

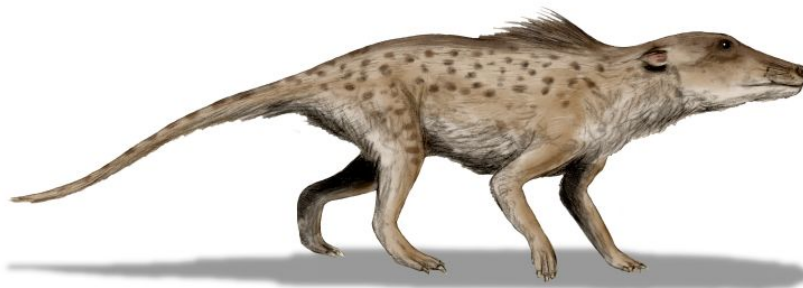
Evolución molecular de opsinas visuales en Cetacea: análisis filogenético de la transición terrestre-acuática

Caballero Rosas Santiago, Hernández Amaro María Fernanda &
Mendiola Montes Victor Manuel.

Facultad de Ciencias
Universidad Nacional Autónoma de México

Genómica Computacional 2026-1

Diciembre 2025



Resumen

Los cetáceos experimentaron una transición evolutiva radical desde artiodáctilos terrestres a mamíferos completamente acuáticos durante el Eoceno (~ 50 Ma). Esta transición impuso presiones selectivas profundas sobre el sistema visual debido a las propiedades ópticas del agua: dominancia de luz azul, atenuación rápida con profundidad, y ausencia de luz UV. Analizamos la evolución molecular de tres genes de opsinas visuales (LWS, SWS1, RH1) en 29 especies de cetáceos y 7 artiodáctilos mediante inferencia filogenética por máxima verosimilitud y reconstrucción de estados ancestrales. Nuestros resultados confirman que SWS1 (opsina de conos sensibles a UV-violeta) está pseudogenizado en todos los cetáceos mediante mutaciones independientes en mysticetos y odontocetos, mientras que RH1 (rodopsina de bastones) permanece estrictamente conservado y funcionalmente adaptado al espectro azul acuático. Para LWS (opsina de conos sensibles a rojo-amarillo), encontramos conservación en la mayoría de especies con pseudogenización únicamente en cachalotes (*Physeter*, *Kogia*), buceadores profundos que han alcanzado monocromatismo puro de bastones. Estos patrones ilustran una pérdida progresiva de visión de color adaptativa al ambiente acuático y demuestran un *trade-off* evolutivo entre sensibilidad a baja luz y discriminación cromática.

Índice

1. Introducción	3
2. Métodos	4
2.1. Muestreo taxonómico y obtención de secuencias	4
2.2. Alineamiento múltiple de secuencias	5
2.3. Selección de modelos de sustitución nucleotídica	5
2.4. Inferencia filogenética por máxima verosimilitud	5
2.5. Reconstrucción de estados ancestrales	6
2.6. Detección de pseudogenización	6
3. Resultados	7
3.1. Evolución integrada de las tres opsinas en cetáceos	7
3.2. Topologías filogenéticas y congruencia entre genes	9
3.3. Evolución de SWS1: pseudogenización universal mediante mutaciones inde- pendientes	13
3.4. Evolución de RH1: conservación estricta y adaptación al espectro azul	14
3.5. Evolución de LWS: conservación parcial y pérdida en buceadores profundos .	15
4. Discusión	16
4.1. Pérdida de visión de color como adaptación acuática	16
4.2. Conservación estricta de RH1 y adaptación espectral	17
4.3. Interpretación de la pseudogenización convergente de LWS	17
4.4. Limitaciones metodológicas y comparación con Meredith et al.	18
5. Conclusiones	18

1 Introducción

La evolución de los cetáceos representa uno de los casos más interesantes de transición adaptativa en vertebrados. Durante el Eoceno, hace aproximadamente 50 millones de años, los artiodáctilos terrestres emparentados con los hipopótamos modernos retornaron al ambiente acuático, dando origen a las ballenas, delfines y marsopas actuales [Thewissen et al., 2007]. Esta transición requirió modificaciones en prácticamente todos los sistemas fisiológicos, desde la locomoción y osmorregulación hasta la comunicación y percepción sensorial.

Entre ellos, el sistema visual enfrentó desafíos particularmente severos. Mientras que el aire transmite luz de manera uniforme en todo el espectro visible, el agua absorbe diferencialmente parte de las longitudes de onda: las rojas y naranjas se atenúan rápidamente en los primeros metros, mientras que la luz azul penetra hasta mayores profundidades por su contenido energético. En aguas oceánicas claras, el espectro disponible se reduce progresivamente a un rango estrecho centrado en ~ 480 nm (azul), y más allá de 200 metros la luz solar prácticamente desaparece, dejando solo la bioluminiscencia de organismos marinos como fuente lumínica [Warrant & Locket, 2004]. Estas condiciones físicas sugieren que la visión de color debería perder valor adaptativo en cetáceos, mientras que la sensibilidad a baja luminosidad se volvería crítica.

La visión en mamíferos depende de fotorreceptores retinales que expresan opsinas, proteínas fotosensibles que al unirse al cromóforo 11-*cis*-retinal forman pigmentos visuales funcionales. Los mamíferos ancestralmente poseen cuatro tipos de opsinas: RH1 (rodopsina, expresada en bastones para visión en baja luz), SWS1 (opsina de conos S, sensible a luz UV, longitudes de onda cortas), SWS2 (opsina de conos S, sensible al azul), y LWS (opsina de conos L, sensible a rojo-amarillo, longitudes de onda largas). La combinación de estas opsinas determina el espacio de color perceptible, desde monocromatismo (un solo tipo) hasta tricromatismo (tres tipos, como en humanos).

Estudios previos habían documentado anomalías en el sistema visual de cetáceos. Levenson & Dizon [2003] reportaron ausencia de opsinas de conos funcionales en delfines, sugiriendo monocromatismo basado exclusivamente en bastones. Fasick et al. [2011] demostraron que RH1 en cetáceos ha sufrido un desplazamiento espectral hacia el azul (*blue-shift*) mediante cambios aminoacídicos específicos, optimizando su absorción para el espectro acuático. Sin embargo, fue Meredith et al. [2013] quienes proporcionaron el análisis más comprehensivo, revelando que SWS1 está pseudogenizado universalmente en cetáceos mediante mutaciones independientes, y que LWS ha sido inactivado convergentemente en cinco linajes de buceadores profundos, resultando en el primer caso documentado de monocromatismo de bastones en mamíferos.

