



## TP6.2 – Inferencias Evolutivas



**DESAFÍO I:** Detalla las tácticas y/o metodologías que deberían utilizarse para darles una respuesta a los padres del niño. Dadas las secuencias de Mosca, humano y Moscahumano ¿Qué criterios se les ocurren para comparar las secuencias? ¿Qué resultados obtienen del análisis anterior? ¿Qué resultado esperarías obtener si utilizara el resto de las secuencias en el análisis? ¿Por qué?

Estas son las tres secuencias de las especies que se pretende comparar:

> Bartmosca

MGSGDAENGKKIFVQKCAQCHTYEVGGKHKTGPNLHGLFGRKTGQAPGYSYTAANKNKGIIWGEDTLMEYLENPKKYIP  
GTKMIFVGIKKKEERADLIAYLKATNE

> Homo sapiens

MGDVEKGKKIFIMKCSQCHTVEKGGKHKTGPNLHGLFGRKTGQAPGYSYTAANKNKGIIWGEDTLMEYLENPKKYIPGTK  
MIFVGIKKKEERADLIAYLKATNE

> Drosophila Melanogaster

MGVPAGDVEKGKKLFVQRCAQCHTVEAGGKHKVGNLHGLIGRKTGQAAGFAYTDANKAKGITWNEDTLFEYLENPKK  
YIPGTKMIFAGLKKPNERGDLIAYLKSATK

Para poder determinar si Bartmosca aún conserva características del niño, podríamos realizar un alineamiento de secuencias y así poder compararlas.

De esta metodología podríamos obtener los scores de los alineamientos y así verificar cual especie tiene mayor semejanza con cual otra.

También podríamos obtener el árbol filogenético para observar cual es la relación entre estas especies.

En el caso de utilizar el resto de las secuencias en el análisis, esperaríamos obtener un resultado similar al obtenido con el análisis de solo estas tres secuencias. Tal vez puede verse más marcada la relación entre estas tres especies de estudio, respecto de las otras ya que estas últimas pertenecen al reino de las plantas.

**DESAFÍO II:** Como vimos anteriormente existen algunos softwares optimizados para confeccionar alineamientos de secuencias. En particular hemos trabajado con **Clustal** (Larkin et al. 2007). Confecciona los alineamientos para los del punto Ia y Ib análisis.

Se realizaron los alineamientos por medio de Clustal Omega y arrojo los siguientes resultados:

➤ Solamente para las 3 especies de estudio:

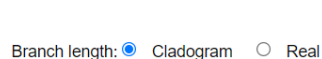
Drosophila	MGVPAGDVEKGKKLFVQRCAQCHTVEAGGKHKVGNLHGLIGRKTGQAAGFAYTDANKAK	60
Homo	---MGDVEKGKKIFIMKCSQCHTVEKGGKHKTGPNLHGLFGRKTGQAPGYSYTAANKNK	56
Bartmosca	--MGSGDAENGKKIFVQKCAQCHTYEVGGKHKTGPNLHGLFGRKTGQAPGYSYTAANKNK	58
	* * * * *	
Drosophila	GITWNEDTLFEYLENPKKYIPGTKMIFAGLKKPNERGDLIAYLKSATK-	108
Homo	GIIWGEDTLMEYLENPKKYIPGTKMIFVGIKKKEERADLIAYLKATNE	105
Bartmosca	GIIWGEDTLMEYLENPKKYIPGTKMIFVGIKKKEERADLIAYLKATNE	107
	* * * * *	

Branch length: ☒ Cladogram ☐ Real



```
(
Drosophila:0.122608
,
(
Homo:0.0380952
,
Bartmosca:0.0380952
):0.0845127
)
;
```

*This is a Neighbour-joining tree without distance corrections.*



Drosophila 0.19993  
Homo 0.03084  
Bartmosca 0.04535

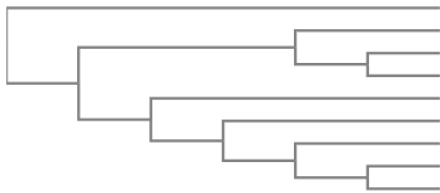
```
(
Drosophila:0.19993,
Homo:0.03084,
Bartmosca:0.04535);
```

- Para todas las especies que teníamos:

