

## **EVOLUCIÓN MOLECULAR: NEUTRALISMO Y SELECCIONISMO**

Fernando Álvarez-Valín<sup>1</sup>

LOS FACTORES QUE GOBIERNAN EL CAMBIO A NIVEL MOLECULAR, ASÍ COMO la variabilidad genética intra-específica, han sido tema de debate intenso desde finales de la década de 1960. Al menos dos visiones alternativas han surgido en relación al problema. Por un lado, lo que conocemos como Teoría Neutralista de la Evolución Molecular y por otro lado lo que llamaremos visiones Seleccionistas, las cuales engloban una amplia gama de posibilidades. En este capítulo discutiremos los tópicos más sobresalientes de esta controversia.

### **Teoría Neutralista de la Evolución Molecular**

Esta teoría sostiene que la inmensa mayoría del cambio a nivel molecular es adaptativamente neutro, es decir, que las nuevas variantes no son ni más ni menos adaptadas que las variantes preexistentes; por tanto son selectivamente neutras.<sup>2</sup> Como desde el punto de vista funcional las variantes son equivalentes, la selección natural no podría actuar favoreciendo unas en relación a otras; en consecuencia, otra fuerza distinta a ella debería ser la que gobierna el cambio. En concreto, el neutralismo propone que la mutación genética y la deriva genética al azar, son las fuerzas fundamentales en el proceso de cambio a nivel molecular. De acuerdo a esta visión la selección jugaría un papel muy importante eliminando las variantes deletéreas (selección negativa), pero la fijación de variantes beneficiosas mediante selección natural sería un evento muy poco frecuente. Para poder entender esta teoría resulta necesario repasar los conceptos de: mutación, sustitución genética y deriva genética.

#### *Mutaciones y sustituciones*

- 
1. Sección Biomatemática, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias. Iguá 4225. Montevideo 11400. Uruguay. E-mail: falvarez@fcien.edu.uy.
  2. Esta teoría fue propuesta independientemente por Motoo Kimura (1968): *Evolutionary rate at the molecular level*, Nature 217: 624-626; y por King JL & Jukes TH (1969): *Non-Darwinian evolution*, Science 164: 788-798.

Una mutación es cualquier cambio en el material genético que surge en un gameto. Estos cambios pueden ser de distinto tipo, como mutaciones puntuales (cambio de una base nitrogenada por otra), delección o inserción de un segmento de ADN o inversiones. En general, las mutaciones puntuales son el tipo de cambio más común. Es importante destacar que cuando una mutación surge, la misma está presente en un solo individuo en la población (aquél que se originó del gameto mutante). Además, para el gen mutante, el individuo es heterocigoto, pues es altamente improbable que el gameto que recibió del otro parental también haya mutado en exactamente el mismo sitio. Por tanto podemos decir que la frecuencia original de cada mutación es  $\frac{1}{2} N$ , siendo  $N$  el tamaño de la población. Es muy importante resaltar este hecho de que en general cada mutación puede ser considerada como un evento único. Esto se basa en el siguiente razonamiento simple: para un gen codificante de una proteína de 300 aminoácidos de largo y que por tanto consiste en 900 nucleótidos, existen  $4^{900}$  ( $\sim 10^{541}$ ) formas alternativas de ese gen. Este es un número realmente grande, incluso si se lo compara con, por ejemplo, el número de átomos que hay en el Universo que es alrededor de  $10^{81}$ . Por otra parte, dado un alelo particular del gen en cuestión, éste puede transformarse mediante una mutación que afecte a una sola base en  $3 \times 900$  ( $=2700$ ) alelos distintos. Sobre la base de este razonamiento, Crow & Kimura propusieron lo que se conoce como sistema de alelos infinitos, que básicamente sostiene que la mutación no es un evento recurrente, y en consecuencia por mutación ningún alelo puede alcanzar una frecuencia superior a  $\frac{1}{2}N$ .<sup>3</sup>

¿Cuál es el destino de una mutación que surge en la población? En buena medida depende de si la mutación es deletérea (desventajosa), favorable o funcionalmente equivalente en relación al alelo "salvaje". Si la mutación es desfavorable, el individuo que porte la mutación seguramente tenga menor chance de sobrevivir o posea menor fertilidad. En dicho caso el destino más probable de la mutación es que desaparezca rápidamente de la población. Esto es lo que llamamos selección natural negativa. Si la mutación es ventajosa, el individuo que porta la mutación tendrá mayor chance o de sobrevivir o de dejar mayor descendencia. El destino más probable de esta mutación (si el coeficiente de selección es suficientemente alto) es que se impondrá en la población, o lo que es equivalente alcanzará una frecuencia igual a 1 (todos los individuos de la población poseerán la nueva variante). El proceso mediante el cual una mutación se establece en la población es lo que llamamos fijación, y la mutación que se ha fijado se le llama *sustitución*. En otras palabras la *fijación* es el proceso mediante el cual una mutación se fija en una especie o en una población. La última posibilidad es que la mutación sea neutra, es decir funcionalmente equivalente en relación con el alelo "salvaje". El destino para este tipo de mutaciones depende exclusivamente del azar. Es probable que dicha mutación desaparezca en la siguiente generación, por ejemplo si el individuo que porta la mutación no tiene descendencia, o si transfiere en su gameto el alelo no mutante. Sin embargo es posible que la mutación "tenga suerte", y que sea transmitida a la descendencia y que

---

3. Kimura M & Crow JF (1964): *The number of alleles that can be maintained in a finite population.* Genetics 49: 725-738.

su frecuencia se vea incrementada en las siguientes generaciones y eventualmente llegue a fijarse transformándose en una sustitución. El fenómeno que lleva la mutación neutra (o casi neutra) a incrementar su frecuencia y eventualmente fijarse, se conoce como deriva genética al azar.

*Deriva genética*

La deriva genética se refiere al muestreo al azar de los gametos debido al tamaño finito de las poblaciones naturales. Podemos considerar que una población produce un número infinito de gametos (el número no es realmente infinito pero para los efectos prácticos puede considerarse como tal). De este *pool* de gametos tomamos una muestra cuyo tamaño es igual a  $2N$  (puesto que se van a formar  $N$  individuos y se requiere 2 gametos para cada uno). Siempre que se toman muestras de una población, éstas presentan desviaciones en relación a las proporciones que presenta la población. La magnitud de dichas desviaciones es inversamente proporcional al tamaño de la muestra. Para explicar el punto supongamos que una población presenta dos alelos para un gen dado,  $A$  y  $a$ , siendo las frecuencias de estos alelos  $p$  y  $q$  ( $q=1-p$ ) respectivamente. La desviación que presenta una muestra de gametos, está dada por la varianza binomial

$$\text{Var}(p) = p(1-p)/2N.$$

Esto quiere decir que  $p'$ , es decir la frecuencia de  $A$  en la siguiente generación, estará dada por:

$$p' = p \pm 1.96 \sqrt{\text{Var}(p)}, \text{ con 95\% de probabilidad.}$$

Como resultado del muestreo al azar de los gametos en una población de tamaño finito, la frecuencia de los alelos fluctúa de una generación a la siguiente. No es posible predecir la dirección del cambio, la frecuencia del alelo puede aumentar o disminuir. Sólo es posible predecir la distribución de estas frecuencias. El proceso de deriva genética se estabiliza sólo cuando uno de los alelos llega a una frecuencia del 100%, es decir a la fijación de uno de ellos y consecuentemente a la desaparición de los restantes.

Podemos hacernos la siguiente pregunta: ¿cuál es la probabilidad de fijación?

