Construcción de árboles filogenéticos

Dr. Eduardo A. Rodríguez Tello

Cinvestav-Tamaulipas

23 de julio del 2013

Procedimiento para construir árboles filogenéticos

- Recordemos que el procedimiento para construir árboles filogenéticos se divide en 5 pasos:
  1. Elección de los marcadores moleculares
  2. Alineamiento múltiple de secuencias
  3. Elección de un modelo de evolución
  4. Determinación de un método de construcción de árboles
  5. Verificación de la fiabilidad del árbol construido

Elección de los marcadores moleculares

- Para la construcción de árboles filogenéticos moleculares, se pueden utilizar secuencias de nucleótidos o de proteínas
- La elección de los marcadores moleculares es una cuestión importante porque puede hacer una gran diferencia en la obtención de un árbol correcto
- La decisión de utilizar las secuencias de nucleótidos o proteínas depende de las propiedades de las secuencias y los propósitos del estudio
- Es recomendable utilizar secuencias de nucleótidos, que evolucionan más rápidamente que las proteínas, cuando se estudian organismos estrechamente relacionados (e.g. regiones no codificantes de ADN mitocondrial)

Elección de los marcadores moleculares

- Por otra parte para estudiar la evolución de grupos de organismos más ampliamente divergentes es aconsejable utilizar secuencias de nucleótidos con lenta evolución (e.g. ARN ribosomal o secuencias de proteínas)
- Si la relaciones filogenéticas que se están analizando están en el nivel más profundo, por ejemplo entre bacterias y eucariotas, lo adecuado es usar secuencias de proteínas conservadas

Alineamiento

- El segundo paso en el análisis filogenético es construir el alineamiento de secuencias
- Es probablemente el paso más crítico del procedimiento debido a que éste establece las correspondencias posicionales en la evolución
- Sólo el alineamiento correcto produce inferencias filogenéticas correctas

Alineamiento

- Por esta razón es importante utilizar los métodos del estado del arte para alineamiento múltiple de secuencias como T-Coffee
- Se recomienda obtener el resultado del alineamiento de varias fuentes y compararlos cuidadosamente para identificar el mejor

Modelos de evolución

- Una forma simple de medir la divergencia entre 2 secuencias es contar el número de substituciones en un alineamiento (distancia entre secuencias)
- Sin embargo, el número de substituciones observadas pueden no reflejar los verdaderos eventos evolutivos que ocurrieron
- Cuando una mutación es observada, e.g. que A sea reemplazado con C, el nucleótido pudo haber tenido en realidad varios pasos intermedios: $A \rightarrow T \rightarrow G \rightarrow C$
- Del mismo modo, podría haber ocurrido una mutación inversa, donde se dan cambios como $G \rightarrow C \rightarrow G$
- Además, un nucleótido idéntico observado en el alineamiento puede deberse a mutaciones en paralelo en ambas secuencias

Modelos de evolución

- Todo lo anterior dificulta la estimación de las verdaderas distancias evolutivas entre las secuencias estudiadas
- Este efecto es conocido con el nombre de *homoplasia*, la cual si no es corregida puede llevar a la construcción de árboles incorrectos
- Para corregir la homoplasia se requieren modelos estadísticos (*modelos de evolución*) para inferir las verdaderas distancias evolutivas entre secuencias

Modelos de evolución

- Algunos de los modelos de evolución más conocidos son:
  - El modelo Jukes–Cantor
  - El modelo Kimura
- El **modelo Jukes–Cantor** es el más simple de los dos y asume que todos los nucleótidos son substituidos con igual probabilidad

Modelos de evolución

- Este modelo emplea una función logarítmica para derivar las distancias evolutivas que incluyen cambios ocultos:

$$d_{AB} = -(3/4)\ln[1 - (4/3)p_{AB}]$$

- Donde d_{AB} es la distancia evolutiva entre las secuencias A y B, y p_{AB} es la distancia observada medida como la proporción de substituciones sobre la toda la longitud del alineamiento

- Por ejemplo, si un alineamiento de las secuencias A y B tiene 20 nucleótidos de largo y 6 pares son diferentes, la secuencia difiere en 30 %, i.e., tienen una distancia observada de 0.3:

$$d_{AB} = -(3/4)\ln[1 - (4/3 \times 0.3)] = 0.38$$

Modelos de evolución

- El **modelo Kimura** es más sofisticado (realista) ya que considera diferentes las tasas de mutación para las *transiciones* (substitución de una purina por otra o una pirimidinas por otra) y para las *transversiones* (substitución de una purina por una pirimidina o vice versa)

- De acuerdo a este modelo las transiciones ocurren más frecuentemente que las transversiones, lo cual provee mejores estimaciones de la distancia evolutiva

$$d_{AB} = -(1/2)\ln(1 - 2p_{ti} - p_{tv}) - (1/4)\ln(1 - 2p_{tv})$$

- Donde p_{ti} es la frecuencia observada de transición y p_{tv} la frecuencia de transversión

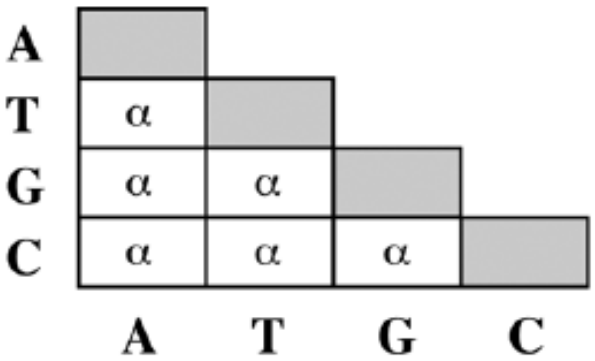
Modelos de evolución

- Por ejemplo, supongamos que las secuencias A y B difiere en 30 %, donde 20 % de los cambios corresponden a transiciones y 10 % a transversiones
- Usando el modelo Kimura tenemos que la distancia evolutiva d_{AB} entre las secuencias A y B puede ser calculado así:

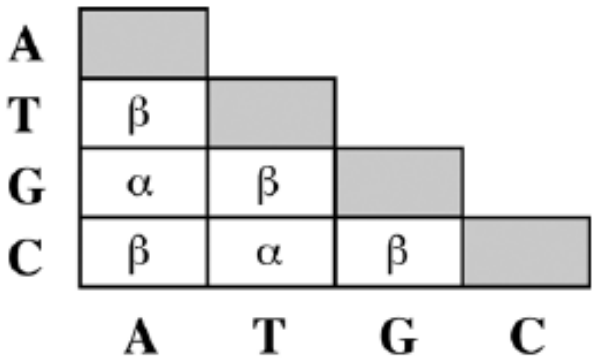
$$d_{AB} = -(1/2)\ln(1 - 2 \times 0.2 - 0.1) - (1/4)\ln(1 - 2 \times 0.1) = 0.40$$

Modelos de evolución

- Comparación entre los modelos Jukes–Cantor y Kimura



Jukes-Cantor model



Kimura model

Modelos de evolución

- Algunos otros modelos evolutivos más complejos: TN93, HKY, y GTR
- Toman en cuenta más parámetros para realizar los cálculos
- Sin embargo, normalmente no son usados en la práctica (cálculos complicados, alta variabilidad del resultado)

Modelos de evolución

- Para secuencias de proteínas, se emplean las matrices de substitución de aminoácidos: PAM o JTT
- También existen variantes de los modelos Jukes–Cantor y Kimura para proteínas
- Por ejemplo, el modelo Kimura utiliza la siguiente fórmula:

$$d = -\ln(1 - p - 0.2p^2)$$

- Donde p es la distancia observada entre dos secuencias

Introducción

- Como hemos visto las verdaderas distancias de evolución entre secuencias pueden ser calculadas a partir de las distancias observadas después de una corrección con algún modelo evolucionario
- Las distancias evolutivas calculadas pueden ser usadas para construir una matriz de distancias entre todos los pares de taxones
- Basado en los puntajes de distancias entre pares de la matriz, es posible construir un árbol filogenético para todos los taxones involucrados

Introducción

- Los algoritmos basados en distancias para construir árboles filogenéticos pueden ser subdivididos:
  - Métodos basados en agrupamiento
  - Métodos basados en optimalidad
- Los **algoritmos basados en agrupamiento** calculan el árbol usando una matriz de distancias e iniciando por los pares de secuencias más similares
- El método de Pares No Ponderados Utilizando Media Aritmética (*unweighted pair group method using arithmetic average*, UPGMA) y de Unión de Vecinos son ejemplos de este tipo de algoritmos

Introducción

- Los **algoritmos basados en optimalidad** comparan muchas topologías alternativas de árboles y seleccionan el que tenga el mejor ajuste entre las distancias estimadas en el árbol y las distancias evolutivas reales
- Esta categoría incluye los algoritmos Fitch-Margoliash y de Evolución Mínima

Métodos basados en agrupamiento

- El método más simple **basado en agrupamiento** es **UPGMA** (*unweighted pair group method using arithmetic average*)
- Construye un árbol por un método de agrupamiento secuencial
- Dada una matriz de distancias, éste inicia mediante la agrupación de los dos taxones con la menor distancia
- Un nodo interior es colocado en el punto medio entre ellos y se crea una matriz reducida al considerar el nuevo grupo como un único taxón

Métodos basados en agrupamiento

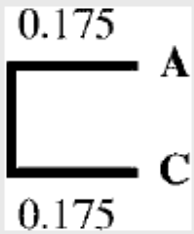
- Las distancias entre este nuevo taxón compuesto y el resto de los taxones se calculan para crear dicha matriz
- El mismo proceso de agrupamiento se repite y otra nueva matriz reducida se crea
- La iteración continúa hasta que todos los taxones se colocan en el árbol
- El último taxón añadido se considera como el grupo fuera lo que produce un árbol con raíz

Métodos basados en agrupamiento

- Ejemplo de construcción de un árbol filogenético usando el método UPGMA (tomado del libro de Xiong)

	A	B	C
B	0.40		
C	0.35	0.45	
D	0.60	0.70	0.55

1. Using a distance matrix involving four taxa, A, B, C, and D, the UPGMA method first joins two closest taxa together which are A and C (0.35 in grey). Because all taxa are equidistant from the node, the branch length for A to the node is AC/2 = 0.35/2 = 0.175.