El presente trabajo replica parcialmente la aproximación de Meredith et al. [2013] con tres objetivos principales: primero, confirmar mediante inferencia filogenética los patrones de pseudogenización reportados en SWS1 y LWS; segundo, analizar la conservación y posibles adaptaciones de RH1 mediante reconstrucción de estados ancestrales; y tercero, demostrar un intento de comprensión profunda de los métodos computacionales empleados en genómica, incluyendo selección de modelos de sustitución, inferencia por máxima verosimilitud, análisis de bootstrap, y reconstrucción ancestral. Este trabajo pretende validar hallazgos clave sobre la evolución visual de cetáceos mientras desarrolla una comprensión de las herramientas bioinformáticas que sustentan la biología evolutiva.

Con todo este preambulo, construimos la siguiente pregunta de investigación: **¿Cómo evolucionaron los genes de opsinas visuales (LWS, SWS1, RH1) durante la transición evolutiva de artiodáctilos terrestres a cetáceos acuáticos?**

En las siguientes secciones, redactamos como llegamos a una respuesta.

2 Métodos

2.1 Muestreo taxonómico y obtención de secuencias

Siguiendo la estrategia de Meredith et al. [2013], obtuvimos secuencias de los genes LWS, SWS1 y RH1 para 29 especies de cetáceos distribuidas en las dos grandes divisiones del orden: ocho especies de Mysticeti (ballenas barbadas, incluyendo rorcuales, ballenas francas, y la ballena gris) y 21 especies de Odontoceti (cetáceos dentados, incluyendo cachalotes, zifios, delfines oceánicos, marsopas, y delfines de río). Como grupo externo empleamos siete especies de artiodáctilos terrestres, incluyendo *Hippopotamus amphibius* como grupo hermano inmediato de Cetacea, además de bovinos, ovinos, porcinos, cérvidos y camélidos.

Todas las secuencias fueron descargadas directamente de la base de datos GenBank (NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) utilizando los números de acceso específicos reportados en las tablas suplementarias de Meredith et al. [2013], asegurando uso de datos idénticos para permitir comparación directa. Las secuencias corresponden exclusivamente a regiones codificantes (exones) de los tres genes; no se incluyeron intrones, regiones 5' UTR ni 3' UTR.

2.2 Alineamiento múltiple de secuencias

Los alineamientos múltiples fueron generados en MEGA 12.0.14 [Tamura et al., 2021] ejecutándose en Windows 10 Pro LTSC usando el algoritmo ClustalW implementado en MEGA con los siguientes parámetros: gap opening penalty = 15.0, gap extension penalty = 6.66, transition weight = 0.5, delay divergent sequences = 30 %.

Tras el alineamiento automático, cada matriz fue inspeccionada manualmente para verificar: (1) conservación de marcos de lectura abiertos en regiones codificantes, (2) ausencia de gaps artefactuales en regiones terminales, y (3) presencia de mutaciones potencialmente inactivantes (frameshifts, codones stop prematuros, deleciones de regiones críticas).

2.3 Selección de modelos de sustitución nucleotídica

Para cada gen, seleccionamos el modelo óptimo de sustitución nucleotídica evaluando 24 modelos candidatos mediante el criterio de información de Akaike (AIC) implementado en MEGA 12. El AIC balancea bondad de ajuste (máxima verosimilitud) con parsimonia (número de parámetros), calculándose como $AIC = 2k - 2\ln(L)$, donde k es el número de parámetros libres y L la máxima verosimilitud del modelo dados los datos. Modelos con AIC mínimo son preferidos. Los 24 modelos evaluados incluyen combinaciones de: seis esquemas de sustitución base (Jukes-Cantor, Kimura 2-parameter, Tamura, Tamura-Nei, HKY, GTR), con o sin heterogeneidad de tasas entre sitios (distribución Gamma discreta, +G), con o sin fracción de sitios invariantes (+I), y ambos (+G+I).

Los modelos seleccionados por AIC fueron: Tamura (1992) + Gamma para LWS (AIC = 5648.80), Tamura-Nei (1993) + Gamma para RH1 (AIC = 2618.14), y Tamura (1992) + Gamma para SWS1 (AIC = 7589.56). La distribución Gamma fue discretizada en cuatro categorías de tasas (parámetro por defecto de MEGA).

2.4 Inferencia filogenética por máxima verosimilitud

La inferencia filogenética por máxima verosimilitud busca el árbol que maximiza la probabilidad de observar los datos (el alineamiento) dado un modelo evolutivo. Para cada sitio, el algoritmo de Felsenstein (1981) calcula la probabilidad de los estados observados en las especies actuales integrando sobre todos los posibles estados ancestrales mediante programación dinámica. El log-likelihood ($\ln L$) resume qué tan bien el árbol explica los datos: valores menos negativos indican mejor ajuste.

La búsqueda del árbol óptimo se realizó mediante el algoritmo heurístico Nearest-Neighbor Interchange (NNI) implementado en MEGA 12 con los siguientes parámetros: árbol inicial

generado por Neighbor-Joining.

El soporte estadístico de clados fue evaluado mediante bootstrap no paramétrico con 1000 réplicas. Para cada réplica, se generó un pseudo-alineamiento muestreando sitios con reemplazo (mismo número de sitios que el alineamiento original), se infirió el árbol ML usando el mismo modelo y algoritmo de búsqueda, y se registró la topología resultante. El porcentaje de bootstrap de cada clado representa la fracción de las 1000 réplicas donde ese clado apareció. Valores $\geq 70\%$ se interpretan como soporte moderado, $\geq 85\%$ como soporte fuerte, y $\geq 95\%$ como soporte muy fuerte. La generación de réplicas bootstrap empleó semilla de número aleatorio determinada por el reloj del sistema (no fijada manualmente), asegurando independencia entre corridas pero no reproducibilidad exacta de valores de bootstrap individuales (las topologías inferidas son reproducibles).