Para contestar, imaginemos una población peculiar: supongamos que está compuesta exclusivamente por individuos heterocigotos, de forma tal que ningún alelo presenta una frecuencia superior a  $1/2N$ . Nuestra población ideal tendría entonces  $2N$  alelos distintos  $A_1, A_2, A_3, A_4, \dots, A_{2N}$ , por lo que los individuos de esta población serían de la siguiente forma:

$$A_1A_2 \quad A_3A_4 \quad A_5A_6 \quad A_7A_8 \dots \dots \dots A_{2N-1}A_{2N}$$

Sabemos con certeza (es decir con probabilidad=1) que debido al proceso de deriva genética, uno de estos alelos llegará a una frecuencia de 1 (es decir a fijarse) mientras que los restantes se perderán. Esto puede

expresarse en los siguientes términos:

A tiempo infinito:  $P(fA_1) + P(fA_2) + P(fA_3) + P(fA_4) + \dots + P(fA_{2N-1}) + P(fA_{2N}) = 1$

donde  $P(fA_i)$  es la probabilidad de fijación del alelo  $A_i$ .

Dado que  $P(fA_1) = P(fA_2) = P(fA_3) = \dots = P(fA_{2N-1}) = P(fA_{2N})$ ,  
tenemos que  $P(fA_i) = \frac{1}{2N}$ .

Si queremos calcular la probabilidad de que se fije  $A_1$  o  $A_2$  o  $A_3$ , esto va a estar dado por la suma de las probabilidades de cada uno por separado, puesto que son eventos excluyentes. Es decir:  $P(fA_1 | fA_2 | fA_3) = P(fA_1) + P(fA_2) + P(fA_3)$ .

Ahora supongamos que consideramos a  $A_1$ ,  $A_2$  y  $A_3$  como una misma cosa, llamémosle  $A_{123}$ ; tenemos pues que la frecuencia de  $A_{123}$  será igual a la frecuencia de  $A_1$  más la frecuencia  $A_2$  más la frecuencia de  $A_3$ , lo que es lo mismo que  $\frac{3}{2}N$ ; la probabilidad de fijación de  $A_{123}$  será  $P(fA_1) + P(fA_2) + P(fA_3) = \frac{3}{2}N$ . Vemos entonces que la probabilidad de fijación de un alelo en condiciones de deriva genética es igual a la frecuencia de ese alelo en la población. Cabe destacar que para el caso particular de una mutación recién aparecida en la población, cuya frecuencia es  $\frac{1}{2}N$ , también tiene una probabilidad de fijación de  $\frac{1}{2}N$ .

### **El Reloj Molecular**

Uno de los descubrimientos más importantes en lo que concierne a la evolución de las moléculas es el que realizaron Emile Zuckerkandl y Linus Pauling<sup>4</sup> en 1964 analizaron el grado de divergencia aminoacídica en relación al tiempo de divergencia.<sup>5</sup> Como se muestra en la Fig. 1, el grado de divergencia aminoacídica incrementa en forma lineal con el tiempo de divergencia entre las especies que se comparan. El tiempo de divergencia a su vez fue estimado basándose en el registro fósil. Distintas proteínas divergen a diferente velocidad, pero la tasa de divergencia es constante a lo largo del tiempo para cada una de ellas. Es interesante por ejemplo que el grado de divergencia entre el hombre y la carpa se produzca a la misma velocidad que entre hombre y ratón. Si consideramos que la carpa se ha mantenido prácticamente incambiada desde el punto de vista morfológico

---

4. Emile Zuckerkandl (n.1922), evolucionista austríaco, luego estadounidense y francés, se doctoró en bioquímica en la Sorbonne en 1959, y desde ese año fue colaborador del químico estadounidense Linus Pauling. Tuvo un rol fundamental en el desarrollo de las ideas sobre la evolución molecular; en particular fue pionero en la del "reloj molecular", según la cual cada gen o región génica evoluciona a una tasa estadísticamente constante. En 1971 fue nombrado editor jefe del *Journal of Molecular Evolution*. Pauling (1901-1994) abordó los problemas de la química atómica sobre la base de la mecánica cuántica, y precisó la naturaleza de las ligaduras químicas y la estructura de las moléculas. También colaboró en el descubrimiento de una "enfermedad molecular" de la hemoglobina. Ganó su Premio Nobel en 1954. Sus campañas por el control de armas nucleares y contra las pruebas nucleares lo enemistaron con varios colegas, pero le merecieron también el Premio Nobel de la Paz en 1962. (N. de E.)

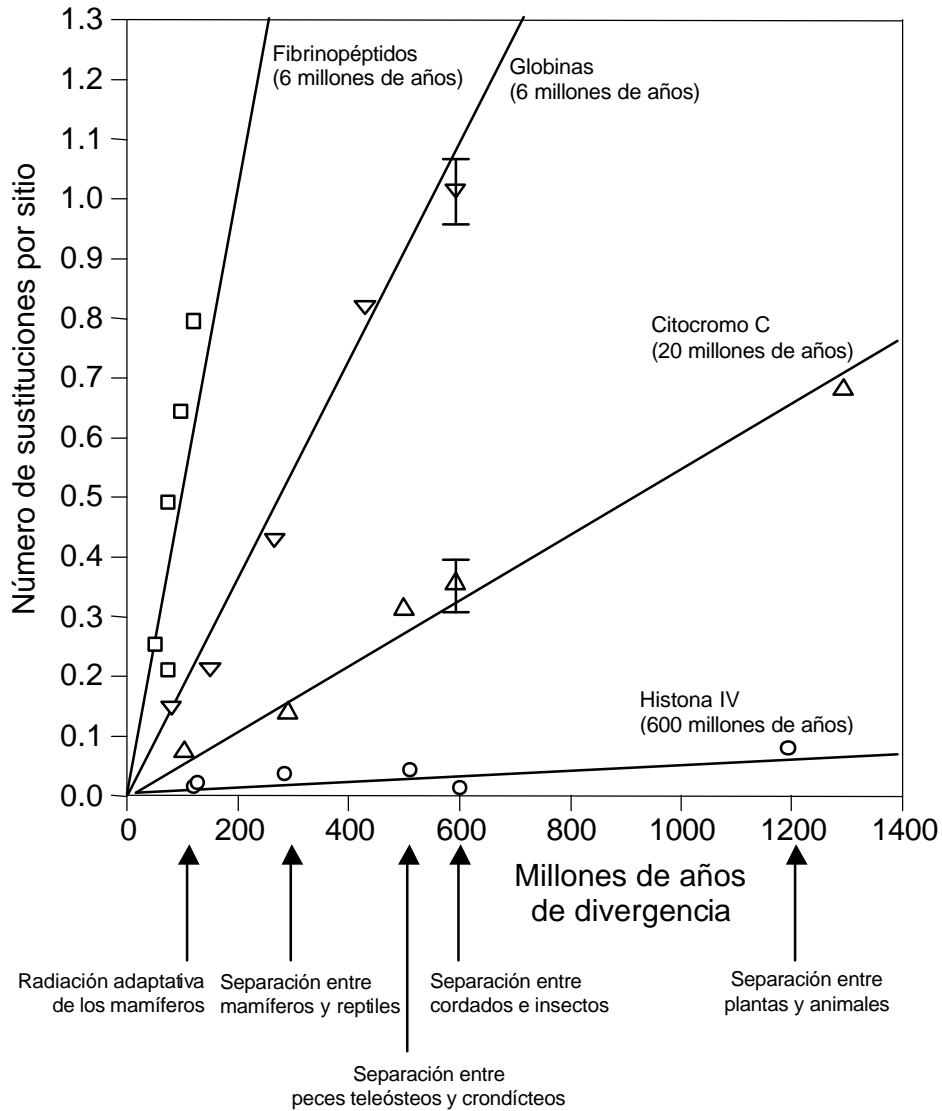
5. Zuckerkandl E & Pauling L (1965): *Evolutionary divergence and convergence in proteins*, pp. 97-166 de Bryson V & Hogel J (eds.): *Evolving genes and proteins*, Academic Press, New York.

en los últimos 400 millones de años mientras que los mamíferos han sufrido una gran diferenciación morfológica en los últimos 80 millones de años, uno esperaría que el linaje que conduce a la carpa evolucione más lentamente que el de los mamíferos. Sin embargo, las comparaciones de las secuencias muestran que el grado de divergencia es proporcional al tiempo.