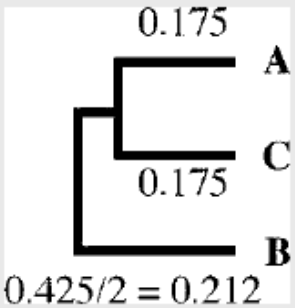


Métodos basados en agrupamiento

2. Because A and C are joined into a cluster, they are treated as one new composite taxon, which is used to create a reduced matrix. The distance of A-C cluster to every other taxa is one half of a taxon to A and C, respectively. That means that the distance of B to A-C is (AB + BC)/2; and that of D to A-C is (AD + CD)/2.

	A-C	B
B	$\frac{0.4 + 0.45}{2} = 0.425$	
D	$\frac{0.55 + 0.6}{2} = 0.575$	0.70

3. In the newly reduced-distance matrix, the smallest distance is between B and A-C (in grey), which allows the grouping of B and A-C to create a three-taxon cluster. The branch length for the B is one half of B to the A-C cluster.

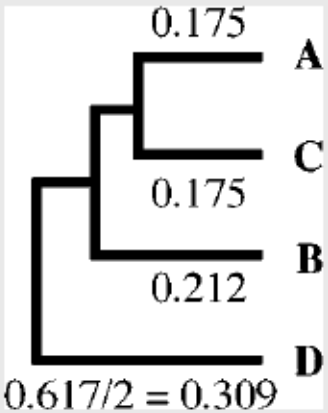


Métodos basados en agrupamiento

4. When B and A-C are grouped and treated as a single taxon, this allows the matrix to reduce further into only two taxa, D and B-A-C. The distance of D to the composite taxon is the average of D to every single component which is (BD + AD + CD)/3.

	B-A-C
D	$\frac{0.7 + 0.6 + 0.55}{3} = 0.617$

5. D is the last branch to add to the tree, whose branch length is one half of D to B-A-C.



Métodos basados en agrupamiento

6. Because distance trees allow branches to be additive, the resulting distances between taxa from the tree path can be used to create a distance matrix. Obviously, the estimated distances do not match the actual evolutionary distances shown, which illustrates the failure of UPGMA to precisely reflect the experimental observation.

	A	B	C
B	0.42		
C	0.35	0.42	
D	0.62	0.62	0.62

Métodos basados en optimalidad

- Estos métodos, a diferencia de los basados en agrupamiento, tienen un algoritmo bien definido para comparar todas las posibles topologías de árboles a fin de seleccionar la que mejor se ajuste a la matriz de distancias evolutivas real
- Basados en los diferentes criterios de optimalidad, hay dos tipos de algoritmos: Fitch-Margoliash y de Evolución Mínima
- Una clara desventaja de este tipo de algoritmos son los altos tiempos de cómputo que demandan debido a la búsqueda exhaustiva que realizan

Métodos basados en optimalidad

- El método **Fitch–Margoliash** (FM) selecciona el mejor árbol entre todos los posibles basándose en la mínima desviación entre las distancias calculadas en la totalidad de las ramas del árbol y las distancias del conjunto de datos original
- Inicia por agrupar aleatoriamente 2 taxones en un nodo y crear 3 ecuaciones para describir las distancias
- Después resuelve algebraicamente las 3 ecuaciones para longitudes de rama desconocidas
- Con ayuda de este grupo de 2 taxones se crea una nueva matriz reducida

Métodos basados en optimalidad

- Este proceso itera hasta que el árbol se forma completamente
- El método busca todas las posibles topologías y selecciona aquella que tiene la menor desviación cuadrática entre las distancias reales y las longitudes calculadas de las ramas
- El criterio de optimalidad es expresado con la fórmula:

$$E = \sum_{i=1}^{T-1} \sum_{j=j+1}^{T} \frac{(d_{ij} - p_{ij})^2}{d_{ij}^2} \quad (1)$$

- Donde E es el error del árbol estimado, T es el número de taxones, d_{ij} es la distancia en el conjunto de datos original entre los taxones i, j y p_{ij} es la longitud de la rama correspondiente

Métodos basados en optimalidad

- Métodos basados en distancias
  - Ventaja: habilidad para hacer uso de diferentes modelos de substitución para corregir las distancias evolutivas
  - Desventaja: La información real de las secuencia se pierde cuando todas las variaciones son reducidas a un único valor, impidiendo la inferencia de secuencias ancestro en los nodos internos

3 Métodos basados en caracteres

- Introducción
- Máxima parsimonia
- Construcción del árbol filogenético con MP
- Planteamiento formal del problema de MP
- Trabajo relacionado
- Parsimonia ponderada
- Métodos de búsqueda en árboles
- Ventajas y desventajas
- Atracción de ramas largas
- Máxima verosimilitud
- Construcción del árbol filogenético con MV

Introducción

- Los métodos basados en caracteres (también llamados métodos discretos) están basados directamente en el análisis de los caracteres que forman las secuencias y no de las distancias entre pares de éstas
- Estos métodos cuentan los eventos de mutación acumulados en las secuencias y pueden por lo tanto eliminar la perdida de información que se da cuando los caracteres son transformados a distancias
- Esta preservación de información de los caracteres significa que la dinámica evolutiva de cada uno de ellos puede ser estudiada

Introducción

- Adicionalmente, también es posible inferir secuencias de ancestros
- Los dos métodos basados en caracteres más populares son:
  - Máxima Parsimonia (MP)
  - Máxima Verosimilitud (MV)

3 Métodos basados en caracteres

Máxima parsimonia

- El método de MP selecciona el árbol que tiene el mínimo número de cambios evolutivos, i.e., el árbol cuyas ramas tengan promedio la mínima longitud
- Se basa en el principio conocido como **Navaja de Occam** (*Occam's razor*) formulado por William Ockham en el siglo XIV
- Este principio hace referencia a un tipo de razonamiento basado en una premisa muy simple: en igualdad de condiciones la solución más sencilla es probablemente la correcta
- Esto es porque la solución más simple requiere el menor número de suposiciones y de operaciones lógicas

Máxima parsimonia

- Para el análisis filogenético, la parsimonia es una buena suposición
- Siguiendo este principio, un árbol con el menor número de substituciones es probablemente la mejor opción para explicar las diferencias entre los taxones estudiados
- Esta perspectiva se justifica por el hecho de que los cambios evolutivos que suceden dentro de lapsos de tiempo cortos son relativamente raros

Máxima parsimonia

- Esto implica que un árbol con cambios mínimos es muy probable que sea una buena estimación del verdadero árbol
- Al minimizar los cambios, el método minimiza el ruido filogenético debido a la homoplasia (cambio evolutivo paralelo que hace que dos organismos presenten un mismo carácter adquirido independientemente) y a la evolución independiente

3 Métodos basados en caracteres

Construcción del árbol filogenético con MP

- La construcción del árbol filogenético de MP funciona buscando todas las posibles topologías de árboles y reconstruyendo secuencias de ancestros que requieren el mínimo número de cambios evolutivos a las secuencias actuales
- Para ahorrar tiempo de cómputo, sólo un pequeño número de sitios, que tienen información filogenética importante, son usados en la determinación del árbol
- Estos sitios son llamados *sitios informativos*, los cuales son definidos como sitios que tienen al menos dos tipos diferentes de caracteres, cada uno ocurriendo al menos dos veces

Construcción del árbol filogenético con MP

- Ejemplo de extracción de sitios informativos

taxa \ sites	1	2	3	4	5	6	7	8
I	A	A	T	T	A	G	C	T
II	G	G	T	C	G	T	A	G
III	A	A	T	G	C	G	C	T
IV	A	G	T	A	A	G	C	A
V	A	C	T	T	C	G	C	G
VI	A	C	A	T	G	G	C	A

Construcción del árbol filogenético con MP

- Los sitios informativos son los que pueden a menudo ser explicados median una topología de árbol única
- Los sitios no-informativos son constantes o tienen cambios que ocurren una sola vez
- Los sitios constantes obviamente no son útiles para evaluar diferentes topologías
- Los sitios con cambios ocurriendo una sola vez tampoco son útiles porque pueden ser explicados por múltiples topologías
- Por esta razón los sitios no-informativos son desechados en el proceso de construcción de un árbol filogenético de MP

Construcción del árbol filogenético con MP

- Una vez que los sitios informativos son identificados y los no-informativos son descartados, el mínimo número de substituciones en cada sitio informativo es calculado para una topología dada
- El número total de cambios en todos los sitios informativos son sumados para cada posible topología
- Y el árbol con el más pequeño número de cambios es elegido como el mejor

Construcción del árbol filogenético con MP

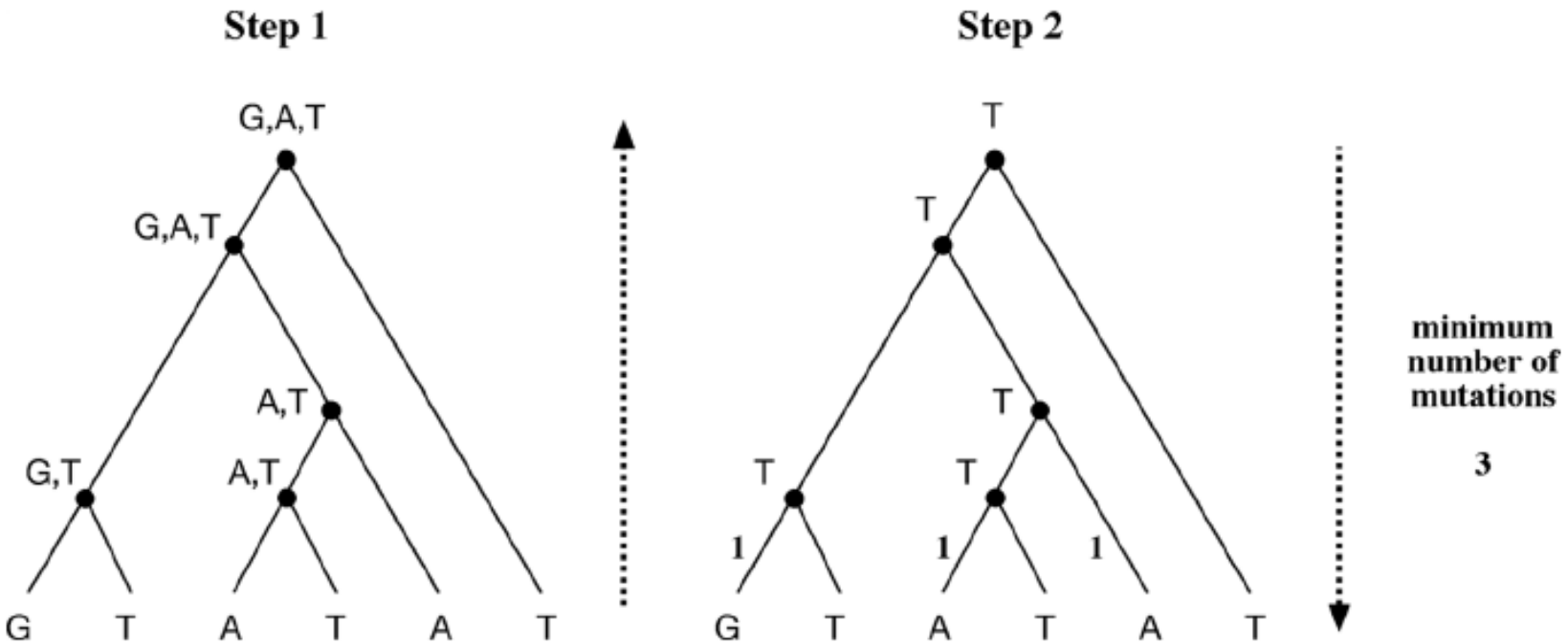
- La clave para contar un número mínimo de sustituciones para un sitio particular es determinar los estados del carácter ancestral en los nodos internos
- Debido a que estos estados de caracteres ancestrales no se conocen directamente, pueden existir múltiples soluciones posibles
- En este caso, el principio de parsimonia se aplica para elegir los estados de los caracteres que resultan en un mínimo número de sustituciones