2.5 Reconstrucción de estados ancestrales

Una vez obtenidos los árboles de máxima verosimilitud, empleamos reconstrucción de estados ancestrales para inferir las secuencias nucleotídicas que existieron en nodos internos de la filogenia. Este análisis permite rastrear cambios evolutivos específicos: ¿cuándo ocurrió la mutación que inactivó SWS1? ¿Qué aminoácidos cambiaron en RH1 durante la adaptación acuática? MEGA 12 implementa reconstrucción por máxima verosimilitud marginal: para cada sitio del alineamiento y cada nodo ancestral, calcula la probabilidad de cada posible estado (A, C, G, T) dados las secuencias terminales, el árbol, y el modelo de sustitución. El estado más probable en cada sitio es reportado como la secuencia ancestral inferida.

Utilizamos el árbol de LWS como topología de referencia para las tres reconstrucciones porque: primero, LWS es el gen más largo (725 posiciones) y tiene buena resolución filogenética; segundo, las topologías de LWS, RH1 y SWS1 son altamente congruentes en todos los clados principales; y tercero, usar un árbol común permite comparar directamente patrones evolutivos entre genes. Los análisis generaron para cada gen una lista de todos los cambios nucleotídicos inferidos en cada rama del árbol, permitiendo cuantificar tasas evolutivas y detectar aceleraciones o desaceleraciones en linajes específicos.

2.6 Detección de pseudogenización

Para cada gen, evaluamos evidencia de pseudogenización (inactivación funcional) mediante inspección manual de alineamientos aplicando los siguientes criterios moleculares:

1. **Frameshifts:** Inserciones o deleciones (indels) cuya longitud no es múltiplo de tres nucleótidos, causando desplazamiento del marco de lectura y aparición de codones de

terminación prematuros downstream. Estos frameshifts fueron identificados mediante traducción conceptual de secuencias nucleotídicas a aminoácidos en MEGA 12 y verificación de mantención del marco +1 correcto desde el codón de inicio ATG.

2. **Codones de terminación prematuros (PTCs):** Presencia de codones stop (TAA, TAG, TGA) en posiciones no terminales que truncan la proteína antes del dominio C-terminal esperado. Detectados mediante traducción directa en los marcos de lectura posibles.
3. **Deleciones de regiones críticas:** Ausencia de segmentos extensos (>20 bp) correspondientes a regiones funcionalmente esenciales identificadas por homología con secuencias funcionales de artiodáctilos. Verificado mediante inspección visual del alineamiento múltiple.
4. **Delección del codón de inicio:** Ausencia del codón ATG que inicia la traducción, evaluado en secuencias donde la región 5' estaba disponible.

Un gen fue clasificado como **pseudogenizado** si presentaba al menos una de estas mutaciones inactivantes. Genes sin ninguna mutación inactivante detectable fueron clasificados como **potencialmente funcionales**, reconociendo que esta clasificación es conservadora.

Nuestro análisis se restringió a regiones exónicas y por tanto no puede detectar: (1) mutaciones en sitios de splicing (GT/AG en fronteras intrón-exón), (2) deleciones o mutaciones en regiones 5' UTR o 3' UTR, (3) mutaciones en promotores, enhancers u otros elementos reguladores. Estas categorías de mutaciones fueron documentadas por [Meredith et al. \[2013\]](#) mediante secuenciación de genes completos y son discutidas posteriormente al comparar resultados.

3 Resultados

3.1 Evolución integrada de las tres opsinas en cetáceos

La Figura 1 resume los patrones evolutivos de las tres opsinas visuales sobre la topología consenso de LWS. Este análisis integrado revela una pérdida progresiva de visión de color durante la transición terrestre-acuática, con tres patrones contrastantes: (1) pseudogenización universal de SWS1 mediante mutaciones independientes en Mysticeti y Odontoceti, (2) conservación estricta de RH1 con adaptación espectral en el ancestro cetáceo, y (3) conservación parcial de LWS con pérdida convergente en buceadores profundos extremos.