¿Cómo explica la teoría neutralista el reloj molecular?

La tasa de sustituciones  $K$  de alelos selectivamente equivalentes estaría determinada por los siguientes parámetros: el número de nuevos mutantes que en cada generación son introducidos en la población, y la probabilidad de fijación (es decir de transformarse en una sustitución) de esos nuevos mutantes; de esta manera tenemos que  $K = n^\circ$  nuevos mutantes  $\times$  probabilidad de fijación. El número de nuevos mutantes está determinado por la tasa de mutación así como por el tamaño de la población. Es decir en cada generación aparecen  $u2N$  nuevos mutantes (siendo  $u$  la tasa de mutación). Como ya se ha visto anteriormente, cuando discutimos el modelo de alelos infinitos, cada mutación puede considerarse como un evento único, por lo que cada nuevo alelo tiene una frecuencia original de  $\frac{1}{2}N$ . En consecuencia su probabilidad de fijación en condiciones de deriva genética es también  $\frac{1}{2}N$ . De esta forma tenemos:  $K = u2N \times \frac{1}{2}N = u$ .

En otras palabras: la tasa de sustituciones  $K$  es igual a la tasa de mutación  $u$ . Vemos entonces que  $K$  depende exclusivamente de  $u$  y es completamente independiente del tamaño de la población. Esta afirmación puede parecer paradójica, pues es de esperar que en una población pequeña la deriva genética tenga mayor incidencia y por lo tanto la tasa de sustituciones debería ser mayor. Debemos tener en cuenta sin embargo, que si bien en poblaciones chicas la deriva genética tiene mayor incidencia, y de hecho la probabilidad de fijación es mayor (dado que  $\frac{1}{2}N$  es mayor a menor  $N$ ), en estas poblaciones el número de nuevos mutantes que son introducidos en cada generación es menor, y por tanto ambos efectos se cancelan mutuamente.



**Figura 1.-** Relojes moleculares en cuatro proteínas. En esta figura se ha graficado el grado de divergencia aminoacídica (número de cambios por sitio) versus el tiempo de divergencia entre las especies que se comparan. El tiempo de divergencia se estima a partir del registro fósil. Se incluye además la línea de regresión para cada una de las proteínas analizadas. En algunos casos también se incluye una barra que representa los límites de confianza (I) de la estimación de divergencia. Esta barra se incluye con el objetivo de dar una idea del error experimental. Los cuadrados ( ) representan a los fibrinopéptidos, los triángulos orientados hacia abajo ( ) a las globinas, los triángulos orientados hacia arriba ( ) al citocromo C y los círculos ( ) a la histona IV.<sup>6</sup>

6. Modificado de Dickerson (1972): *The structure and history of an ancient protein*, Scientific American, abril.

Restan por explicar sin embargo dos aspectos. En primer lugar: a qué se debe que la tasa sea constante por unidad de tiempo en lugar de constante por generación. Téngase en cuenta que la tasa de mutación mide el número de mutaciones por generación. Organismos con tiempos de generación más cortos tienen una tasa de mutaciones por año superior a aquellos organismos con tiempo de generación más prolongado. Dicho de otra forma: si la tasa de mutación por generación es la misma para dos organismos que presenten tiempos de generación diferentes, esperaríamos que aquel que posee duración generacional más corta evolucione más rápidamente, puesto que por unidad de tiempo (digamos un millón de años) tendremos un mayor número de generaciones de éstos que de los organismos que presentan duración de generación mayor. Una posible explicación a esta inconsistencia de la teoría neutralista la veremos cuando discutamos la teoría de los alelos levemente deletéreos. En segundo lugar, resta por explicar a qué se debe que distintas proteínas evolucionen a diferentes velocidades. El parámetro  $u$ , que habíamos definido como tasa de mutación del gen por generación, puede en realidad descomponerse en dos partes:  $v$  la tasa de mutación por gen, y  $f$  la proporción de sitios que pueden aceptar mutaciones sin que se altere la función de la proteína, siendo  $u=vf$ . De esta manera  $u$  representa la proporción de nuevas mutaciones que son selectivamente neutras, o lo que es lo mismo,  $u$  es la tasa de mutaciones neutras. El parámetro  $f$ , si se espera que cambie sustancialmente de una proteína a otra. En base a la ecuación dada arriba podríamos reescribir  $K=vf$ , con lo que esperamos que la tasa de sustituciones,  $K$ , sea constante para cada gen, mientras que se espera que  $K$  varíe de una proteína a otra en virtud de que  $f$  sí varía de un gen a otro. Debemos tener en cuenta que si  $f$  es la proporción de aminoácidos que pueden variar,  $1-f$  representa la proporción de aminoácidos donde no se aceptan cambios, ya sea porque los cambios en dichos aminoácidos alteran la estructura o la función de la proteína. En otras palabras  $1-f$  es la proporción de aminoácidos funcionalmente importantes que no aceptan cambios y por lo tanto deberían encontrarse conservados cuando comparamos las secuencias de esta proteína entre diferentes especies.

Esto nos lleva al siguiente punto: cómo clasificamos los distintos tipos de mutaciones, y con qué frecuencia esperamos que aparezcan cada una de ellas.

### **Tipos de mutaciones y sus frecuencias de aparición**

Como ya ha sido mencionado anteriormente, las mutaciones pueden ser neutras (adaptativamente equivalentes al alelo salvaje), desventajosas, o ventajosas. Los dos últimos tipos de mutaciones son afectados por la selección natural.

Ahora podemos plantearnos la siguiente pregunta: dado un gen cualquiera ¿cuál es la frecuencia esperada para cada uno de estos tres tipos de mutaciones?. Como veremos, éste es el punto neurálgico en la polémica neutralismo-seleccionismo.

Desde el punto de vista de la teoría neutralista realizaríamos el siguiente razonamiento: los genes codifican para proteínas cuyas funciones han sido establecidas muy tempranamente en la evolución. Por ejemplo, los genes que codifican para enzimas que catalizan la glucólisis en células humanas también están presentes en la bacteria *Escherichia coli*. Vemos pues que los genes codifican para proteínas cuyas funciones ya fueron establecidas hace varios cientos (o incluso miles) de millones de años. En consecuencia, es altamente improbable que una mutación nueva pueda introducir alguna mejora en estas proteínas cuya funcionalidad ha sido probada por un período de tiempo tan prolongado. Mucho más probable, en cambio, es que las nuevas mutaciones disminuyan o incluso eliminen la funcionalidad de la proteína; es decir, esperaríamos que la gran mayoría sean deletéreas. En este sentido, cabe resaltar que los estudios experimentales muestran que efectivamente la gran mayoría de las nuevas mutaciones son deletéreas. Algunas mutaciones podrían no alterar la funcionalidad de la proteína, por ejemplo los cambios entre aminoácidos similares desde el punto de vista físico-químico (por ejemplo ácido aspártico-ácido glutámico), o aquellas mutaciones que se ubiquen en regiones no esenciales de la proteína. Estas mutaciones son, por definición, mutaciones neutras. El panorama que queda planteado es entonces el siguiente: la gran mayoría de las nuevas mutaciones serían deletéreas; éstas, claro, son eliminadas por la selección natural negativa y por lo tanto no llegan a fijarse, y por tanto no contribuyen a la evolución. Una proporción bastante menor, sería adaptativamente equivalente al alelo salvaje (neutras); éstas pueden llegar a fijarse mediante deriva genética, y por lo tanto pueden contribuir a la evolución. Por último las mutaciones ventajosas, que también contribuyen a la evolución pues pueden llegar a fijarse al ser favorecidas (selección positiva), surgirían con frecuencias extremadamente bajas.