Construcción del árbol filogenético con MP

- La inferencia de una secuencia ancestral se realiza en dos pasos:
  1. Se recorre el árbol de las hojas hacia la raíz para determinar todos los posibles estados de los caracteres ancestrales
  2. Se recorre el árbol de la raíz hacia las hojas para asignar secuencias ancestrales que exigen el número mínimo de sustituciones (*puntaje de parsimonia*)

Construcción del árbol filogenético con MP

- Proceso de inferencia de una secuencia ancestral en dos pasos



Construcción del árbol filogenético con MP

- Es necesario subrayar que en realidad la secuencia de nodos ancestrales no siempre puede ser determinada sin ambigüedad
- A veces, puede haber varios caracteres que resultan en un mismo puntaje de parsimonia para un determinado número de topologías
- También es posible que haya dos o más topologías que tienen el mismo puntaje de parsimonia
- En estos casos se tiene que construir un árbol de consenso que representa a todos los árboles parsimoniosos

Construcción del árbol filogenético con MP

Importancia del problema

Ciencias biológicas

- Desarrollo de nuevas vacunas
- Estudio de la dinámica de comunidades microbianas
- Estudio de antibacteriales y herbicidas
- Desarrollo inteligente de nuevos fármacos

Ciencias de la computación

- El problema de MP es NP-completo
- Equivale al problema del árbol de Steiner en hipercubos [Garey and Johnson, 1977]
- El número de árboles con raíz para n secuencias es:

$$|\mathscr{T}| = (2n-3)!/2^{n-2}(n-2)!$$

- Para $n = 30$ hay 4.95×10^{38} árboles (100 millones de sol./seg $\approx 1.57 \times 10^{21}$ siglos)

3 Métodos basados en caracteres

Planteamiento formal del problema de MP

- Dado un conjunto $\mathscr{S} = \{S_1, S_2, \ldots, S_n\}$ de n secuencias de longitud k, previamente alineadas, sobre un alfabeto $\mathscr{A}$;
- Un árbol binario con raíz $T = (V, E)$, también llamado árbol filogenético, está compuesto por los conjuntos V y E que corresponden a sus nodos y aristas
- $|V| = (2n - 1)$ se encuentra dividido en dos subconjuntos:
  - I, que contiene $n - 1$ *nodos internos* (ancestros hipotéticos) cada uno con 2 descendientes;
  - L, compuesto de n *hojas*, *i.e.*, nodos sin descendientes.

Planteamiento formal del problema de MP

- La secuencia de parsimonia P_w para cada nodo interno $w \in I$ cuyos descendientes son $S_u = \{x_1, \cdots, x_k\}$ y $S_v = \{y_1, \cdots, y_k\}$ se calcula con la siguiente relación:

$$z_i = \begin{cases} x_i \cup y_i, & \text{si } x_i \cap y_i = \emptyset \\ x_i \cap y_i, & \text{sino} \end{cases} \qquad \text{para } 1 \leq i \leq k,$$

- El costo de parsimonia (mutaciones) de la secuencia P_w está definido por:

$$\phi(P_w) = \sum_{i=1}^{k} C_i \qquad \text{donde} \qquad C_i = \begin{cases} 1, & \text{si } x_i \cap y_i = \emptyset \\ 0, & \text{sino} \end{cases}$$

- El costo de parsimonia para el árbol T se obtiene de la siguiente manera:

$$\phi(T) = \sum_{w \in I} \phi(P_w) \tag{2}$$

Planteamiento formal del problema de MP

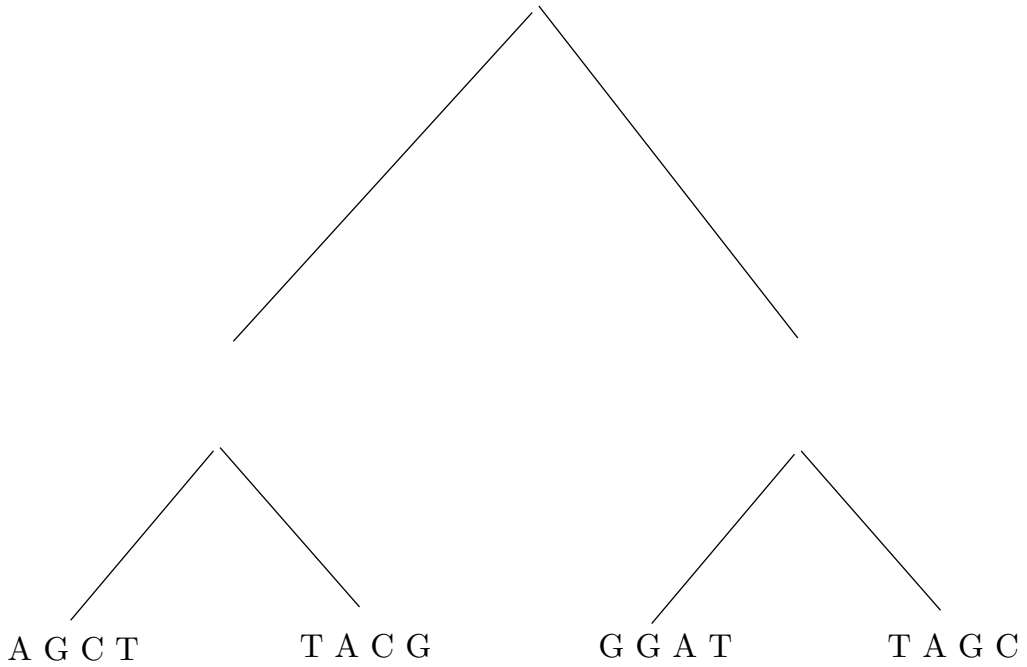
- El problema de MP consiste entonces en encontrar una topología de árbol T^* para la cual $\phi(T)$ sea mínimo, *i.e.*,

$$\phi(T^*) = mín\{\phi(T) : T \in \mathscr{T}\}$$

donde $\mathscr{T}$ es el conjunto de todas las posibles topologías de árbol (espacio de búsqueda).

Planteamiento formal del problema de MP

- Dadas $n = 4$ secuencias de longitud $k = 4$ y la siguiente topología de árbol, calculamos la secuencia de parsimonia P_w para cada nodo interno y sumamos el número total de mutaciones



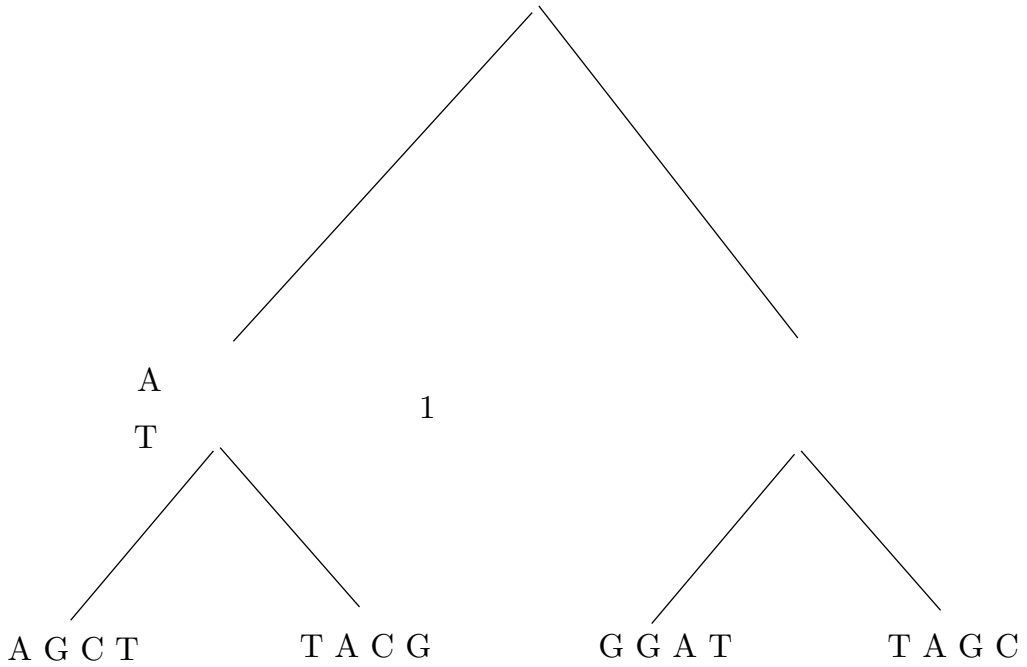
$$z_i = \begin{cases} x_i \cup y_i, & \text{si } x_i \cap y_i = \emptyset \\ x_i \cap y_i, & \text{sino} \end{cases}$$

$$\phi(P_w) = \sum_{i=1}^{k} C_i$$

$C_i = 1$ si $x_i \cap y_i = \emptyset$

Planteamiento formal del problema de MP

- Dadas $n = 4$ secuencias de longitud $k = 4$ y la siguiente topología de árbol, calculamos la secuencia de parsimonia P_w para cada nodo interno y sumamos el número total de mutaciones