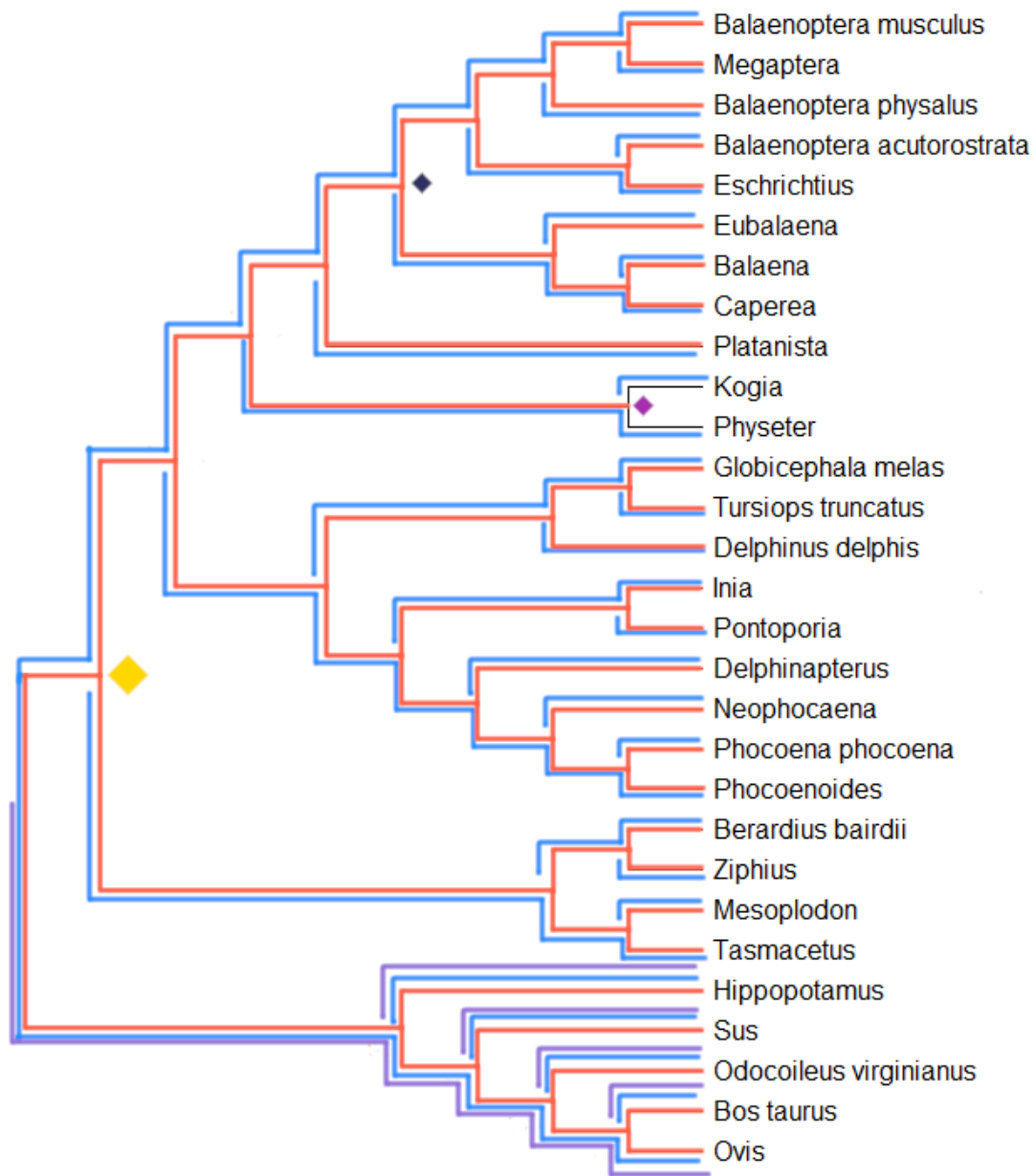


Figura 1: **Evolución integrada de opsinas visuales en cetáceos.** Árbol de máxima verosimilitud basado en LWS (modelo Tamura + Gamma, $\alpha = 0,38$, bootstrap 1000 réplicas) mostrando el estado funcional de las tres opsinas por linaje mediante coloración de ramas: azul (RH1 funcional), violeta (SWS1 funcional), rojo (LWS funcional). RH1 (azul) permanece estrictamente conservado en todos los cetáceos. SWS1 (violeta) está presente únicamente en artiodáctilos terrestres; todos los cetáceos han pseudogenizado este gen mediante mutaciones independientes (frameshift de 4 bp en Mysticeti, sustitución E113G en Odontoceti). LWS (rojo) se conserva en la mayoría de cetáceos pero está pseudogenizado en *Physeter macrocephalus* y *Kogia breviceps*. Marcadores: rombo amarillo (adaptación RH1 en ancestro cetáceo), rombo azul oscuro (inactivación SWS1 en Mysticeti), rombo morado (inactivación LWS en cachalotes).

3.2 Topologías filogenéticas y congruencia entre genes

Los tres genes recuperaron topologías altamente congruentes con soporte de bootstrap robusto en la mayoría de clados principales (Figura 2). El árbol de LWS, que usamos como referencia, resuelve Cetacea como monofilético (bootstrap 98 %) con Mysticeti y Odontoceti como grupos hermanos (divergencia ~ 34 Ma). Dentro de Mysticeti, Balaenidae (ballenas francas) emerge basal con Balaenopteroidea (rorcuales y ballena gris) más derivado. En Odontoceti, Physeteroidea (cachalotes) y Ziphiidae (zifios) no agrupan a pesar de ser ambos buceadores profundos, confirmando que el buceo extremo evolucionó convergentemente y no refleja relación filogenética cercana. Delphinoidea (delfines, marsopas, narval, beluga) forma un clado robusto (bootstrap >93 %) con relaciones internas bien resueltas.

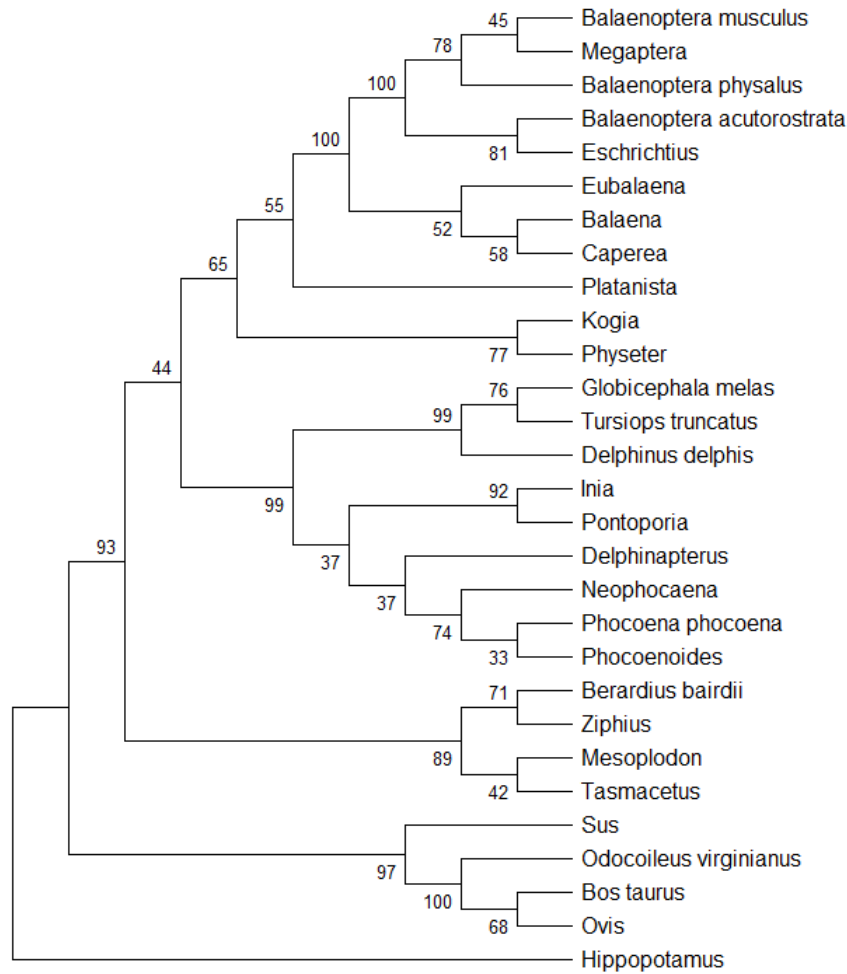


Figura 2: **Árbol de máxima verosimilitud de LWS.** Filogenia inferida mediante NNI heuristic bajo modelo Tamura + Gamma con cuatro categorías discretas ($\alpha = 0,38$, $\ln L = -2783,40$). Números en nodos indican porcentaje de bootstrap (1000 réplicas). Este árbol sirvió como topología de referencia para reconstrucciones ancestrales de los tres genes. La topología es congruente con filogenias publicadas de cetáceos y recupera todos los clados principales con soporte moderado a fuerte (bootstrap $\geq 70\%$). Alineamiento: 725 posiciones nucleotídicas, 29 taxa.