Dado que únicamente las mutaciones ventajosas y las neutras pueden contribuir a la evolución, el eje de la polémica neutralismo-seleccionismo tiene que ver con la proporción relativa entre mutaciones (y sustituciones) que efectivamente pueden contribuir a la evolución, es decir la proporción relativa entre variantes neutras y favorables. La visión seleccionista plantea que la frecuencia de aparición de mutaciones favorables no es tan baja como predice la teoría neutralista. De hecho, se han presentado evidencias indicando que en varios genes la frecuencia de sustituciones que pueden atribuirse a la selección positiva es inusualmente alto. Más adelante veremos algunos ejemplos de selección positiva.

### **Evidencias de la existencia de las sustituciones selectivamente neutras**

Una metodología bastante usada para aislar genes consiste en transformar cepas mutantes nulas (una mutación nula es aquella cuyo efecto fenotípico es la pérdida de función) para un gen en particular usando una librería de genes que contenga el alelo de tipo salvaje. Aquellos clones que hayan recuperado la función perdida representan o bien mutaciones que



restauraron la función, o (lo más común) que han sido transformados con el alelo salvaje. Debido al hecho que nuestro gen problema se encuentra inserto en el vector de clonación resulta fácil aislarlo. Esta metodología ha sido también usada para aislar genes humanos. Por ejemplo muchos de los genes que participan en las vías de reparación del ADN en humanos han sido aislados por su habilidad de restaurar la capacidad de reparación en varias cepas deficientes de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Veamos un ejemplo concreto. Algunas cepas de *Saccharomyces* son deficientes en el transporte hacia el aparato de Golgi.<sup>7</sup> Esto se debe a una mutación en el gen que codifica la proteína Sec23.<sup>8</sup> El gen humano codificante de Sec23 es capaz de complementar esta disfunción. Si alineamos la secuencia aminoacídica de la proteína Sec23 entre hombre y levadura, podemos ver que existen varias diferencias entre ambas proteínas como lo muestra la Fig. 2 (pág. siguiente). Sin embargo el gen humano funciona lo suficientemente bien en levaduras como para restaurar la función normal. Esto nos lleva a pensar que las sustituciones que observamos entre ambas especies no afectan de manera fundamental la funcionalidad del gen, de lo contrario el gen humano sería incapaz de

Humano	MTTYLEFIQONEERDGVRFSSWNVVPSRLEATRMVVPVAALFTPLKERPDLPPIQYEPVL
Levadura	----MDF-ETNEDINGVRFTWNVFPSTRSDANSNVVPGCLYTPLKEYDELNVAPYNPVV
	::* : ** :*****:***:***:* :* . ***** .*:***** :* **:
Humano	CSRTTCRAVLNPLCQVDYRAKLWACNFCYQRNQFPSPYAGISELNQPAELLPQFSSIEYV
Levadura	CSGPHCKSILNPYCVIDPRNSSWSCPICNSRNHLPPQYTNLSQENMPLEL--QSTTIEYI
	** . *:::*** * :* * . ** :* .***:***.:.:*** * * ** * :****:
Humano	VLRGPQMPLIFLYVVDTCMEDEDLQALKESMQMSLSLLPPTALVGLITFGRMVQVHELGC
Levadura	TNKPVTVPPIFFVVDLTSETENLDSLKESIITSLSLLPPNALIGLITYGNVQLHDLSS
	. : :* ***:*** * **:::*****: *****.***:*****:*.***:***..
Humano	EGISKSIVFRGKDLQLEML-GLSKV-PVTQATRGPVQ---QPPPSNRFLQPVQK
Levadura	ETIDRCNVFRGDREYQLEALTEMLTGQKPTGPGGAASHLPNAMNKVTPFSLNRFFLPLEQ
	* * . . ***** :. : * *** * . . * **:: * . * . ***: *:::

7. Organoide citoplasmático descubierto en 1909 por el médico, neurólogo y embriólogo italiano Camillo Golgi (1844-1926) gracias a una técnica de tinte que él mismo desarrolló. A fin de ese año se le otorgó el Premio Nobel de Medicina y Fisiología, compartido con el histólogo español Santiago Ramón y Cajal (1852-1934). (*N. de E.*)

8. Paccaud JP, Reith W, Carpentier JL, Ravazzola M, Amherdt M, Schekman R & Orci L (1996): *Cloning and functional characterization of mammalian homologues of the COPII component Sec23*, Mol Biol Cell 7: 1535-1546.



Humano
RYIDTEHGGSQARFLLSKVNPSQTHNNMYAWGQESGAPILTDDVSLQVFM DHLKKLAVSS
Levadura
RFIDTEAGGSQARFLLSKLNPSDNYQDM-ARG--GSTIVLTDDVSLQNFMTHLQQVAVSG
*:***** *****:***:..::: * * ..: :***** ** **:::****.

**Figura 2.-** Alineamiento de la proteína Sec23 entre humano y levadura (*Saccharomyces cerevisiae*). Los asteriscos (\*) indican que el aminoácido se ha mantenido incambiado, los dos puntos (:) que se trata de una sustitución conservadora (entre aminoácidos bioquímicamente similares), mientras que los puntos indican que se trata de una sustitución mediana.

complementar la mutación pérdida de función. Es decir dichas sustituciones son selectivamente neutras.

Otra línea de evidencia en favor de que las sustituciones selectivamente neutras son predominantes en muchos genes está dada por lo siguiente observación. Cuando alineamos y comparamos las secuencias proteicas o de ADN entre genes homólogos provenientes de distintas especies podemos observar que existen zonas más conservadas (incambiadas) y zonas más divergentes. Las zonas conservadas coinciden con los aminoácidos funcionalmente importantes como lo demuestran varios estudios de mutaciones. Ciertamente se conoce la secuencia nucleotídica de las versiones mutantes de varios alelos que producen alteraciones genéticas tanto en el hombre como en otros organismos. Dichas mutaciones se ubican en su inmensa mayoría en las regiones del gen que se encuentran evolutivamente conservadas, indicando entonces que dichos aminoácidos son funcionalmente importantes pues mutaciones en los mismos dan lugar a alelos deletéreos. Por otra parte muy pocas (o ninguna en algunos genes) se ubican en regiones evolutivamente divergentes.<sup>9</sup> Esto no quiere decir que el gen no mute en estas zonas, sino que las mismas no producen alteraciones fenotípicas detectables. Resulta claro que estos resultados son compatibles con la teoría neutralista pues los mismos indican que solamente las zonas funcionalmente menos importantes evolucionan (donde esperamos que las nuevas mutaciones sean neutras o casi neutras), mientras que las zonas funcionalmente importantes tienden a ser evolutivamente conservadas por acción de la selección natural negativa. Si el gen evolucionara bajo efecto de la selección (positiva) sería de esperar que las zonas funcionalmente importantes tendieran a evolucionar más rápido.