Rhizobium	MRNQILMIGLSAAVLCP	IGALAQEGDAEAGAAIF--KKCATCHIVESD-TNKVGPSLKG	LF	58	
Drosophila	-----	-----MGVPAGDVEKGGKLFVQRCQAQCHTVEAGGKHVGP	NLHGLI	41	
Homo	-----	-----MGDVEKGGKIFIMKCSQCHTVEKGGKHKTGP	NLHGLF	37	
Bartmosca	-----	-----MGSGDAENGKKIFVQKCAQCHTYEVGGKHKTGP	NLHGLF	39	
Ectocarpus	-----	-----MSTKAGAKIFKTKCSQCHTVEKDAGHKQG	PNLNGLF	36	
Hordeum	-----	-----MAS-FGEAPAGNAAGGEKIFKTKCAQCHTVERDGAHKQG	PNLSGLF	45	
Betula	-----	-----MAS-FDEAPPGNPKVGEKIFKTKCAQCHTVEKGAGHKQG	PNLNGLF	45	
Lupinus	-----	-----MAS-FDQAPPDAKVGEKIFKTKCAQCHTVDKGAGHKQG	PNLNGLF	45	
Vigna	-----	-----MAS-FDEAPPGNSKSGEKIFKTKCAQCHTVDKGAGHKQG	PNLNGLF	45	
		. * : * : * : . : * * * * :			
Rhizobium	GRKAGTHPDFSYSSAMKAAGEGLVWDETTLRDYLHNP	KA	AKVKGTKMAFVG	VKKDDEITN	118
Drosophila	GRKTGQAAGFAYTDANKA---	KGITWNEDTLFEYLENPKYIPG	TKMIFAGLKKP	NERGD	98
Homo	GRKTGQAPGYSYTAANKN---	KGIWGEDTLMEYLENPKYIPG	TKMIFVG	IKKKERAD	94
Bartmosca	GRKTGQAPGYSYTAANKN---	KGIWGEDTLMEYLENPKYIPG	TKMIFVG	IKKKERAD	96
Ectocarpus	GRTAGTVDGYSYSTANKT---	SGVLWDESSLFDYLLAPKKYIK	GT	KMFVAGIKKPAERKE	93
Hordeum	GRQSGTTAGYAYSTANKN---	MAVVWEENTLYDYLLNPKYIPG	TKMVF	PGLKKPQERVD	102
Betula	GRQSGTTAGYSYSSANKN---	MAVNWEEKTLDYDYLLNPKYIPG	TKMVF	PGLKKPQDRAD	102
Lupinus	GRQSGTTAGYSYSTANKN---	MAVNWEEKTLDYDYLLNPKYIPG	TKMVF	PGLKKPQDRAD	102
Vigna	GRQSGTTAGYSYSTANKN---	MAVIWEEKTLDYDYLLNPKYIPG	TKMVF	PGLKKPQDRAD	102
	** : * . : * : * * . : * * : * : * * : * * * * * : * * : *				
Rhizobium	LIAYLKQFP--	127			
Drosophila	LIAYLKSA	TK--	108		
Homo	LIAYLKKATNE	105			
Bartmosca	LIAYLKKATNE	107			
Ectocarpus	LIAYLKEATAP	104			
Hordeum	LIAYLKQSTA-	112			
Betula	LISYLKESTAS	113			
Lupinus	LIAYLKESTAQ	113			
Vigna	LIAYLKESTA-	112			
	** : * * *				

## Phylogram

Branch length: ☒ Cladogram ☐ Real



Rhizobium 0.288911  
Drosophila 0.122608  
Homo 0.0380952  
Bartmosca 0.0380952  
Ectocarpus 0.155048  
Hordeum 0.0792411  
Betula 0.0288796  
Lupinus 0.0223214  
Vigna 0.0223214

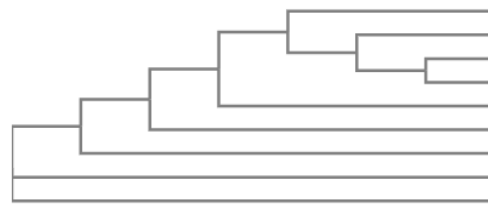
## Guide Tree

```
(  
  Rhizobium:0.288911  
  ,  
  (  
    Drosophila:0.122608  
    ,  
    (  
      Homo:0.0380952  
      ,  
      Bartmosca:0.0380952  
    ):0.0845127  
  ):0.0831076  
  ,  
  (  
    Ectocarpus:0.155048  
    ,  
    (  
      Hordeum:0.0792411  
      ,  
      Betula:0.0288796  
    ):0.03223  
  ):0.0223214  
  ,  
  Vigna:0.0223214  
):0.00655815  
):0.0503615  
):0.075807  
):0.0506674  
):0.0831956  
);
```