La topología de RH1 (Figura 3) es virtualmente idéntica a LWS en todos los clados mayores, con diferencias menores únicamente en ramas terminales de bajo soporte. SWS1 (Figura 4) muestra mayor ruido topológico con algunos nodos de soporte moderado (50-70%), lo cual es esperado dado que está pseudogenizado en todos los cetáceos: la liberación de restricciones selectivas permite acumulación de homoplasias (convergencias y reversiones) que introducen ruido filogenético. Sin embargo, los clados principales se recuperan consis-

tentamente. Esta congruencia valida el uso del árbol de LWS como topología de referencia para reconstrucciones ancestrales y confirma que los tres genes comparten historia evolutiva común sin evidencia de conflicto significativo.

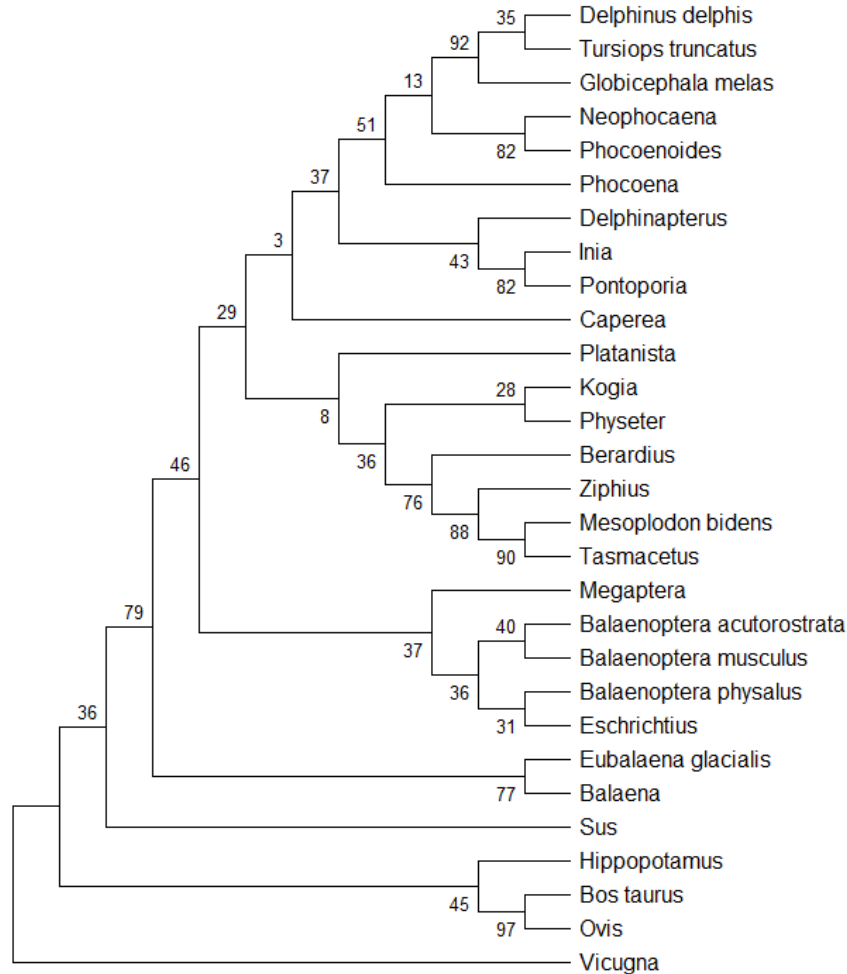


Figura 3: **Árbol de máxima verosimilitud de RH1**. Filogenia inferida bajo modelo Tamura-Nei + Gamma ($\alpha = 0,12$, $\ln L = -1273,07$). El valor extremadamente bajo de α indica heterogeneidad extrema de tasas evolutivas entre sitios, consistente con selección purificadora estricta manteniendo función escotópica esencial. La topología es congruente con LWS en todos los clados principales. Números en nodos: porcentaje de bootstrap (1000 réplicas). Alineamiento: 368 posiciones nucleotídicas, 29 taxa.

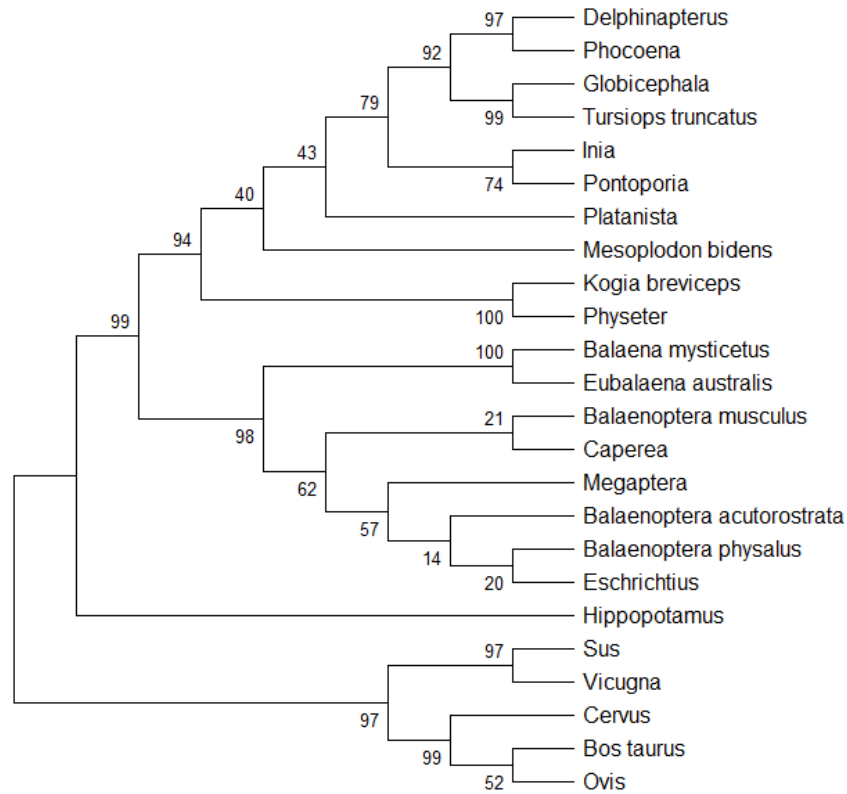


Figura 4: **Árbol de máxima verosimilitud de SWS1**. Filogenia inferida bajo modelo Tamura + Gamma ($\alpha = 0,76$, $\ln L = -3748,78$). El valor moderado de α indica menor heterogeneidad de tasas comparado con RH1 y LWS, consistente con relajación de restricciones selectivas tras pseudogenización universal en cetáceos. Algunos nodos muestran soporte bootstrap moderado (50-70 %) debido a acumulación de homoplasias, pero los clados principales son congruentes con LWS y RH1. Números en nodos: porcentaje de bootstrap (1000 réplicas). Alineamiento: 962 posiciones nucleotídicas, 24 taxa.