#### *Selección positiva*

Un tema central en la polémica neutralismo-selección tiene que ver con la proporción de sustituciones que resultan por efecto de la selección positiva. Claro está que este tipo de selección solo puede llevar a la fijación a aquellas mutaciones que son beneficiosas. Como hemos discutido anteriormente, la frecuencia de aparición de mutaciones ventajosas se

9. Krazewak M & Cooper DN (1996): *Mutational processes in pathology and evolution*, en M. Jackson, Strachan T & Dover G (eds.): *Human genome evolution*, BIOS Scientific Publishers, Oxford.

espera que sea baja en tanto la función del gen permanezca incambiada. Es improbable introducir mejoras en proteínas que ya funcionan bien. Sin embargo podemos considerar situaciones en las cuales la función del gen, y la proteína por éste codificada, haya cambiado leve o profundamente en su función. También es probable que la selección positiva juegue un papel significativo en aquellos genes cuyos productos sean sensibles a los cambios ambientales y/o de nicho ecológico. Uno de los primeros casos donde se pudo presentar evidencia rotunda de la existencia de selección positiva, lo constituye el ejemplo del gen que codifica la lizosima en rumiantes y en los langures, estos últimos pertenecientes al orden de los primates.<sup>10</sup> En estos dos grupos de mamíferos el enzima es secretada en el estómago anterior donde cumple la función de digerir las paredes bacterianas lo cual permite utilizar la celulosa degradada por las bacterias. En otros grupos de mamíferos este enzima no se secreta en el estomago. Las secuencias proteicas de estos enzimas contienen algunos aminoácidos que están presentes solamente en estos dos grupos de mamíferos. Otros grupos de primates como los homínidos y los grandes monos (*apes*) carecen de dichos aminoácidos. Sin duda no podemos atribuir la similitud que se observa para esta proteína entre langures y rumiantes a ancestría común (esto es son similares porque el ancestro común entre ambos ya poseía dichos aminoácidos), puesto que esta explicación implicaría asumir que los langures son más próximos a los rumiantes que a los restantes primates. La explicación más razonable es que en ambos linajes filogenéticos estos aminoácidos se adquirieron independientemente, por lo que la lizosima representaría un ejemplo de convergencia a nivel molecular. Podríamos argumentar que esta convergencia se debe a sustituciones neutras que se adquirieron al azar y en paralelo en ambos grupos de mamíferos, sin embargo esta alternativa es altamente improbable si tenemos en cuenta que las mismas involucran por lo menos siete sitios aminoacídicos, cada uno de los cuales tiene una probabilidad de (1/19) de ser convergente por azar. La probabilidad conjunto para las siete sustituciones convergentes es menor de  $10^{-6}$ . Mucho más razonable, en cambio, es la explicación que propone que dichos cambios aminoacídicos paralelos son el resultado de una misma respuesta adaptativa, es decir darle capacidad a la lizosima de funcionar correctamente a bajo *pH*, como el que se encuentra en el estómago anterior de estos animales. La lizosima humana, por ejemplo, funciona en forma muy ineficiente en condiciones de acidez. Además se ha podido determinar que algunas de estas sustituciones de aminoácidos confieren mejor *performance* en condiciones ácidas.

Lo visto en el párrafo anterior representa un ejemplo de respuesta adaptativa a un cambio en el nicho ecológico. Esta situación probablemente sólo afecta a una minoría de genes. Sin embargo el surgimiento de nuevas funciones no solamente involucra a cambios en el medio ambiente, el incremento de la complejidad celular y tisular puede ser considerado como un cambio ambiental a escala molecular o celular.

---

10. Stewart CB & Wilson AC (1987): *Sequence convergence and functional adaptation of stomach lysozymes from foregut fermenters*, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 52: 891-899.

¿Cuál es la base genética que genera la complejidad celular? La respuesta a esta pregunta no es simple, pero podemos afirmar que la aparición y diversificación de las familias multigénicas está estrechamente ligado al incremento de la complejidad. Una familia multigénica es un grupo de genes que codifican para el mismo tipo de proteína (puede que no sean genes codificantes de proteínas, por ejemplo los genes ribosomales constituyen una familia multigénica). Los distintos miembros de una familia pueden ser muy similares entre sí o incluso idénticos, pero en muchos casos los distintos miembros de la familia génica codifican para proteínas relacionadas pero funcionalmente divergentes. Los distintos miembros de una familia multigénica se forman por duplicación de genes (*crossing-over* desigual, transposición, etc.) y posterior diversificación. El mecanismo evolutivo por el cual se genera la diversidad en una familia no está bien entendido, pero es muy probable que la selección positiva juegue un rol determinante. Un modelo ampliamente citado es el siguiente: luego de la duplicación tenemos dos copias de un gen, lo cual permite que una de ellas acumule mutaciones libremente (dado que las mutaciones en el gen extra serían neutras) pues hay un gen redundante. En la gran mayoría de los casos el gen redundante pierde funcionalidad (es decir, se transforma en lo que conocemos como pseudogén) y sigue acumulando cambios hasta que degenera completamente. Sin embargo, ocasionalmente este conjunto de mutaciones puede conducir a una función nueva, la cual puede ser ampliamente favorable, por ejemplo la creación de un nuevo sitio activo o una región de interacción con otras proteínas. Cabe aclarar que bajo este modelo cada una de las mutaciones individuales sería neutra (o deletérea si el gen no estuviera duplicado), lo que sería beneficioso es el conjunto de mutaciones que crean la nueva función. Este modelo ha sido llamado evolución de proteínas funcionalmente nuevas durante el periodo de no-funcionalidad.<sup>11</sup> Sin embargo las evidencias indican que este modelo es incorrecto. Ciertamente varios estudios muestran que los genes duplicados no mutan libremente, de hecho la mayoría de las mutaciones son deletéreas.<sup>12</sup> El modelo alternativo (seleccionista) propone que no sólo el conjunto, sino cada uno de los cambios individuales que llevan a la nueva función es adaptativamente favorable. Esto puede ser testado de la siguiente forma: si la evolución ocurrió mediante sustituciones favorables, éstas deberán afectar las regiones funcionalmente importantes del gen, lo cual es exactamente lo contrario a lo que se observaría bajo evolución neutra que predice que las regiones importantes deben estar muy conservadas. En segundo lugar, la velocidad de evolución en estas regiones debe ser superior a lo que predice la teoría neutral puesto que la selección positiva es muy eficiente. Ambas predicciones pueden ser testadas. En relación a la primera de estas predicciones podemos realizar la siguiente comparación. Si una región es funcionalmente importante, entonces la misma debe estar conservada cuando comparamos entre distintas especies miembros de la familia multigénica que cumplen la misma función (por ejemplo cuando comparamos dos globinas ? de diferentes especies), pero la misma debería ser muy divergente cuando comparamos distintas variantes funcionales de la misma familia génica (por ejemplo la

---

11. Ohno S (1973): *Ancient linkage groups and frozen accidents*, Nature 244: 259-262.

12. Ver Hughes AL (1994): *The evolution of functionally novel proteins after gene duplication*, Proc. R. Soc. London 256: 119-124.

comparación entre  $\alpha$  y  $\beta$  globinas). La segunda predicción, involucra la velocidad de evolución relativa a la velocidad de evolución neutra, se puede testar de la siguiente forma: podemos asumir que los cambios sinónimos (entre codones que codifican el mismo aminoácido) son selectivamente neutros pues los mismos no producen alteraciones de ningún tipo en la secuencia de aminoácidos. Por lo tanto la tasa de evolución sinónima ( $K_s$ ) debería ser una buena estimación de la tasa de evolución neutra. Podemos comparar entonces la tasa de cambio aminoacídico ( $K_a$ ) en una región que sospechamos se encuentra bajo efecto de selección positiva con la tasa de cambio sinónimos para la misma región del gen. Si el segmento del gen en cuestión está evolucionando a gran velocidad debido a la acumulación de sustituciones beneficiosas, entonces  $K_a$  debería ser mayor que  $K_s$ . Varios estudios han confirmado esta predicción. Numerosas familias multigénicas presentan evidencias claras de selección positiva en regiones de sus genes que codifican segmentos funcionalmente importantes de la proteína (ver Tabla 1 en pág. siguiente).