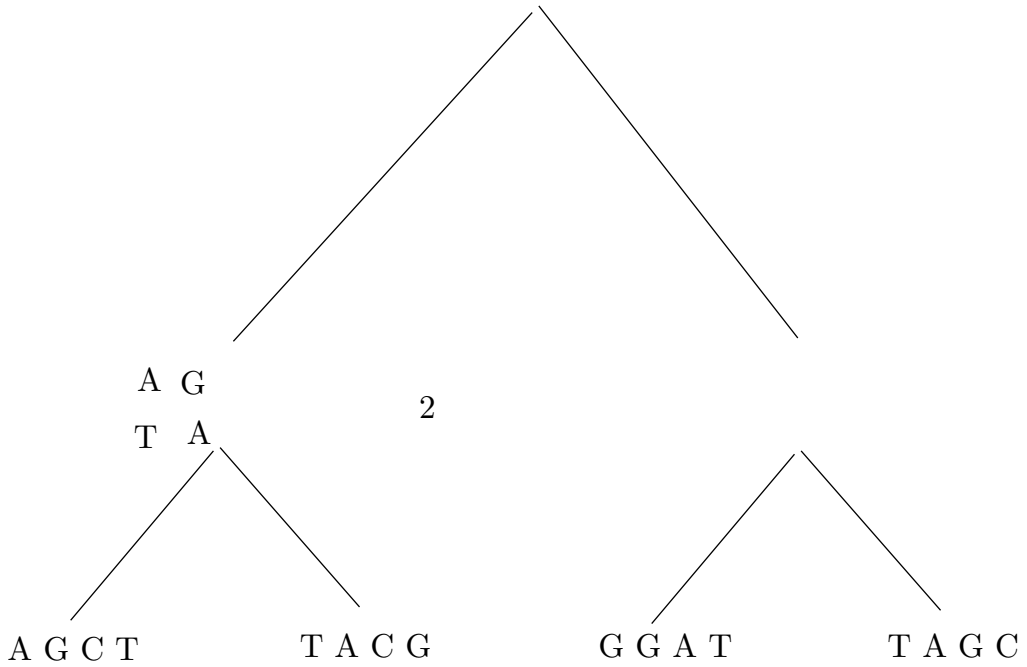
$$z_i = \begin{cases} x_i \cup y_i, & \text{si } x_i \cap y_i = \emptyset \\ x_i \cap y_i, & \text{sino} \end{cases}$$

$$\phi(P_w) = \sum_{i=1}^{k} C_i$$

$C_i = 1$ si $x_i \cap y_i = \emptyset$

Planteamiento formal del problema de MP

- Dadas $n = 4$ secuencias de longitud $k = 4$ y la siguiente topología de árbol, calculamos la secuencia de parsimonia P_w para cada nodo interno y sumamos el número total de mutaciones



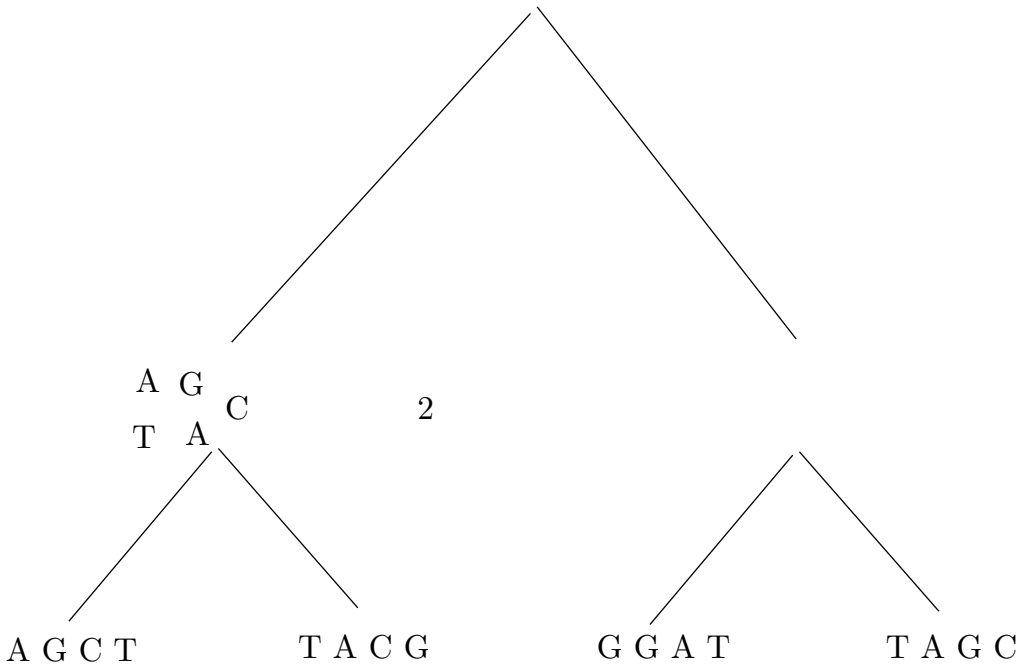
$$z_i = \begin{cases} x_i \cup y_i, & \text{si } x_i \cap y_i = \emptyset \\ x_i \cap y_i, & \text{sino} \end{cases}$$

$$\phi(P_w) = \sum_{i=1}^{k} C_i$$

$C_i = 1$ si $x_i \cap y_i = \emptyset$

Planteamiento formal del problema de MP

- Dadas $n = 4$ secuencias de longitud $k = 4$ y la siguiente topología de árbol, calculamos la secuencia de parsimonia P_w para cada nodo interno y sumamos el número total de mutaciones



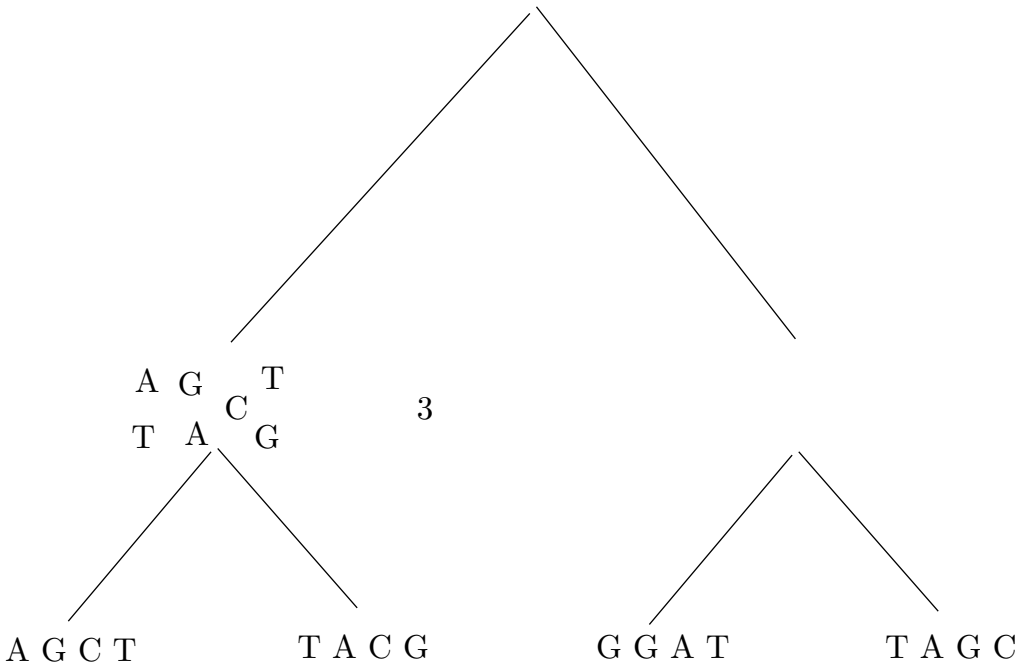
$$z_i = \begin{cases} x_i \cup y_i, & \text{si } x_i \cap y_i = \emptyset \\ x_i \cap y_i, & \text{sino} \end{cases}$$

$$\phi(P_w) = \sum_{i=1}^{k} C_i$$

$C_i = 1$ si $x_i \cap y_i = \emptyset$

Planteamiento formal del problema de MP

- Dadas $n = 4$ secuencias de longitud $k = 4$ y la siguiente topología de árbol, calculamos la secuencia de parsimonia P_w para cada nodo interno y sumamos el número total de mutaciones



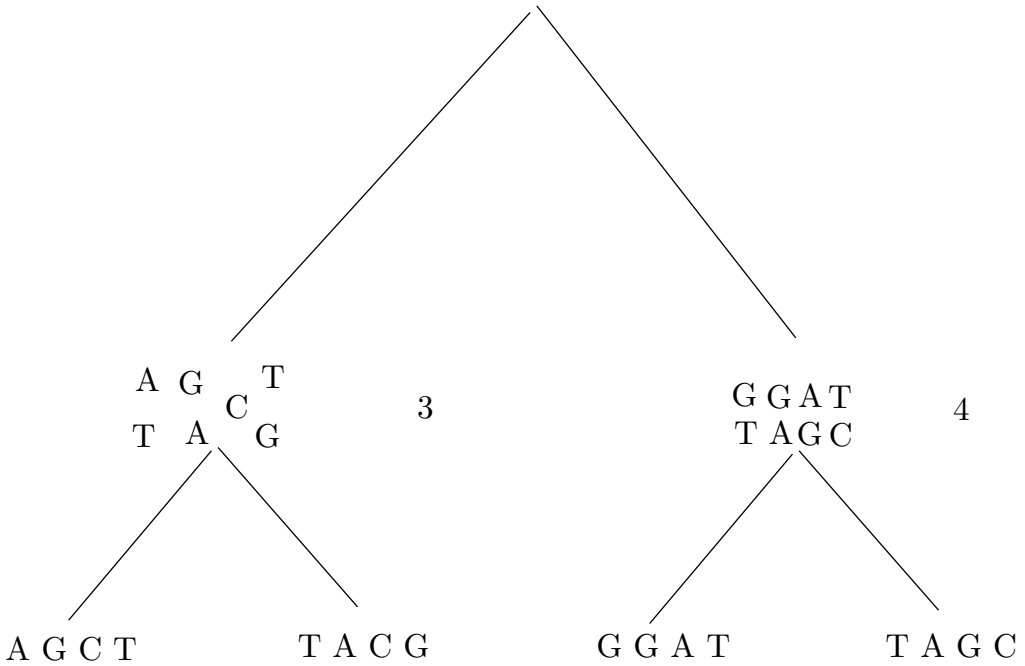
$$z_i = \begin{cases} x_i \cup y_i, & \text{si } x_i \cap y_i = \emptyset \\ x_i \cap y_i, & \text{sino} \end{cases}$$

$$\phi(P_w) = \sum_{i=1}^{k} C_i$$

$C_i = 1$ si $x_i \cap y_i = \emptyset$

Planteamiento formal del problema de MP

- Dadas $n = 4$ secuencias de longitud $k = 4$ y la siguiente topología de árbol, calculamos la secuencia de parsimonia P_w para cada nodo interno y sumamos el número total de mutaciones