## Phylogenetic Tree

*This is a Neighbour-joining tree without distance corrections.*

Branch length: ☒ Cladogram ☐ Real




Rhizobium 0.29144  
Drosophila 0.1352  
Homo 0.03093  
Bartmosca 0.04526  
Ectocarpus 0.13869  
Hordeum 0.08017  
Betula 0.03223  
Lupinus 0.02526  
Vigna 0.01938

## Tree Data

```
(  
  (  
    (  
      (  
        Rhizobium:0.29144,  
        (  
          Drosophila:0.13520,  
          (  
            Homo:0.03093,  
            Bartmosca:0.04526  
          ):0.06473  
        ):0.07477  
      ):0.05508,  
      Ectocarpus:0.13869  
    ):0.08021,  
    Hordeum:0.08017  
  ):0.04980,  
  Betula:0.03223  
):0.00320,  
Lupinus:0.02526,  
Vigna:0.01938);
```

Observando los resultados obtenidos, podemos decir que Bartmosca tiene mayores similitudes con el humano que con la mosca. Esto no quita que se encuentre bastante relacionado con ambas especies.

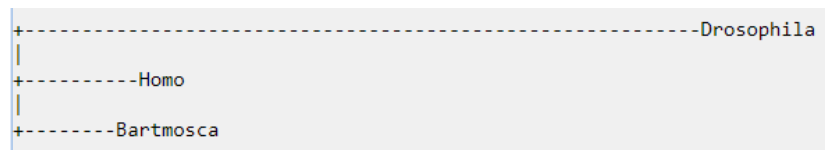
 **DESAFÍO III:** Mediante el uso del servidor de [IQtree](#) (Trifinopoulos et al. 2016), confecciona los árboles filogenéticos para los alineamientos obtenidos en el punto II. Como vemos, el servidor nos permite elegir el modelo de sustitución ¿A qué se refiere? ¿Qué es el Bootstrap? ¿De qué manera nos habla de la calidad de nuestro árbol? ¿Cómo influye el número de Bootstraps en el resultado? Interpreten los resultados obtenidos, mediante la visualización de los árboles con la herramienta [FigTree](#). ¿Es necesario realizar algún paso extra, previo a la interpretación del árbol? ¿Por qué?

Los modelos de sustitución nos permiten calcular y corregir las distancias entre las distintas secuencias que se están comparando. Elegir un modelo adecuado es importante para construir un buen árbol filogenético. Existen varias opciones disponibles, en el caso que no se este seguro cual es la mejor, IQtree nos permite elegir la opción “auto” para que ella opte por la que crea más conveniente.

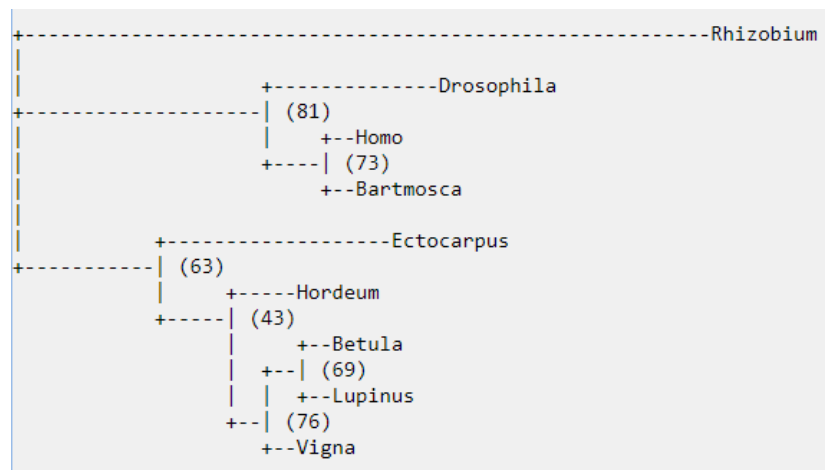
Bootstrap es un método para validar los árboles y saber que tan fiable resulta ser. Lo que realiza este método es crear réplicas de distintos alineamientos a partir de un alineamiento original, eliminando cierto número de posiciones al azar en cada réplica. El número final de posiciones se mantiene constante, añadiendo duplicaciones de los sitios que han permanecido. Luego, para cada réplica se aplica el método de reconstrucción filogenética y se genera un árbol. El paso final es evaluar para cada nodo el porcentaje de árboles en los que aparece: los nodos con un alto valor de Bootstrap tienen una probabilidad alta de ser correctos (se estiman en  $\geq 90\%$ ), mientras los que tienen un bajo valor de Bootstrap podrían haberse generado por azar (se estiman en  $\leq 50\%$ ).