Por último es importante mencionar que también se ha detectado selección positiva en aquellos genes y familias multigénicas en los cuales la variabilidad tiene un valor de por sí. En estos casos la selección favorece la generación de la diversidad a nivel aminoacídico, tanto entre los alelos de una población, como entre los miembros de la familia multigénica. Los ejemplos mejor entendidos son aquellos que están relacionados con proteínas del sistema inmunitario, ya sea inmunoglobulinas, receptores de linfocitos T, así como en los genes del sistema de histocompatibilidad. En estos genes las llamadas regiones variables, que participan en la interacción con antígenos (lo que permite el reconocimiento de éstos), están sujetas a selección que favorece la generación de diversidad.<sup>13</sup> Resulta claro que la diversidad en estas regiones tiene un valor de por sí, pues es la misma diversidad la que permite el reconocimiento de una amplia gama de antígenos. En el otro lado de la moneda tenemos que muchos parásitos y virus presentan selección positiva para incrementar la diversidad en aquellos genes codificantes de proteínas antigénicas.<sup>14</sup> Esta estrategia permite a los parásitos evadir o al menos retardar una respuesta inmunitaria efectiva del huésped.

**Tabla 1.- Algunos ejemplos de selección positiva.**

<b>Genes pertenecientes a familias multigénicas</b>	<b>Tipo de evidencia</b>
Inhibidor de la serín-proteasa	$K_n > K_s$
Región variable de las inmunoglobulinas	$K_n > K_s$
Receptores olfatorios	$K_n > K_s$ , $P_R > P_C$

13. Tanaka T & Nei (1989): *Positive darwinian selection observed at the variable region genes of immunoglobulins*. Mol. Biol. Evol, 6: 447-459. Hughes, AL & Yeager M (1998): *Natural selection at major histocompatibility complex loci of vertebrates*. Annu. Rev. Genetics, 32: 415-435.

14. Hughes, AL (1991): *Circumsporozoite protein genes of malaria parasites (Plasmodium spp.): evidence for positive selection on immunogenic regions*. Genetics, 127: 345-353.

Histamina	$K_n > K_s$
cadena ? de la integrina	$P_R > P_C$
Cisteín proteinasa	$P_R > P_C$
Ribonucleasas de primates (genes ECP y EDN)	$K_n > K_s$
Genes del complejo mayor de histocompatibilidad	$K_n > K_s$

**Genes en los que ha cambiado la función  
y genes codificantes de proteínas antigénicas**

Alcohol deshidrogenasa en Drosophila	$^sN_n / ^sN_s > ^pN_n / ^pN_s$
Interleucina 2	$K_n > K_s$
Enzimas proteolíticas (Calicreina, ? <sub>1</sub> -antripsina, Serpina)	$K_n > K_s$
Proteínas del Circunesporozito de Plasmodium	$K_n > K_s$
Gen nef del virus VIH	$K_n > K_s$

*Nota:*  $K_n > K_s$  se refiere al hecho de que al menos en algunas regiones del gen, la tasa de sustituciones aminoacídicas ( $K_n$ ) es superior a la tasa de cambio sinónimo, mientras que  $P_R > P_C$ , se refiere al hecho de que el número de cambios aminoacídicos radicales (es decir entre aminoácidos bioquímicamente disímiles) es superior al del número de cambios conservadores. Por último,  $^sN_n / ^sN_s > ^pN_n / ^pN_s$  significa que la relación entre el número de cambios aminoacídicos sobre el número de cambios sinónimos es mayor en los sitios que presentan estas diferencias inter-específicamente (sustituciones) que en los sitios que presentan la diferencia intra-específicamente (polimorfismos).

*Cambios sinónimos: ¿paradigma de la evolución neutra?*

Una de las primeras predicciones de la teoría neutralista era que los cambios sinónimos (entre codones que codifican el mismo aminoácido) deberían estar completamente exentos de selección natural. Esta presunción estaba basada en el simple hecho de que dichos cambios no alteran la naturaleza codificante de los genes al no implicar modificaciones de ningún tipo en la estructura primaria de las proteínas por ellos codificadas. Debido a esta naturaleza supuestamente inocua de las mutaciones sinónimas, era de esperar que las diferencias de índole sinónima se acumularan a una tasa muy alta en el proceso de diferenciación entre genes y especies. Esta afirmación de la teoría neutralista representa un caso particular de uno de sus postulados básicos: la tasa de cambio a nivel molecular es inversamente proporcional al grado de restricción funcional.

Sin embargo, a medida que se acumularon datos de secuencias nucleotídicas, resultó evidente que los distintos codones sinónimos aparecen en los genes con frecuencias que claramente se apartan de una distribución al azar. Este fenómeno conocido como “uso de codones sinónimos” se observa tanto en organismos procariotas como eucariotas.<sup>15</sup>

15. Grantham R, Gautier C, Gouy M, Mercier R & Pave R (1980): *Codon catalog usage and the genome hypothesis*, Nucleic Acids Res. 8: 49-62.

Por otro lado, Toshimichi Ikemura (del Instituto Nacional de Genética, Mishima, Japón) presentó evidencia que indica que en *Escherichia coli* y *Saccharomyces cerevisiae* el uso de codones está, en gran medida, determinado por la abundancia relativa de los ARN de transferencia (ARNt) que reconocen a los correspondientes codones.<sup>16</sup> Esto es, los codones más frecuentes (codones “óptimos”) son reconocidos por los ARNt más abundantes. Esta correlación entre abundancia de codones y abundancia de ARNt es especialmente evidente en los genes que codifican proteínas que están presentes en altas concentraciones. Esta observación llevó inmediatamente a postular que en estos microorganismos el uso de codones estaría determinado por la selección para incrementar la eficiencia traduccional. Este incremento en la eficiencia de la síntesis proteica sería debido a que el número medio de interacciones entre el ARNt y el sitio-A del ribosoma se reduce considerablemente en un sistema que posea sesgo en el uso de codones y sesgo en las poblaciones de ARNt en relación a un sistema en el cual todos los codones y ARNt son equiprobables. Como resultado de este decremento en el número de interacciones, se reduce el tiempo medio de espera (del aminoacil-ARNt correcto) por aminoácido, lo que a su vez resulta en una reducción neta del número de ribosomas necesarios para producir una determinada cantidad de proteína por unidad de tiempo.

El uso sesgado de codones acompañado con sesgos en las poblaciones de ARNt también ha sido implicado en el incremento de la fidelidad traduccional. Por un lado, se ha demostrado experimentalmente en *E. coli* que la sustitución de un codón mayor (es decir reconocido por un ARNt abundante) por un codón menor, produce un incremento de casi 10 veces en la tasa de errores traducionales en el aminoácido donde se realizó la sustitución.<sup>17</sup> Por otro lado Hiroshi Akashi, analizando genes de *Drosophila melanogaster* y *D. simulans* mostró que los aminoácidos funcionalmente importantes (en general pertenecientes a motivos conservados o dominios proteicos cuya función se sabe que es importante) tienden a estar codificados por codones óptimos en una frecuencia significativamente más alta que los aminoácidos no conservados.<sup>18</sup>

La posible existencia de selección en las posiciones sinónimas basada en la evidencia aportada por el uso de codones no azaroso y su vinculación con la disponibilidad de ARNts isoaceptores, llevó a postular que la evolución sinónima debería estar sujeta a presión selectiva.

