainable agriculture, *Proc. 25th Southern Conservation Tillage Conference*, 34 p.
- Coyne J. y A. Orr.1998. The Evolutionary Genetics of Speciation. *Phil. Trans.: Biological Sciences*, 353 (1366): 287- 305
- Coyne J. y A. Orr. 2004. *Speciation*. Sinauer Associates. Sunderland, MA. 544 p.
- Chang C. , Y. Lin, I. Chen, S. Chuang, J. Chen. 2007. Taxonomic re-evaluation of the Taiwanese montane earthworm *Amyntas wulinensis* Tsai, Shen & Tsai, 2001 (Oligochaeta: Megascolecidae): Polytypic species or species complex?. *Organisms, Diversity & Evolution*. 7:231–24
- Darwin C., 1859, *El origen de las especies*. Zulueta, A. (trad.) (1ª ed. 2ª reimp. edición). Alianza Editorial, S.A. Madrid, España, 672 p.
- De la Cruz Y. 2005. *Influencia de la textura y la materia orgánica del suelo sobre algunos rasgos de historia de vida de dos poblaciones de Balantodrilus pearsei Pickford 1938 (Oligochaeta: Annelida)*. Tesis de Maestría. Posgrado en Ecología y Manejo de Recursos. Instituto de Ecología A. C. Xalapa, Veracruz. 88 p.
- Dobzhansky T. 1940. Speciation as a Stage in Evolutionary Divergence. *The American Naturalist*. 74 (753): 312-321

- Domínguez, J. A. Veland y A. Ferreiro. 2005. Are *Eisenia fetida* and *E. andrei* separate biological species? *Pedobiologia* 49: 81-87
- Edwards C., P. Bohlen 1996. *Biology and Ecology of Earthworms*, 3era edición, Chapman and Hall, London, UK, 425p.
- Fernández-Álamo M. 2007. Phylum Annelida en Fernández-Álamo M. y G. Rivas. *Niveles de Organización en animales*. Prensa Ciencias, México, pp 194-197
- Fragoso C. 1993. Les peuplements des vers de terre dans Test et sudést du Mexique. Thèse de doctorat. Université Paris 6. Paris, France, 225p
- Fragoso C. 2001. Las lombrices de tierra de México (Annelida, Oligochaeta): Diversidad, ecología y manejo, *Acta zoológica Mexicana* 1: 131-171
- Fragoso C. 1999. Informe final: Importancia de las lombrices de tierra (Oligochaeta) en el monitoreo de áreas prioritarias de conservación del centro, este y sureste de México. Instituto de Ecología A.C. Bases de datos SNIB2010-CONABIO proyecto No. L301. México, D.F
- Fragoso C. 2003. Las comunidades de lombrices de tierra en selvas tropicales y su papel en la descomposición. En Alvarez-Sánchez J. y E. Naranjo-García (ed). *Ecología del suelo en la selva tropical húmeda de México*. UNAM-INECOL. pp 186-196
- Fragoso C., and Lavelle, P. 1992. Earthworm communities of tropical rain forests. *Soil Biol. Biochem.*, 24(12), 1397-140
- Fragoso C. y P. Lavelle. 1995. Are Earthworms Important in the Decomposition of Tropical Litter? en Reddy M.V. (ed). *Soil organisms and litter decomposition in the tropics*. Oxford and IBH Publishing, New Delhi, 247p

- Fragoso, C. y P. Rojas. 1997. Size shift in the Mexican earthworm species *Balanteodrilus pearsei* (Megascolecidae, Acanthodrilini): a possible case of character displacement. *Soil Biology and Biochemistry*, 29 (3/4): 237-240.
- Fragoso C. y P. Rojas. 2007. Two new species of the earthworm genus *Balanteodrilus* (Oligochaeta: Annelidae) from eastern México. *Megadrilogica*. 11(10):107-114
- Fragoso C. y P. Rojas. 2010. La biodiversidad escondida: la vida microcosmica en el suelo en: Toledo V. (comp). *La biodiversidad de México*. Fondo de cultura económica. México. pp 90-135
- Fragoso, C. J. Kanyonyo, A. Moreno, B. Senapati, E. Blanchart y C. Rodríguez. 1999. A Survey of Tropical Earthworms: Taxonomy, Biogeography and Environmental Plasticity. En: Lavelle, P., Brussaard, L. and Hendrix, P. (Eds.): *Earthworm Management in Tropical Agroecosystems*. CAP. 1. CAB International. London, UK, pp.1-26.
- Fragoso C., Brown G. y A. Feijoo. 2003. The influence of Gilberto Righi on tropical earthworm taxonomy: the value of a full-time taxonomist. *Pedobiologia*. 47(5/6): 400-404
- Futuyma D. 2005. *Evolution*, Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, EUA, pp. 447-479
- García, E. - CONABIO, (1998a). "Isotermas Medias Anuales". Escala 1:1000000, México.
- García, E. - Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), (1998b). "Climas" (clasificación de Köppen, modificado por García). Escala 1:1000000. México