El resultado obtenido de IQtree es el siguiente:

- Solamente para las 3 especies de estudio (una aclaración al respecto, no se utilizó Bootstrap, ya que la herramienta nos indicó que para menos de 4 secuencias no tiene sentido):



- Para todas las especies que teníamos:



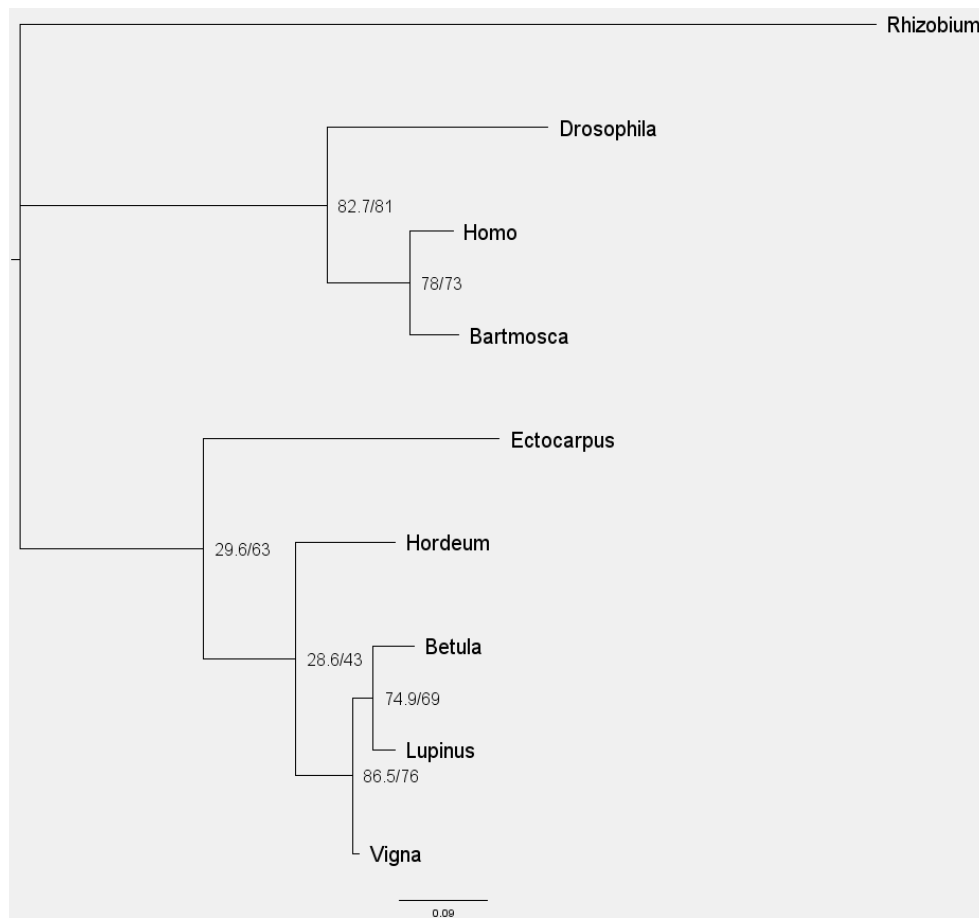
Para poder utilizar la herramienta FigTree, es necesario previamente obtener el alineamiento de las secuencias y su respectivo árbol, que en nuestro caso fue generado por medio de Clustal Omega y IQtree.

El resultado obtenido a través de la visualización de los árboles con la herramienta FigTree es el siguiente:

- Solamente para las 3 especies de estudio:



➤ Para todas las especies que teníamos:



Del primer árbol no podemos sacar muchas conclusiones

Sin embargo, del segundo si lo podemos hacer, ya que tenemos otras especies como Outlook que nos ayudan a visualizar mejor las 3 especies que necesitamos estudiar, y además contamos con el número de Bootstrap. Como sospechábamos Bartmosca conserva mayores características de Humano que de Mosca. Además, esto lo podemos decir con mayor seguridad, debido al numero elevado de Bootstrap que tenemos en sus relaciones.