Posteriormente Paul M. Sharp & Li Wen-Hsiung mostraron que en enterobacterias (*E. coli*, *Salmonella typhimurium*) la tasa de sustituciones sinónimas es inversamente proporcional al grado de sesgo en el uso de codones, esto es, genes con mayor sesgo en sus preferencias de codones (y

---

16. Ikemura T (1981): *Correlation between the abundance of Escherichia coli transfer RNAs and the occurrence of the respective codons in proteins genes*, J. Mol. Biol. 146: 1-21; y (1982): *Correlation between the abundance of yeast transfer RNAs and the occurrence of the respective codons in protein genes*, J. Mol. Biol. 158: 573-587.

17. Precup J & Parker J (1987): *Missense misreading of asparagine codons as a function of codon identity and context*, J. Biol. Chem. 262: 11351-11356.

18. Akashi H (1994): *Synonymous codon usage in Drosophila melanogaster, natural selection and translational accuracy*. Genetics, 136: 927-935.

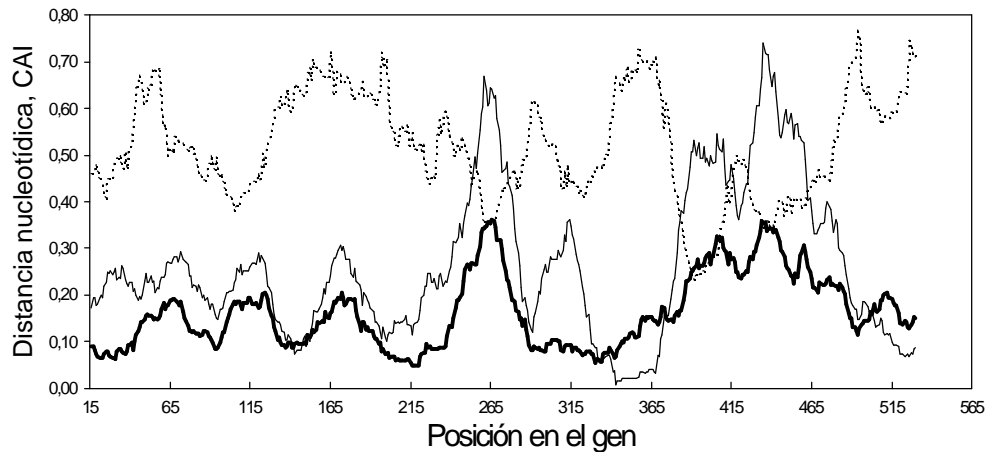


por tanto expresados a altos niveles y con mayor dependencia de la población de ARNts), evolucionan (a nivel sinónimo) significativamente más lentamente que aquellos genes con menor sesgo (y por lo tanto expresados más débilmente y con menor dependencia de los ARNts).<sup>19</sup> Resultados similares han sido obtenidos en otros organismos como *Drosophila*, *Caenorhabditis* y *Mycobacterium*.<sup>20</sup>

Por otra parte, varios autores han reportado independientemente que las tasas de sustituciones sinónimas y no-sinónimas no son independientes. Por el contrario, existe una correlación relativamente alta ( $r$  entre 0.5 y 0.6) y muy significativa entre ellas.<sup>21</sup> Esta correlación ha sido atribuida a distintas causas. Por un lado Ken Wolfe & Paul Sharp sostienen que la misma podría ser explicada como el resultado de mutaciones en dobles. Esto es, dos bases consecutivas que mutan simultáneamente como resultado de un único evento. Sin duda, si estas mutaciones fueran frecuentes podrían explicar en parte la correlación en cuestión, puesto que al cambiar dos bases consecutivas, en aproximadamente  $\frac{1}{2}$  de casos se produciría una mutación sinónima y una no-sinónima. Sin embargo Dominique Mouchiroud, C. Gautier & Giorgio Bernardi han demostrado que si se eliminan de los alineamientos las sustituciones consecutivas en las posiciones del codón 2-3 y 3-1 (es decir sustituciones sinónimas y no-sinónimas consecutivas que podrían haber sido originadas a partir de una única mutación en doblete) la correlación baja pero se mantiene altamente significativa. Como explicación alternativa, los mismos autores propusieron que la correlación en cuestión debería ser la consecuencia de restricciones funcionales comunes a los cambios sinónimos y no-sinónimos. Un posible vínculo entre ambos tipos de sustituciones (es decir, restricciones funcionales comunes) puede estar dado por la fidelidad traduccional puesto que los aminoácidos más importantes desde el punto de vista funcional tienden a presentar mayor conservación evolutiva como ya ha sido visto y además tienden a estar codificados por codones mayores para disminuir la tasa de errores traduccionales en estos codones. Dada esta situación es de esperar que estos codones mayores tiendan a mantenerse incambiables (evolutivamente conservados), dado que sustituciones en los mismos implicaría pasar de un codón mayor a uno menor con el consiguiente aumento en la tasa de errores traduccionales. Las correlaciones entre las tasas de sustituciones sinónimas y no-sinónimas también se observan a nivel intragénico. Estudios en genes de mamíferos y gramíneas muestran

- 
19. Sharp PM & Li W-H (1987): *The rate of synonymous substitutions in eubacterial genes is inversely related to codon usage bias*, Mol. Biol. Evol. 4: 222-230.
  20. Respectivamente: Sharp PM & Li W-H (1988): *On the rate of DNA sequence evolution in Drosophila*, J. Mol. Evol. 28: 398-402; Stenico M, Lloyd AT & Sharp PM (1994): *Codon usage in Caenorhabditis elegans: delineation of translational selection and mutational biases*, Nucleic Acid Res. 22: 2437-2446; de Miranda A, Álvarez-Valín F, Jabbari K, Degraeve WM & Bernardi G (2000): *Gene expression, amino acid conservation and hydrophobicity are the main factors shaping codon preferences in Mycobacterium tuberculosis and Mycobacterium leprae*, J. Mol. Evol. 50: 45-55.
  21. Mouchiroud D, Gautier C & Bernardi G (1995): *Frequencies of synonymous substitutions in mammals are gene-specific and correlated with frequencies of non-synonymous substitutions*, J. Mol. Evol. 40: 107-113; Ohta T & Ina Y (1995): *Variation in synonymous substitution rates among mammalian genes and correlations between synonymous and nonsynonymous divergences*, J. Mol. Evol. 41: 717-720; Wolfe KH & Sharp PM (1993): *Mammalian gene evolution: nucleotide sequence divergence between mouse and rat*, J. Mol. Evol. 37: 441-456.

que el número de genes que presentan coeficientes de correlación estadísticamente significativos es mayor de lo que se esperaría por azar.<sup>22</sup> Cuando hablamos de correlación intragénica entre ambos tipos de sustituciones queremos decir que aquellas regiones del gen que son más conservadas desde el punto de vista aminoacídico también son más conservadas a nivel sinónimo, mientras que las zonas con mayor divergencia en términos de sustituciones de aminoácidos también presentan



mayor divergencia sinónima (Fig. 3).

**Figura 3.-** Perfiles de divergencia no-sinónima (línea gruesa), sinónima (línea delgada) y sesgo en el uso de codones (línea punteada) en el gene codificante de la metaloproteína de membrana (GP63) de *Leishmania*. Estos perfiles fueron obtenidos midiendo la frecuencia de cambios de tipo no-sinónimo y sinónimo (corregida para sustituciones múltiples y paralelas) dentro de ventanas móviles de 30 codones de largo.