- Gates, G. E. 1971. On some earthworms from Mexican caves. *Asoc. Mex. Cave Stud. Bull.* 4:4-8
- Gotelli N. y A. Ellison. 2004. *A primer of ecological statistics*. Sinauer Associates, USA, p. 193
- Hammond 1981. Speciation in the face of gene flow- sympatric-parapatric speciation en Greenwood P. y Forey P. *The evolving biosphere. Chance, Change & Challenge*, Cambridge University Press. London, UK. pp 37-48
- Jamieson B., S. Tillier, A. Tillier, J Justine, L. Ling E., S. James, K. McDonald y A. Hugall A. 2002. Phylogeny of the Megascolecidae and Crassitellata (Annelida, Oligochaeta): combined versus partitioned analysis using nuclear (28S) and mitochondrial (12S, 16S) rDNA. *Zoosystema* 24 (4), 707-734.
- King R., A. Tibble, y W. Symondson. 2008. Opening a can of worms: unprecedented sympatric cryptic diversity within British lumbricid earthworms. *Molecular Ecology*. 17:4684-4698.
- Lavelle P. 1996. Diversity of Soil Fauna and Ecosystem Function. *Biology International* 33:3-14
- Lee K., 1959. The earthworm fauna of New Zeland. : Wellington, New Zealand. Dept Sci & Indust Research Bull, 130: 48-56
- Lee K. 1985. *Earthworms: their ecology and relationships with soils and land use*. Academic Press. Australia pp 67-89
- Lowe C. y K. Butt. 2007. Life cycle traits of the dimorphic earthworm species *Allolobophora chlorotica* (Savigny, 1826) under controlled laboratory conditions. *Biol. Fertil. Soils* 43: 495-499.

- Lowe, C. y K. Butt. 2008. *Allolobophora chlorotica* (Savigny, 1826): Evidence for classificaton as two separate species. *Pedobiologia* 52: 81-84
- Mathieu J., S. Barot, M. Blouin, G. Caro, T. Decaçens, F. Dubs, L. Dupont, P. Jouquet y P. Nai. 2010. Habitat quality, conspecific density, and habitat pre-use affect the dispersalbehaviour of two earthworm species, *Aporrectodea icterica* and *Dendrobaena veneta*, in a mesocosm experiment, *Soil Biology & Biochemistry* 42:203-209
- Mayr E. 1996. What Is a Species, and What Is Not? *Philosophy of Science*. 63(2):262-277.
- Mayden R. 1999. Consilience and a Hierarchy of Species Concepts: Advances Toward Closure on the Species Puzzle. *Journal of Nematology* 31(2):95–116.
- Omodeo P. 2000. Evolution and biogeography of megadriles (Annelida, Clitellata). *Italian Journal of Zoology*. 67: 179-201.
- Ortiz-Ceballos A., C. Fragoso y G. Brown. 2007. Synergistic effect of a tropical earthworm *Balanteodrilus pearsei* and velvetbean *Mucuna pruriens* var. *utilis* on maize growth and crop production. *Applied Soil Ecology*. 35: 356–362
- Ortiz-Ceballos A., C. Fragoso, M. Equihua y G. Brown. 2005. Influence of food quality, soil moisture and the earthworm *Pontoscolex corethrurus* on growth and reproduction of the tropical earthworm *Balanteodrilus pearsei*. *Pedobiologia*; 49(1): 89-98
- Pickford E. 1937. *A Monograph of the Acanthodriline earthworms of South Africa*. Heffer& Sons Cambridge. 612 p
- Pickford, E. 1938. Earthworms in Yucatán caves. *Publ. Carnegie Inst. Wash.* 491:71-100

- Reynolds, J. W. 1994. Earthworms of the Word. *Global Biodiversity* 4(1): 11-16
- Ruiz R., 1999, Especiación: teorías modelos y polémicas, en: Núñez-Farfán J. y Eguiarte L. *La Evolución Biológica*. CONABIO-UNAM. México, D.F., 457 p
- Shipitalo, M.J., R. Protz, and A.D. Tomlin. 1988. Effect of diet on the feeding and casting activity of *Lumbricus terrestris* and *L. rubellus* in laboratory culture, *Soil Biol. Biochem.*, 20:233–237.
- Sobel, J., G. Chen, L. Watt y D. Schemske. 2010. The biology of speciation. *Evolution*. 64: 295–315.
- Stephenson J. 1930. The oligochaeta. en Cramer J. y H. Swann. *Historiae naturalis classica*, tomus xcii, reprint 1972, Oxford Press, UK, 978 p.
- Stürzenbaum S., J. Andre, P. Kille y J. Morgan. 2009. Earthworm genomes, genes and proteins: the (re)discovery of Darwin's worms, *Proc. R. Soc. B*. 276:789-797
- Templeton A, 1989. The meaning of species and speciation: a genetic perspective. en Daniel Otte D. y Endler J., *Speciation and its consequences*, Sinauer Associates, pp 3-27
- Tian G, Kang BT, Brussaard L, 1997. Effect of mulch quality on earthworm activity and nutrient supply in the humid tropics. *Soil Biol Biochem* 29:369–373
- Turelli M., N. Barton, y J. Coyne. 2001. Theory and speciation. *Trends in Ecology & Evolution*. 16 (7):330-343

Vidal-Zepeda, R. 1990. Precipitación media anual en Precipitación. IV.4.6.
Atlas Nacional de México. Vol II. Escala 1 :400000. Instituto de Geo-
grafía, UNAM. México