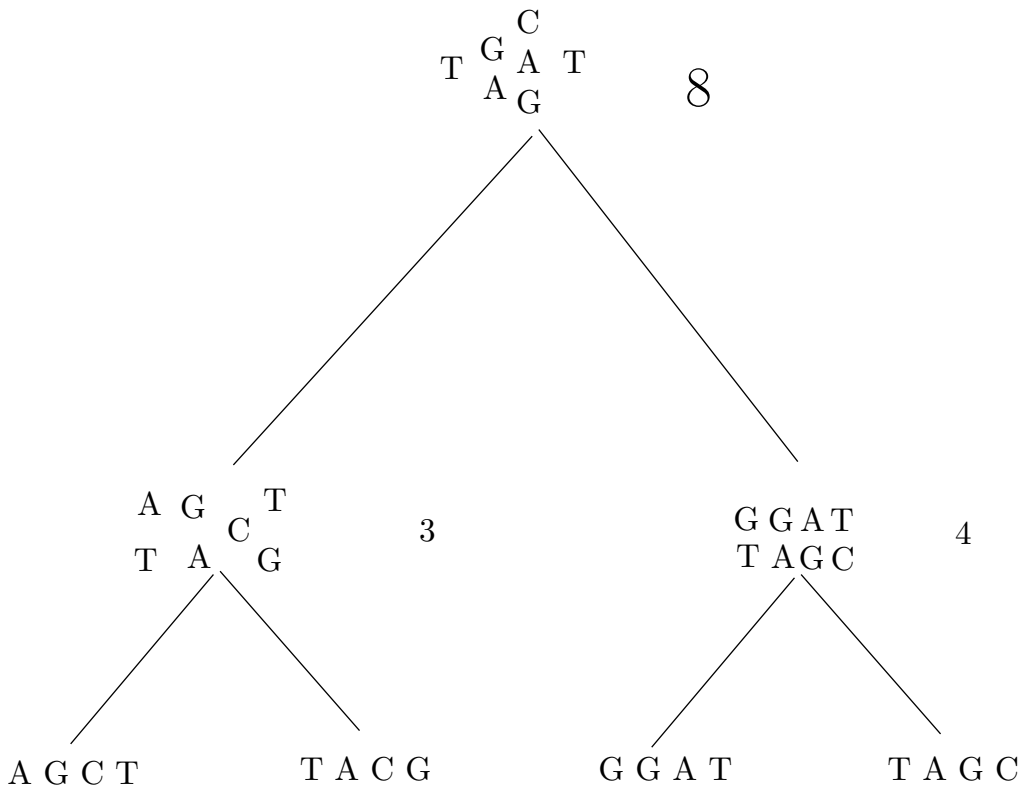
$$z_i = \begin{cases} x_i \cup y_i, & \text{si } x_i \cap y_i = \emptyset \\ x_i \cap y_i, & \text{sino} \end{cases}$$

$$\phi(P_w) = \sum_{i=1}^{k} C_i$$

$C_i = 1$ si $x_i \cap y_i = \emptyset$

Planteamiento formal del problema de MP

- Dadas $n = 4$ secuencias de longitud $k = 4$ y la siguiente topología de árbol, calculamos la secuencia de parsimonia P_w para cada nodo interno y sumamos el número total de mutaciones



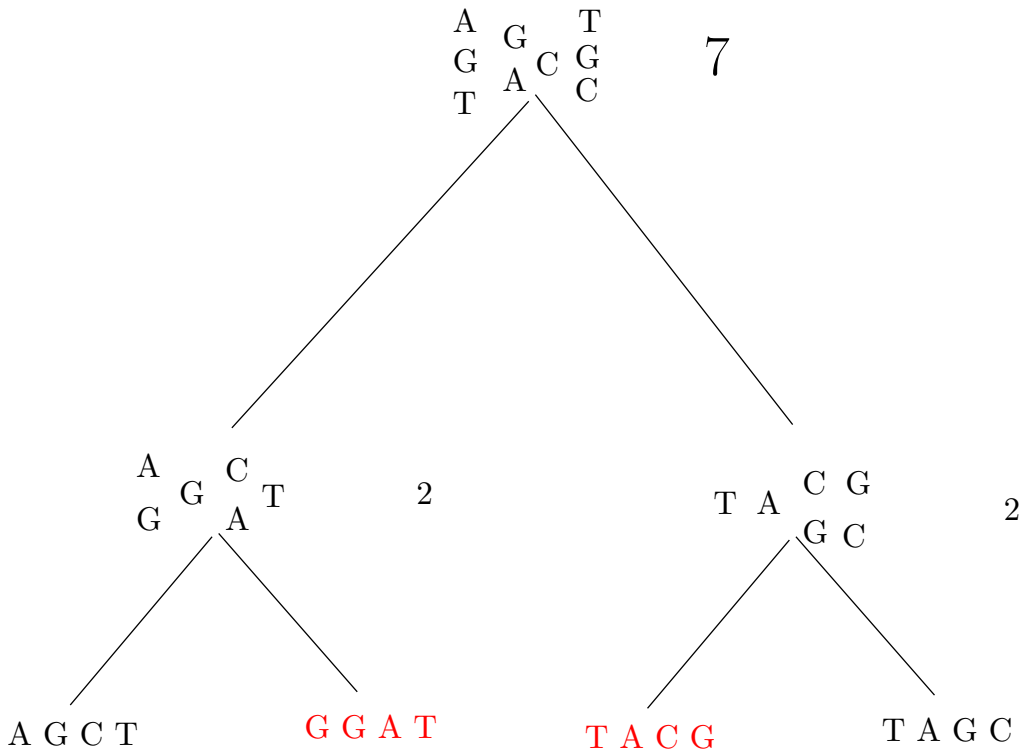
$$z_i = \begin{cases} x_i \cup y_i, & \text{si } x_i \cap y_i = \emptyset \\ x_i \cap y_i, & \text{sino} \end{cases}$$

$$\phi(P_w) = \sum_{i=1}^{k} C_i$$

$C_i = 1$ si $x_i \cap y_i = \emptyset$

Planteamiento formal del problema de MP

- Dadas $n = 4$ secuencias de longitud $k = 4$ y la siguiente topología de árbol, calculamos la secuencia de parsimonia P_w para cada nodo interno y sumamos el número total de mutaciones



$$z_i = \begin{cases} x_i \cup y_i, & \text{si } x_i \cap y_i = \emptyset \\ x_i \cap y_i, & \text{sino} \end{cases}$$

$$\phi(P_w) = \sum_{i=1}^{k} C_i$$

$C_i = 1$ si $x_i \cap y_i = \emptyset$

3 Métodos basados en caracteres

Trabajo relacionado

- **Algoritmo exacto**
  - Branch & bound (B&B) [Hendy and Penny, 1982] ($n \leq 10$)
- **Algoritmos aproximados**
  - Algoritmos voraces [Andreatta and Ribeiro, 2002] (resultados lejanos al óptimo)
  - Recocido simulado multiarranque (LVB) [Barker, 2003, Barker, 2012].
  - GRASP (*greedy randomized adaptive search procedure*) [Ribeiro and Vianna, 2005]
  - GA+PR+LS [Ribeiro and Vianna, 2009]
  - Hydra, algoritmo memético [Richer et al., 2009]
  - SAMPARS, recocido simulado [Richer et al., 2012] (mejor conocido)

3 Métodos basados en caracteres

Parsimonia ponderada

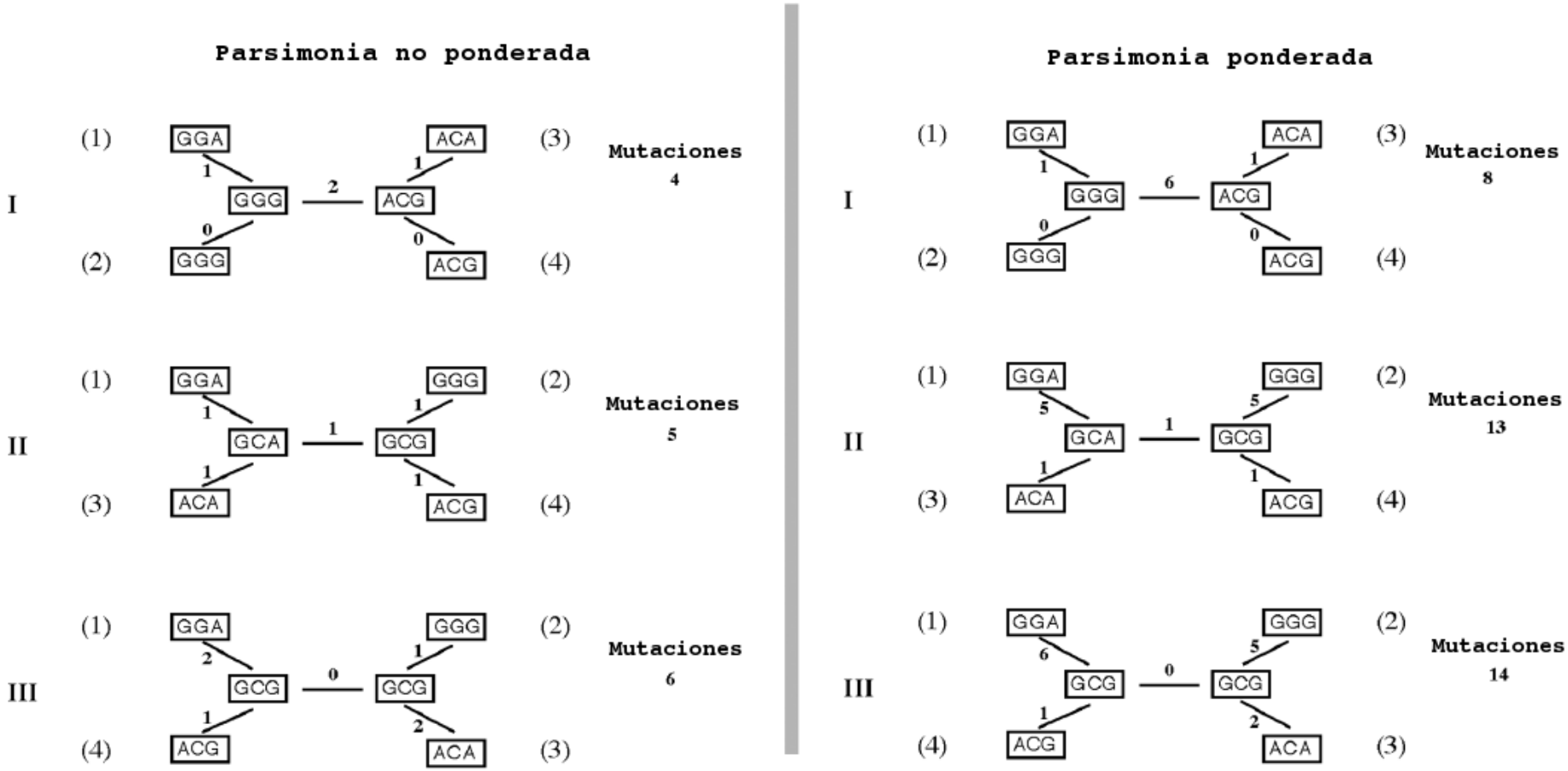
- El método que venimos de describir es no ponderado porque trata todas las mutaciones como equivalentes
- Este método es una sobresimplificación ya que se sabe que las mutaciones de algunos sitios ocurren menos frecuentemente que en otros
- Por ejemplo
  - Las transversiones con respecto a las transiciones
  - Los sitios funcionalmente importantes con respecto a los neutrales