Resultados más recientes aportan evidencias claras en favor de la hipótesis de las restricciones comunes. Por un lado M.L. Chiusano y colaboradores han reportado que la estructura secundaria de las proteínas (definidas en términos de alfa hélice, hoja beta y estructuras aperiódicas) presentan tasas de cambio sinónimos y no sinónimos diferentes.<sup>23</sup> Por otro lado Álvarez-Valín y colaboradores han mostrado que en el gen codificante de la proteína GP63 de *Leishmania* las sustituciones sinónimas y no sinónimas presentan una distribución claramente no aleatoria en la estructura tridimensional de la proteína.<sup>24</sup>

22. Álvarez-Valín F, Jabbari K & Bernardi G (1998): *Synonymous and nonsynonymous substitutions in mammalian genes: intragenic correlations*, J. Mol. Evol. 46: 37-44; Álvarez-Valín F, Jabbari K, Carels N & Bernardi G (1999): *Synonymous and nonsynonymous substitutions in genes from Graminae: intragenic correlations*, J. Mol. Evol. 49: 330-342.

23. Chiusano ML, D'Onofrio G, Álvarez-Valín F, Jabbari K, Colonna G & Bernardi G (1999): *Correlations of nucleotide substitution rates and base composition of mammalian coding sequences with protein structure*, Gene 238: 23-31.

24. Álvarez-Valín F, Tort JF & Bernardi G (2000): *Non-random spatial distribution of synonymous substitutions in the GP63 gene from Leishmania*, Genetics, 155: 1683-1692.

Todo este cúmulo de resultados indica con claridad que las posiciones sinónimas de los codones, lejos de estar exentas de presiones selectivas – como se pensó originalmente– están sujetas a una amplia gama de restricciones funcionales. Muchas de estas restricciones son las mismas que también afectan a los cambios aminoacídicos.

*Teoría de los alelos casi neutros levemente deletéreos*

Hasta ahora nos hemos manejado con el siguiente esquema simplista del destino de los distintos tipos de mutaciones: las mutaciones desventajosas son eliminadas de la población por efecto de la selección natural negativa, las variantes ventajosas en cambio son favorecidas por la selección (selección positiva) y tienen gran chance de fijarse en la población. Por último las mutaciones neutras no son afectadas por la selección natural, su destino depende exclusivamente de la deriva genética. Es importante tener en cuenta sin embargo, que la deriva genética también influye en el destino de las mutaciones no-neutras, sean éstas favorables o desfavorables. En poblaciones pequeñas, por efecto de la deriva genética, una mutación favorable puede llegar a perderse de la población, o una deletérea puede llegar a fijarse. Podemos afirmar que una mutación se comporta como neutra si el producto  $|S*N| < 1$ , donde N es el tamaño de la población y S el coeficiente de selección. Aclaremos que S mide la viabilidad relativa de un alelo mutante en particular en relación al alelo salvaje (o predominante) en la población. S varía entre -1 y +1, los alelos neutros tienen un valor de S = 0. Valores de S = 0.1 se consideran muy altos; en general los valores de S que observamos en la naturaleza son menores a  $10^{-3}$ . Nótese que con coeficientes de selección en este orden, la selección predominaría incluso en poblaciones relativamente pequeñas (es decir de más de 1000 individuos). Sin embargo, para aquellas especies con valores poblacionales en el rango de  $10^3$ - $10^4$ , alelos con coeficientes de selección menores de  $10^{-4}$ , se comportarían como alelos neutros.

La teoría de los alelos casi neutros o levemente deletéreos, de Tomoko Ohta, propone que la enorme mayoría de las mutaciones caen en dos grupos: aquellas que son rotundamente deletéreas (y que son eliminadas por selección negativa) y las que presentan coeficientes de selección muy pequeños.<sup>25</sup> En relación con estos últimos se propone que la distribución de los valores de S sigue una distribución normal con media negativa por lo que la mayoría de estos nuevos alelos serían levemente deletéreos. Es importante aclarar que los alelos estrictamente neutros (con S = 0) serían muy raros. El aspecto fundamental de esta teoría es que la tasa de aparición de alelos mutantes que se comportan como neutros depende del tamaño de la población. En poblaciones pequeñas una proporción relativamente alta de alelos mutantes se comportaría como neutros puesto que al ser el valor de N pequeño, un rango relativamente amplio de valores de S caerían dentro de la franja  $|S*N| < 1$ . Por el contrario, en poblaciones grandes (es decir con grandes valores de N), una proporción mucho menor de coeficientes de selección caerían dentro de la franja de la neutralidad. En otras palabras podemos decir que el aspecto central de la teoría de Ohta radica en el hecho

---

25. Ohta T (1973): *Slightly deleterious mutant substitutions in evolution*, Nature 246: 96-98.

de que la tasa de aparición de mutaciones efectivamente neutras (es decir que se comportan como tales aunque en un sentido estricto no lo sean) depende del tamaño poblacional, siendo esta tasa mayor en poblaciones pequeñas que en poblaciones de gran tamaño.

Esta teoría tiene implicancias en varios aspectos, pero la fundamental es que se relaciona con el reloj molecular. Como acabamos de ver, en poblaciones pequeñas el porcentaje de alelos que se comportará como efectivamente neutros es superior al porcentaje que esperamos para poblaciones grandes. Visto desde otro punto de vista, la tasa de aparición de mutaciones efectivamente neutras es inversamente proporcional al tamaño de poblaciones, consecuentemente la tasa de aparición de mutaciones que son “vistas” como deletéreas por la selección natural es directamente proporcional al tamaño poblacional. Como ya mostramos anteriormente, la tasa de sustituciones  $K$  depende exclusivamente de la tasa de mutaciones neutras ( $K=u=vf$ ). Bajo la hipótesis que estamos viendo,  $u$  varía en forma inversamente proporcional al tamaño poblacional, de manera que esperaríamos que la tasa de sustituciones  $K$  también sea inversamente proporcional al tamaño de las poblaciones. Por otro lado, tenemos que existe también una relación inversa entre el tiempo de generación y el tamaño poblacional. Organismos que poseen tiempos de generación cortos tienen tamaños poblacionales mayores (consideremos por ejemplo la comparación entre elefantes y ratones). De esta forma podemos entender cómo la tasa de sustituciones es proporcional al tiempo y no al número de generaciones, ya que en organismos con poblaciones pequeñas la tasa de mutaciones efectivamente neutras sería mayor (y por tanto  $K$  sería mayor por generación) pero también es mayor la duración de cada generación. En poblaciones pequeñas en cambio la tasa de sustituciones  $K$  es menor por generación pero tenemos un mayor número de generaciones por unidad de tiempo. Claramente esta relación daría lugar a un reloj molecular que es proporcional al tiempo y no al número de generaciones.

### **Conclusiones**

La discusión de algunos de los tópicos más importantes en la polémica seleccionismo-neutralismo nos permite ver que existen evidencias en uno y otro sentido. Si bien este no es un tema cerrado, estamos en condiciones de afirmar que muchos genes, y particularmente aquellos que codifican para funciones que se han mantenido incambiadadas a lo largo del tiempo, evolucionan de acuerdo a las predicciones de la teoría neutral. Otro grupo de genes en cambio parecen evolucionar bajo la influencia de selección positiva. Uno podría preguntarse si estos últimos representan una minoría siendo lo predominante la evolución neutra. Por el momento no estamos en condiciones de responder a esta pregunta, pero es preciso tener en cuenta que una proporción muy importante de los genes de vertebrados forma familias multigénicas en las cuales se observa diferenciación en diversas sub-funciones. Es posible que en muchos de éstos la selección positiva juegue un rol preponderante.

**Otra fuente consultada**

Krazewak M & Cooper DN (1996): *Mutational processes in pathology and evolution*. en *Human Genome Evolution*, ed. Jackson M, Strachan T y Dover G. BIOS Scientific Publishers, Oxford.