3.3 Evolución de SWS1: pseudogenización universal mediante mutaciones independientes

El análisis de SWS1 confirma inequívocamente el hallazgo central de [Meredith et al. \[2013\]](#): este gen está pseudogenizado en todos los cetáceos, tanto mysticetos como odontocetos. Sin embargo, la pseudogenización ocurrió mediante mecanismos moleculares diferentes en ambos linajes, demostrando convergencia evolutiva. En Mysticeti detectamos un frameshift de cuatro pares de bases en el exón 1 que desplaza el marco de lectura y genera codones de terminación prematuros *downstream*, truncando la proteína. Esta mutación está presente en todos los mysticetos analizados (*Balaena*, *Eubalaena*, *Caperea*, *Balaenoptera*, *Megaptera*, *Eschrichtius*), sugiriendo que ocurrió una sola vez en el ancestro común del grupo.

En Odontoceti, la inactivación ocurre mediante una mutación puntual diferente: la sustitución E113G (ácido glutámico por glicina en la posición 113). Este residuo es absolutamente crítico para la función de SWS1 porque forma la base de Schiff, el enlace covalente entre la proteína y el cromóforo 11-*cis*-retinal. El ácido glutámico proporciona el grupo carboxilo necesario para estabilizar esta unión; su reemplazo por glicina, que carece de cadena lateral funcional, imposibilita la unión del cromóforo y por tanto elimina completamente la capacidad de absorber luz. Esta mutación aparece en todos los odontocetos sin excepción.

La existencia de mecanismos inactivantes diferentes (frameshift vs mutación puntual funcional) demuestra que la pseudogenización no ocurrió en el ancestro común de Cetacea sino independientemente en los ancestros de Mysticeti y Odontoceti después de su divergencia. Esta conclusión es reforzada por *Hippopotamus amphibius*, el grupo hermano viviente de cetáceos, que retiene SWS1 completamente funcional sin frameshifts ni mutaciones inactivantes. La cronología implica que durante el Eoceno medio (~50 Ma), cuando el linaje cetáceo emergió, SWS1 aún era funcional; solo después de la divergencia Mysticeti-Odontoceti en el Oligoceno (~34 Ma), ambos grupos perdieron independientemente este gen.

La pérdida universal de SWS1 tiene implicaciones directas para la percepción visual: los cetáceos han perdido completamente la capacidad de discriminar longitudes de onda cortas (UV-violeta) del resto del espectro. Esta pérdida es adaptativa al ambiente acuático porque la luz UV es fuertemente atenuada por el agua y virtualmente ausente más allá de unos pocos metros de profundidad. Mantener SWS1 funcional en estas condiciones no proporcionaría ventaja selectiva y podría incluso ser costoso metabólicamente. La selección natural favorece inactivación génica, y una vez que ocurre la primera mutación deletérea (frameshift en mysticetos, E113G en odontocetos), la relajación de restricciones selectivas permite acumulación de mutaciones adicionales por deriva. La convergencia (dos linajes alcanzando el mismo resultado por caminos moleculares diferentes) sugiere presión selectiva fuerte y con-

sistente operando sobre ambos grupos: el ambiente acuático azul eliminó el valor adaptativo de detectar UV-violeta.

3.4 Evolución de RH1: conservación estricta y adaptación al espectro azul

En marcado contraste con SWS1, RH1 (rodopsina de bastones) permanece estrictamente conservado y funcional en todos los cetáceos sin excepción. La inspección exhaustiva de secuencias no reveló frameshifts, codones stop prematuros, deleciones de exones, ni mutaciones en sitios críticos conocidos como K296 (contraion del cromóforo protonado) o el par de cisteínas C110-C187 que forma el puente disulfuro estructural. Todos los cetáceos y artiodáctilos poseen RH1 con marco de lectura abierto intacto desde el codón de inicio hasta el de terminación.

La conservación de RH1 no es pasiva sino que refleja selección purificadora activa manteniendo función esencial. La rodopsina media visión escotópica (baja luminosidad) en bastones retinales, permitiendo a los cetáceos navegar, forrajear y evitar depredadores en condiciones de luz escasa. Muchos odontocetos bucean regularmente a la zona mesopelágica (200-1000 m) o incluso batipelágica (>1000 m) donde la luz solar está efectivamente ausente. En estas profundidades, la única fuente lumínica es bioluminiscencia emitida por organismos marinos (peces, calamares, plancton) con espectro típicamente centrado en ~ 470 nm (azul). RH1 permite detectar estas señales bioluminiscentes débiles, críticas para localizar presas y coordinar comportamiento social en oscuridad.

Más allá de simple conservación, RH1 ha experimentado adaptación molecular fina al espectro acuático. Trabajos previos [Fasick et al., 2011] demostraron que RH1 en cetáceos ha sufrido un *blue-shift* espectral: mientras que en mamíferos terrestres la longitud de onda de máxima absorción (λ_{max}) es ~ 500 nm, en cetáceos se ha desplazado a ~ 484 nm, optimizando absorción en el rango azul dominante bajo el agua. Este desplazamiento es causado por dos sustituciones aminoacídicas específicas: D83N (ácido aspártico por asparagina en posición 83) y A292S (alanina por serina en posición 292). Nuestra reconstrucción ancestral confirma que ambas mutaciones ocurrieron en la rama conducente al ancestro común de todos los cetáceos, antes de la divergencia Mysticeti-Odontoceti, sugiriendo que fueron entre las primeras adaptaciones al ambiente acuático. El ancestro artiodáctilo retiene el estado ancestral D83 y A292, mientras que el ancestro cetáceo ya posee N83 y S292.