Parsimonia ponderada

- Por lo tanto, un esquema ponderado que tome en cuenta los diferentes tipos de mutaciones ayudaría a seleccionar las topologías de árboles más precisamente
- Este tipo de esquema recibe el nombre de *Parsimonia Ponderada*

Parsimonia ponderada

- Parsimonia no ponderada y ponderada (transiciones 1, transversiones 5)



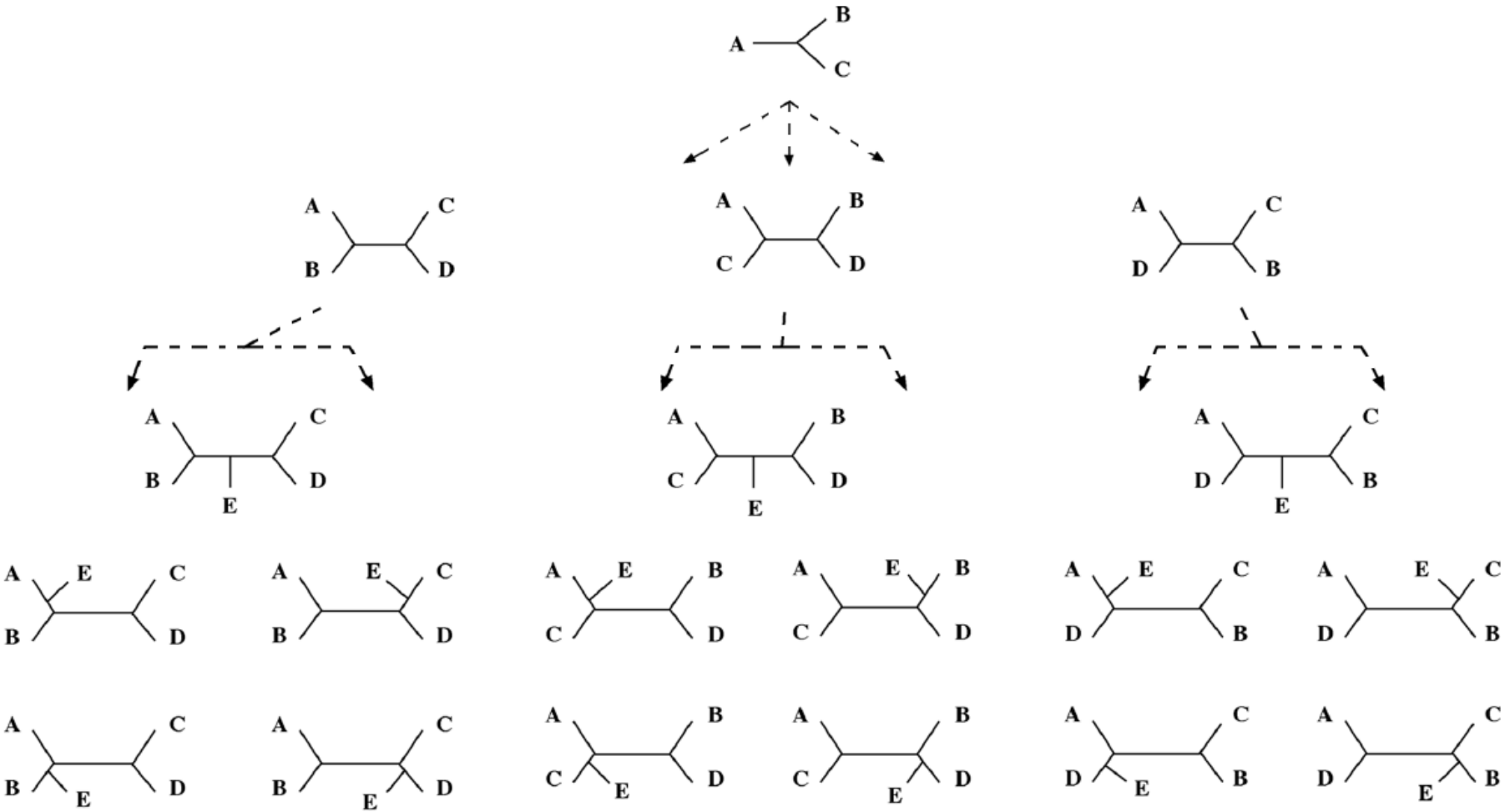
3 Métodos basados en caracteres

Métodos de búsqueda en árboles

- Como mencionamos el método de parsimonia examina todas las posibles topologías de árboles para encontrar el árbol con máxima parsimonia
- Este es un método exhaustivo de búsqueda que sigue los pasos siguientes:
  1. Construye un árbol sin raíz con tres taxones tomados aleatoriamente (sólo existe una topología)
  2. Agrega un cuarto taxón al árbol, produciendo 3 topologías posibles
  3. Agrega los taxones restantes progresivamente para formar todas las posibles topologías

Métodos de búsqueda en árboles

- Método exhaustivo de búsqueda



Métodos de búsqueda en árboles

- Obviamente este algoritmo de fuerza bruta sólo funciona para casos con pocas secuencias (menos de 10)
- La razón es que el número potencial de topologías de árboles puede enorme aún con un número moderado de taxones
- Recordemos que el número de árboles con raíz (N_R) para n taxones está dado por la siguiente fórmula:

$$N_R = (2n-3)!/2^{n-2}(n-2)! \tag{3}$$

- Y el número de topologías para árboles sin raíz (N_U) es:

$$N_U = (2n-5)!/2^{n-3}(n-3)! \tag{4}$$

Métodos de búsqueda en árboles

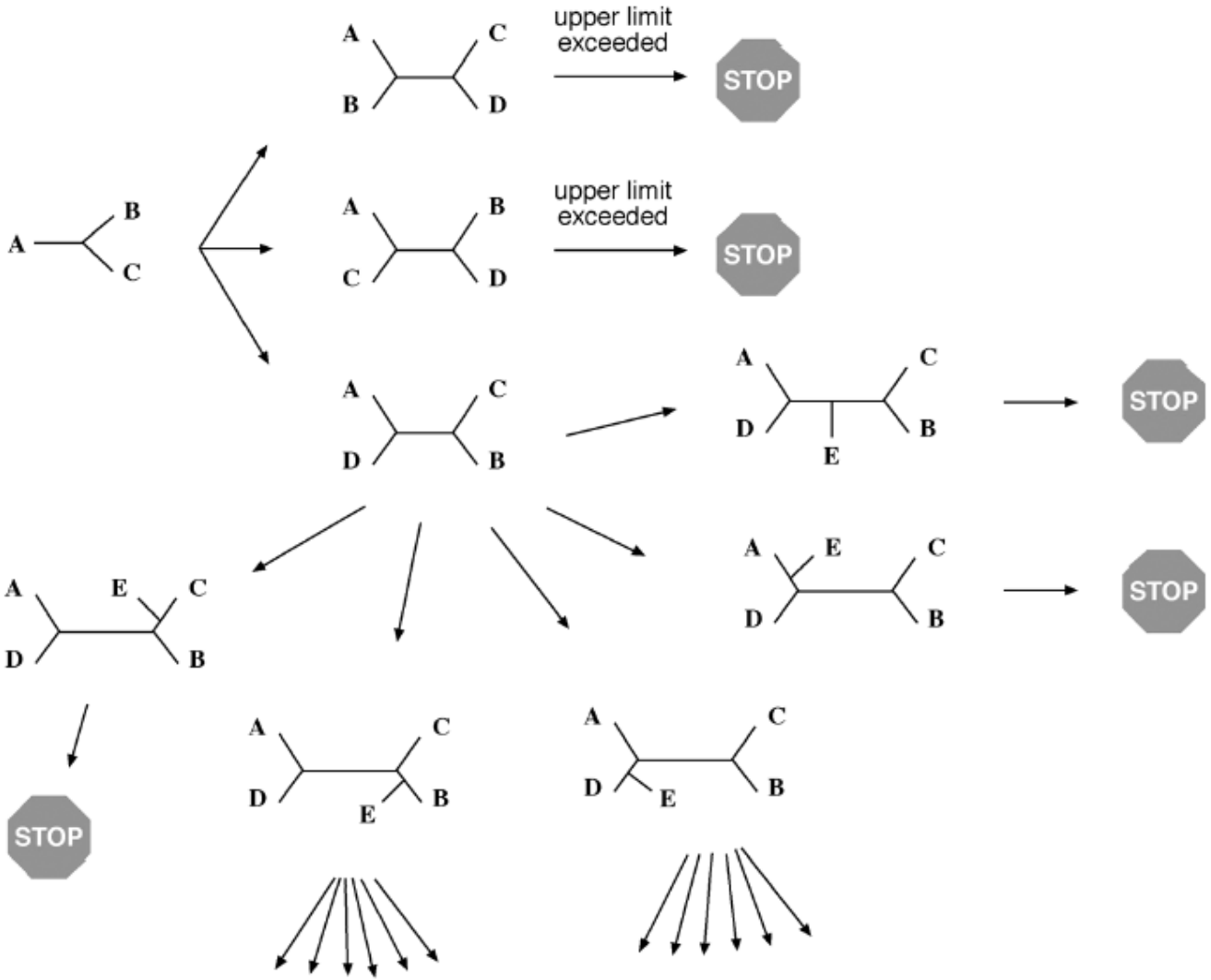
- Para intentar solucionar esta problemática se han desarrollado algunas técnicas para reducir la complejidad de la búsqueda
- Un ejemplo es la técnica de *Branch & Bound* (B&B), la cual comienza construyendo un árbol basado en distancias con todos los taxones usando Unión de Vecinos o UPGMA
- Después calcula el mínimo número de sustituciones para este árbol para usarlo como *cota superior* contra la cual son comparados todos los árboles
- La idea es que el árbol con máxima parsimonia debe ser igual o más pequeño que el árbol basado en distancias