3.5 Evolución de LWS: conservación parcial y pérdida en buceadores profundos

Los resultados para LWS son más matizados y revelan tanto conservación como pseudogenización selectiva. La mayoría de cetáceos analizados presentan LWS aparentemente funcional sin frameshifts evidentes ni codones stop prematuros. Esto incluye todos los rorcuales (*Balaenoptera musculus*, *B. physalus*, *B. acutorostrata*, *Megaptera novaeangliae*, *Eschrichtius robustus*), todos los delfines oceánicos y marsopas (*Tursiops*, *Delphinus*, *Globicephala*, *Phocoena*, *Neophocaena*, *Phocoenoides*, *Delphinapterus*, *Monodon*), delfines de río (*Inia*, *Pontoporia*), la mayoría de zifios (*Ziphius*, *Berardius*, *Tasmacetus*), y *Platanista*. Estos taxa representan aproximadamente el 80% de las especies analizadas.

Sin embargo, detectamos evidencia clara de pseudogenización en dos especies de cachalotes: *Physeter macrocephalus* presenta delecciones de 28 pares de bases más una delección adicional de 1 par de bases en regiones correspondientes al exón 5, ambas causando frameshift y pérdida total de función. *Kogia breviceps* muestra una delección de aproximadamente 44 pares de bases en la región 5' del exón 1, posiblemente incluyendo o precediendo el codón de inicio ATG. Ambas especies son buceadores profundos extremos: *Physeter* realiza buceos regulares a más de 2000 metros de profundidad, *Kogia* supera los 1000 metros. A estas profundidades la luz solar está completamente ausente excepto por bioluminiscencia extremadamente débil. La pérdida de LWS en estos linajes implica monocromatismo puro de bastones, donde la visión depende exclusivamente de RH1.

En *Balaena mysticetus* (ballena franca de Groenlandia) observamos una región extensa (~80 bp) marcada como nucleótidos no determinados en el alineamiento. Esto podría representar delección real (pseudogenización) o artefacto de secuenciación incompleta. Sin evidencia adicional no podemos confirmar el estado funcional de LWS en esta especie.

Es importante notar que Meredith et al. [2013] reportaron pseudogenización adicional de LWS en Balaenopteroidea (rorcuales), *Mesoplodon bidens* (un zifio), y Balaenidae (ballenas francas), mutaciones que nosotros no detectamos. Esta discrepancia no representa error sino diferencia metodológica en cobertura de secuencias: Meredith secuenció exones completos más intrones, regiones 5' no traducidas, y sitios de splicing, mientras que nuestro análisis se limitó a exones. Las mutaciones inactivantes reportadas por Meredith incluyen una delección de 22 bp en la región 5' UTR que elimina parte del codón de inicio ATG en Balaenopteroidea (invisible en nuestro alineamiento que comienza después del ATG), mutaciones en sitios de splicing como AG→GG en fronteras intrón-exón de Balaenidae (no evaluables sin secuencias intrónicas), y una inserción de 4 bp en exón 2 de *Mesoplodon* (posiblemente en región no incluida en nuestro alineamiento o en individuo diferente). Esta limitación metodológica es

reconocida explícitamente: análisis basados exclusivamente en exones pueden subestimar la prevalencia real de pseudogenización.

4 Discusión

4.1 Pérdida de visión de color como adaptación acuática

Los patrones evolutivos observados en los tres genes revelan una progresión clara hacia pérdida de visión de color en cetáceos. El ancestro artiodáctilo terrestre poseía visión dicromática típica de mamíferos (RH1 + SWS1 + LWS funcionales), permitiendo discriminar entre longitudes de onda cortas (violeta) y largas (amarillo-rojo) además de detectar luz en condiciones escotópicas. Durante la transición al ambiente acuático, esta capacidad se erosionó progresivamente. Primero, SWS1 fue eliminado universalmente en todos los cetáceos (aunque mediante mutaciones independientes en mysticetos y odontocetos), reduciendo el sistema a monocromatismo L donde solo persiste discriminación entre bastones (RH1) y un tipo de cono (LWS). Finalmente, en buceadores profundos extremos como *Physeter* y *Kogia*, incluso LWS se perdió, resultando en monocromatismo puro de bastones donde toda la visión depende exclusivamente de RH1.

Esta secuencia no es aleatoria sino que refleja un *trade-off* fundamental entre sensibilidad lumínica y discriminación cromática. En ambientes de baja luminosidad, la capacidad de detectar fotones escasos (sensibilidad) es más valiosa que distinguir sus longitudes de onda (color). Los bastones, que expresan RH1, están optimizados para sensibilidad: tienen tiempo de integración largo (~ 100 ms vs ~ 10 ms en conos), mayor área de captura fotónica, y menor ruido oscuro. Sin embargo, la discriminación de color requiere comparar señales de múltiples tipos de fotorreceptores, lo cual divide los fotones disponibles y reduce la relación señal-ruido. A profundidades extremas donde los fotones son extraordinariamente escasos, mantener múltiples tipos de conos es contraproducente: mejor dedicar todos los recursos a maximizar sensibilidad mediante bastones.

La pérdida universal de SWS1 es particularmente comprensible desde esta perspectiva. La luz UV-violeta (300-400 nm) que detecta SWS1 es fuertemente absorbida por agua y virtualmente ausente más allá de unos pocos metros de profundidad. Un cetáceo que bucee incluso a profundidades moderadas (~ 50 m) nunca experimentará niveles de UV-violeta suficientes para activar SWS1. Mantener el gen funcional en estas condiciones no solo carece de beneficio sino que impone costos: energía invertida en sintetizar y mantener proteína no funcional, fotorreceptores dedicados a rango espectral inexistente. La selección natural favorece inactivación génica, y una vez que ocurre la primera mutación deletérea (frameshift en mys-

ticetos, E113G en odontocetos), la relajación de restricciones selectivas permite acumulación de mutaciones adicionales por deriva.

4.2 Conservación estricta de RH1 y adaptación espectral

El contraste dramático entre SWS1 (universalmente pseudogenizado) y RH1 (universalmente conservado) ilustra que no toda pérdida de opsinas es adaptativa, sino solo aquellas que se vuelven superfluas. RH1 media visión escotópica, absolutamente esencial para cetáceos que operan en condiciones de luz marginal o nula. Incluso especies costeras que pasan tiempo en aguas superficiales iluminadas deben poder navegar durante la noche, bucear a profundidades donde la luz se atenúa, o forrajear en aguas turbias. Para buceadores profundos como *Physeter*, *Kogia*, o zifios, RH1 no es opcional: es el único sistema visual funcional en las profundidades donde pasan la mayor parte de su tiempo activo.