Métodos de búsqueda en árboles

- B&B construye árboles en una forma similar a la búsqueda exhaustiva
- La diferencia es que la cota superior precalculada es usada para limitar el crecimiento del espacio de búsqueda
- Cuando la longitud total de una topología parcial excede la cota superior, la búsqueda hacia esa dirección particular se aborta
- Esto reduce dramáticamente el número de árboles considerados (menos tiempo de cpu) mientras continua garantizando encontrar el árbol con MP

Métodos de búsqueda en árboles

- Método de Branch & Bound



Métodos de búsqueda en árboles

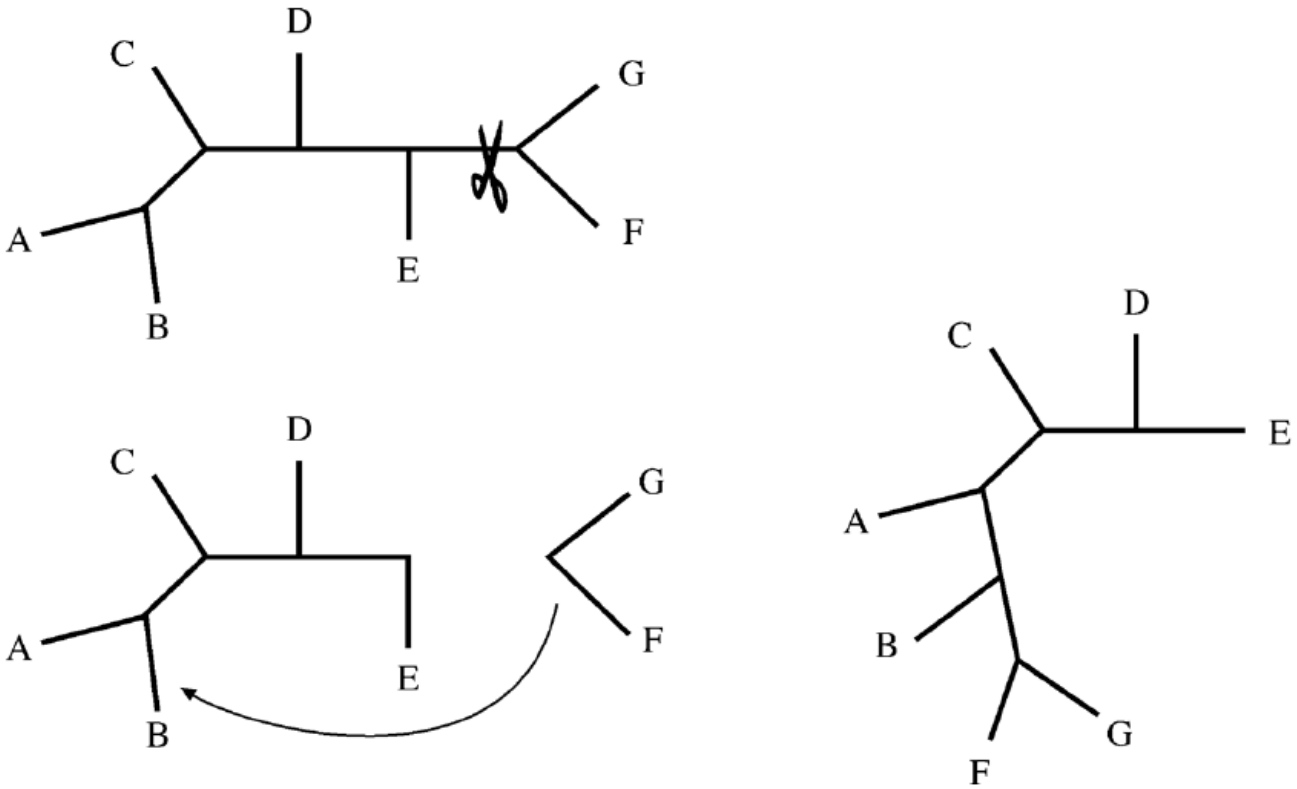
- Cuando el número de taxones excede 20, aún el método B&B se vuelve computacionalmente inviable
- La solución es usar *métodos heurísticos* (aproximados)
- En un método heurístico de búsqueda en árboles, sólo un pequeño subconjunto de todas las posibles topologías es examinado
- Comienza por calcular un árbol inicial mediante el método de Unión de Vecinos
- Continua modificandolo ligeramente para formar otra topología y analizar si este cambio lleva a un árbol con mayor parsimonia (más pequeño)

Métodos de búsqueda en árboles

- Los cambios ligeros aplicados al árbol inicial incluyen podar una rama o subárbol y pegarla en otra parte del árbol
- La longitud total del nuevo árbol es recalculada, si esta es más pequeña que la del árbol inicial entonces el nuevo árbol es usado como punto de partida para otra iteración
- Este proceso continua hasta que ningún árbol más pequeño es encontrado

Métodos de búsqueda en árboles

- Método de heurísticos de intercambio de ramas



Métodos de búsqueda en árboles

- Este método es muy rápido, pero no garantiza encontrar el árbol con MP
- Los algoritmos heurísticos de intercambio de ramas (*branch-swapping*) más comunes son:
  - Intercambio del vecino más cercano
  - Bisección del árbol y reconexión
  - Poda de un subárbol y pegado

Métodos de búsqueda en árboles

- La desventaja de los algoritmos heurísticos de intercambio de ramas es que los nuevos árboles generados con cambios ligeros tienden a enfocarse en una área local
- Esto provoca que este tipo de algoritmos se estanquen cuando la longitud mínima de una rama local es alcanzada
- Para evitar que queden estancados en un mínimo local, una opción de búsqueda global es implementada en ciertos programas

Métodos de búsqueda en árboles

- Esto permite remover todos los posibles subárboles y pegarlos en todas las posibles formas, para incrementar la oportunidad de encontrar el árbol con MP
- Este enfoque incrementa considerablemente el tiempo de cómputo y por lo tanto compromete el compromiso entre obtener un árbol óptimo y hacerlo en un tiempo razonable

3 Métodos basados en caracteres

Ventajas y desventajas

Ventajas:

- El método de MP es intuitivo (fácil de comprender)
- Provee información evolutiva acerca de los caracteres en la secuencia (homoplasia y estados ancestros)
- Tiende a producir árboles más confiables que aquellos producidos con métodos basados en distancias cuando la divergencia entre secuencias es baja (suposición de parsimonia es cierta)

Ventajas y desventajas

Desventajas:

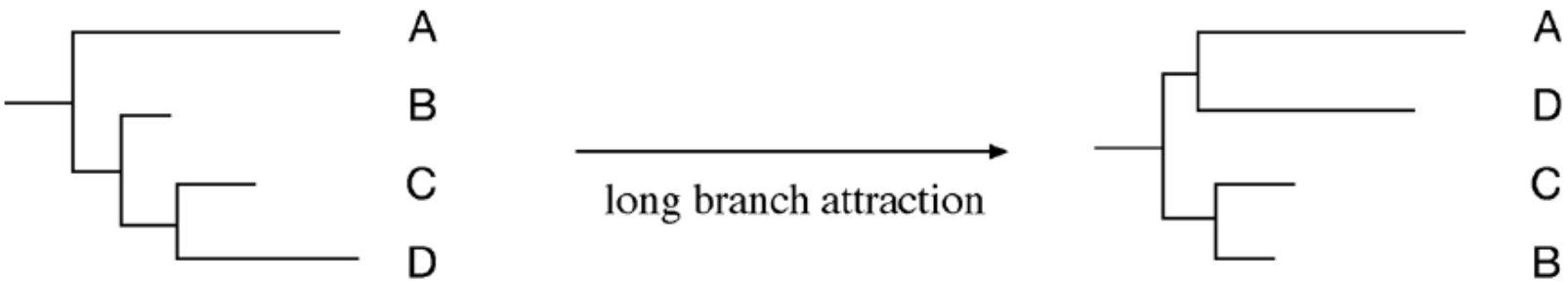
- Cuando la divergencia entre secuencias es alta, o la cantidad de homoplasia es grande, la estimación de un árbol por MP puede ser menos efectiva (suposición de parsimonia no es cierta)
- La estimación de la longitud de las ramas puede también ser errónea porque MP no usa modelos de substitución para corregir substituciones múltiples (aumenta cuando las secuencias son demasiado divergentes)
- MP sólo considera sitios informativos, e ignora otros sitios con lo cual ciertas señales filogenéticas pueden perderse
- MP es lento comparado con los métodos basados en distancias y muy sensible a la **atracción de ramas largas** (LBA, *long-branch attraction*)

3 Métodos basados en caracteres

- Introducción
- Máxima parsimonia
- Construcción del árbol filogenético con MP
- Planteamiento formal del problema de MP
- Trabajo relacionado
- Parsimonia ponderada
- Métodos de búsqueda en árboles
- Ventajas y desventajas
- Atracción de ramas largas
- Máxima verosimilitud
- Construcción del árbol filogenético con MV

Atracción de ramas largas

- La atracción de ramas largas (LBA, *long-branch attraction*) es un problema particular asociado con los métodos de MP
- Se refiere a un fenómeno filogenético por el cual los taxones que evolución rápidamente con ramas largas son colocados juntos en un árbol, sin importar sus posiciones verdaderas en el árbol



Atracción de ramas largas

- Esto se debe parcialmente a la suposición en parsimonia que indica que todos los linajes evolucionan a la misma tasa y que todas las mutaciones (transiciones y transversiones) contribuyen de igual manera a la longitud de las ramas
- También se debe a que las substituciones múltiples en los sitios individuales y entre sitios tienen una tasa de heterogeneidad que MP no es capaz de corregir

Atracción de ramas largas

- Existen diversas posibles soluciones al problema de atracción de ramas largas:
  - Para homoplasias utilizar métodos basados en distancias y en Máxima Verosimilitud (próxima clase) que emplean modelos de substitución y modelos de tasa de heterogeneidad
  - Usar parsimonia ponderada que permite luchar contra las desviaciones de las transiciones cuando se producen las transiciones más a menudo que las transversiones
  - Aumentar el tamaño de muestreo de taxones también puede ayudar, porque la introducción de taxones intermedios rompe las ramas largas

3 Métodos basados en caracteres

Máxima verosimilitud

- El método de *Máxima Verosimilitud* (MV) emplea modelos probabilisticos para seleccionar el mejor árbol, i.e., aquel que tenga la más alta probabilidad (verosimilitud) de reflejar el proceso evolutivo real
- MV es un método exhaustivo que busca todas las posibles topologías y considera cada posición en un alineamiento (no sólo sitios informativos)

Máxima verosimilitud

- Empleando un modelo particular de substitución de residuos ML calcula la verosimilitud total de las secuencias ancestro que evolucionan en nodos internos y eventualmente a las secuencias existentes (nodos hoja)
- En ocasiones también incorpora parámetros que consideran las tasas de variación entre sitios

3 Métodos basados en caracteres

Construcción del árbol filogenético con MV

- MV trabaja calculando la probabilidad de un determinado camino evolutivo para una secuencia particular existente
- Los valores de probabilidad son determinados por un modelo de substitución
- Por ejemplo, para secuencias de ADN usando el modelo Jukes-Cantor, la probabilidad P de que un nucleótido permanezca igual después de un tiempo t es:

$$P(t) = 1/4 + 3/4e^{-\alpha t} \tag{5}$$

- donde α es la tasa de substitución del nucleótido en el modelo Jukes-Cantor (asignada empiricamente o estimada experimentalmente)

Construcción del árbol filogenético con MV

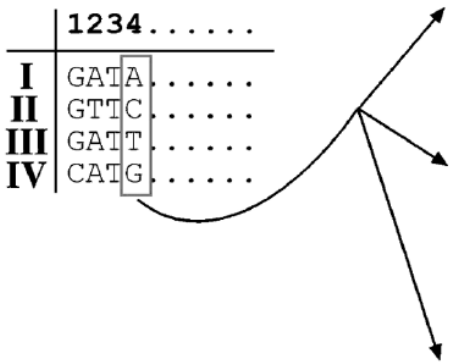
- Por el contrario para un nucleótido que cambia a un residuo diferente después de un tiempo t, la probabilidad P es:

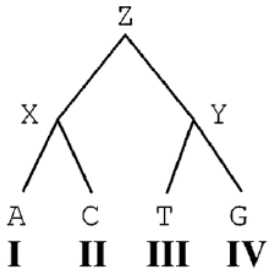
$$P(t) = 1/4 + 1/4e^{-\alpha t} \tag{6}$$

- Para otros modelos de substitución, las fórmulas son mucho más complejas

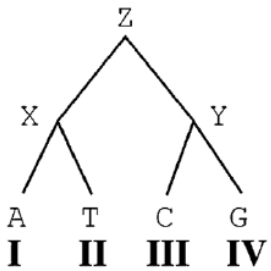
Construcción del árbol filogenético con MV

- Ejemplo del método de MV (el tiempo t de X a A es 1 y de Z a A 2)





X = A, T, G, C
Y = A, T, G, C
Z = A, T, G, C



X = A, T, G, C
Y = A, T, G, C
Z = A, T, G, C

Construcción del árbol filogenético con MV

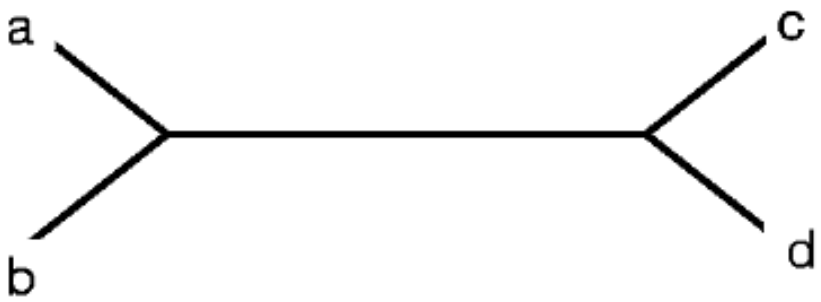
- El ejemplo sólo muestra algunas de las topologías derivadas de uno de los sitios en el alineamiento
- El método en realidad utiliza todos los sitios para calcular la probabilidad para todos los árboles posibles con todas las combinaciones posibles de secuencias ancestro en los nodos internos de acuerdo a un modelo de substitucion predefinido

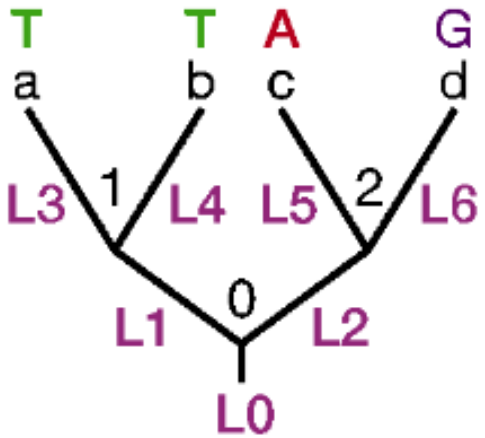
Construcción del árbol filogenético con MV

- Veamos un ejemplo más detallado con 4 secuencias hipotéticas
- Para cuatro taxones existen 3 posibles árboles sin raíz (se muestra uno)
- Se toma una columna para analizarse

Construcción del árbol filogenético con MV

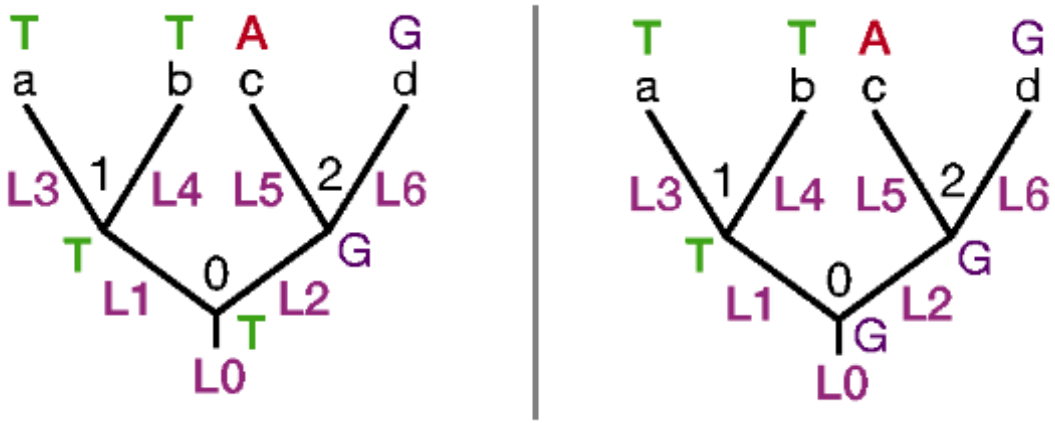
- Una de las 5 posibles topologías con raíz derivadas del árbol anterior (contiene 3 nodos internos $0, 1, 2$)
- Se consideran todas las posibles asignaciones de bases para los nodos internos ($4 * 4 * 4 = 64$) y se calcula la verosimilitud para cada una ($L_1 - L_6$)
- La verosimilitud de esta topología es: $V(T_1) = \prod_{i=1}^{6} L_i$ (se pueden usar sumas de logaritmos ln)





Construcción del árbol filogenético con MV

- 2 de las 64 posibles asignaciones de bases para los nodos internos
- $V(6) = V(T_1) + V(T_2) + \cdots + V(T_{64})$
- Estos cálculos son repetidos para todas las columnas del alineamiento, $V(1) \ldots V(10)$



Construcción del árbol filogenético con MV

- La verosimilitud de la topología es la suma de las verosimilitudes calculadas para cada columna, $\sum_{i=1}^{10} V(i)$
- Cada una de las 3 posibles topologías (para 4 taxones) es evaluada de manera similar y se identifica aquella con la máxima verosimilitud
- Como puede verse este proceso es muy demandante en tiempo de cómputo

Referencias bibliográficas I

Andreatta, A. and Ribeiro, C. C. (2002).
Heuristics for the phylogeny problem.
Journal of Heuristics, 8(4):429–447.

Barker, D. (2003).
LVB: parsimony and simulated annealing in the search for phylogenetic trees.
Bioinformatics, 20(2):274–275.

Barker, D. (2012).
LVB homepage.

Garey, M. R. and Johnson, D. S. (1977).
The rectilinear Steiner tree problem is NP-Complete.
SIAM Journal on Applied Mathematics, 32(4):826–834.

Hendy, M. D. and Penny, D. (1982).
Branch and bound algorithms to determine minimal evolutionary trees.
Mathematical Biosciences, 59(2):277–290.

Ribeiro, C. C. and Vianna, D. S. (2005).
A GRASP/VND heuristic for the phylogeny problem using a new neighborhood structure.
International Transactions in Operational Research, 12(3):325–338.

Ribeiro, C. C. and Vianna, D. S. (2009).
A hybrid genetic algorithm for the phylogeny problem using path-relinking as a progressive crossover strategy.
International Transactions in Operational Research, 16(5):641–657.

Referencias bibliográficas II

Richer, J. M., Goëffon, A., and Hao, J. K. (2009).

A memetic algorithm for phylogenetic reconstruction with maximum parsimony.
Lecture Notes in Computer Science, 5483:164–175.

Richer, J. M., Rodriguez-Tello, E., and Vazquez-Ortiz, K. E. (2012).

Maximum parsimony phylogenetic inference using simulated annealing.
Advances in Intelligent and Soft Computing, 175:189–203.