La adaptación molecular de RH1 mediante el *blue-shift* D83N/A292S es particularmente elegante. Al desplazar λ_{\max} de ~ 500 nm (óptimo para luz ambiental terrestre de amplio espectro) a ~ 484 nm (óptimo para espectro azul acuático), RH1 maximiza captura de fotones en el rango dominante disponible bajo el agua. Este desplazamiento no es trivial: cambios de 15-20 nm en λ_{\max} pueden representar diferencias sustanciales en sensibilidad efectiva dependiendo del espectro disponible. Que estas mutaciones ocurrieran en el *stem* Cetacea, antes de la diversificación mayor del grupo, sugiere que fueron críticas para la invasión exitosa del nicho acuático.

4.3 Interpretación de la pseudogenización convergente de LWS

La pérdida de LWS en *Physeter* y *Kogia* representa el extremo del continuum de reducción visual en cetáceos. Mientras que la mayoría de especies retienen alguna capacidad de visión fotópica (mediada por LWS en condiciones de luz alta), estos buceadores profundos han eliminado incluso esta última conexión con discriminación espectral. A las profundidades donde operan (>1000 - 2000 m), la luz ambiental es efectivamente cero; la única fuente lumínica es bioluminiscencia débil de organismos marinos, típicamente en rango azul (~ 470 nm) bien cubierto por RH1. En este contexto, mantener conos que expresan LWS (sensibles a ~ 530 - 560 nm, fuera del rango bioluminiscente) no proporciona ventaja y consume recursos metabólicos. La selección favorece monocromatismo puro.

Sin embargo, es crucial notar que otros buceadores profundos no han necesariamente perdido LWS. Los zifios (Ziphiidae) bucean a profundidades comparables a cachalotes, pero la mayoría de especies analizadas (*Ziphius*, *Berardius*, *Tasmacetus*) parecen retener LWS funcional según nuestro análisis, aunque Meredith reporta pseudogenización en *Mesoplodon bidens*.

Esto sugiere que el buceo profundo *per se* no determina automáticamente pérdida de LWS; otros factores modulan la presión selectiva. Posibilidades incluyen diferencias en estrategias de forrajeo (caza visual vs ecolocalización pura), tiempo relativo pasado a diferentes profundidades (algunos zifios pueden forrajear también en zonas iluminadas), o historia evolutiva (tiempo transcurrido desde invasión del nicho profundo). La convergencia parcial (algunos buceadores profundos pierden LWS, otros no) es común en evolución y refleja que el fenotipo óptimo depende de múltiples variables ecológicas y fisiológicas, no solo de un eje ambiental (profundidad).

4.4 Limitaciones metodológicas y comparación con Meredith et al.

La principal limitación de nuestro estudio es la cobertura de secuencias restringida a exones. Meredith et al. [2013] secuenciaron genes completos incluyendo intrones, regiones 5' y 3' no traducidas, y sitios flanqueantes, permitiéndoles detectar mutaciones inactivantes que nosotros no podemos evaluar: deleciones de codón de inicio (fuera de nuestro alineamiento), mutaciones en sitios de splicing (requieren secuencias intrónicas), y mutaciones en promotores o *enhancers* (requieren secuencias reguladoras). Las discrepancias entre nuestros resultados y los de Meredith para LWS en Balaenopteroidea, *Mesoplodon* y Balaenidae se explican completamente por esta diferencia metodológica. Esto no invalida nuestros hallazgos para objetivos filogenéticos (reconstruir relaciones evolutivas, identificar patrones generales), pero sí limita conclusiones sobre funcionalidad génica en especies específicas.

5 Conclusiones

Este estudio confirma mediante análisis filogenético independiente los hallazgos centrales de Meredith et al. [2013] sobre evolución de opsinas en cetáceos, demostrando pérdida progresiva de visión de color adaptativa al ambiente acuático. SWS1 está universalmente pseudogenizado en cetáceos mediante mutaciones independientes en mysticetos (frameshift) y odontocetos (E113G), reflejando eliminación del rango UV-violeta ausente bajo el agua. RH1 permanece estrictamente conservado con adaptaciones moleculares específicas (*blue-shift* D83N/A292S) optimizando visión escotópica para espectro azul acuático y bioluminiscencia. LWS persiste funcional en la mayoría de cetáceos pero ha sido convergentemente inactivado en buceadores profundos extremos (*Physeter*, *Kogia*), alcanzando monocromatismo puro de bastones. Las topologías filogenéticas son altamente congruentes con filogenias publicadas, validando robustez del análisis. Discrepancias parciales con Meredith et al. respecto a LWS se explican por diferencias metodológicas legítimas (cobertura solo de exones vs genes

completos), ilustrando que análisis basados exclusivamente en regiones codificantes pueden subestimar pseudogenización real. En conjunto, estos patrones demuestran un *trade-off* evolutivo fundamental entre sensibilidad lumínica y discriminación cromática, donde el ambiente acuático de baja luminosidad favorece maximizar la primera a expensas de la segunda.

Referencias

- Fasick, J. I., Cronin, T. W., Hunt, D. M., & Robinson, P. R. (2011). The visual pigments of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *Visual Neuroscience*, 28(4), 275-283.
- Levenson, D. H., & Dizon, A. E. (2003). Genetic evidence for the ancestral loss of short-wavelength-sensitive cone pigments in mysticete and odontocete cetaceans. *Proceedings of the Royal Society B*, 270(1516), 673-679.
- Meredith, R. W., Gatesy, J., Cheng, J., & Springer, M. S. (2013). Rod monochromacy and the coevolution of cetacean retinal opsins. *PLoS Genetics*, 9(4), e1003432.
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022-3027.
- Thewissen, J. G. M., Cooper, L. N., Clementz, M. T., Bajpai, S., & Tiwari, B. N. (2007). Whales originated from aquatic artiodactyls in the Eocene epoch of India. *Nature*, 450(7173), 1190-1194.
- Warrant, E. J., & Locket, N. A. (2004). Vision in the deep sea. *Biological Reviews*, 79(3), 671-712.
- Yokoyama, S. (2008). Evolution of dim-light and color vision pigments. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 9, 259-282.