

## **Evidencia Molecular de la Selección Natural.**

Kreitman, M. y H. Akashi. 1995. Molecular evidence for natural selection. *Annual Review of Ecology & Systematic*. 26, 403-422.

### RESUMEN

Nuestra comprensión de las causas de la evolución molecular no es tan segura como lo era una década atrás cuando la teoría neutral de Kimura surgió para explicar los rasgos más importantes de la conservación y el cambio en el ADN. Los últimos diez años han visto el desarrollo de aproximaciones empíricas y pruebas estadísticas para detectar la selección en el ADN y una proliferación de datos que desafían nuestra comprensión actual del proceso de evolución molecular. Comenzamos esta revisión con una discusión acerca del polimorfismo y la divergencia en proteínas: dos importantes áreas de investigación donde el modelo neutral estricto no puede explicar los patrones generales de los datos. Presentamos luego una perspectiva de los modelos estadísticos para detectar la selección positiva, la cual incluye tests para la selección estabilizadora, para la convergencia de secuencias, y para tasas de evolución inusualmente altas que no pueden ser explicadas por los modelos neutrales. Finalmente, presentamos los hallazgos de varios grupos que trabajan en la variación dentro -y entre- las especies en *Drosophila*: éstos subrayan la importancia de la evolución adaptativa, la selección purificadora y la recombinación para comprender los niveles y patrones de la variación nucleotídica.

### INTRODUCCIÓN.

El éxito de la teoría neutral de la evolución molecular para explicar muchos patrones de variación en el ADN y en las proteínas de poblaciones naturales ha creado un serio desafío para los biólogos evolutivos. Bajo la teoría neutral, la deriva genética es la fuerza predominante que gobierna el cambio a nivel molecular. Si la evolución adaptativa es un rasgo corriente de la evolución fenotípica, como ciertamente debe serlo, entonces la incapacidad para encontrar evidencia de la selección natural en el propio material genético (o en las alozimas) suscita preocupaciones de largo alcance acerca de nuestra comprensión de la evolución a nivel molecular. La evolución darwiniana requiere de sustituciones adaptativas en el ADN.

Para detectar la selección natural a nivel del ADN, el análisis estadístico de la variación dentro o entre las especies debe sortear dos problemas: identificar los rasgos del proceso que distingue a la deriva genética de la selección natural, y detectar esta señal cuando sólo un subgrupo de cambios mutacionales se encuentran bajo selección natural. A pesar de estos obstáculos, el desarrollo de metodologías de secuenciación de ADN y el avance de las teorías predictivas para explicar los datos de la evolución molecular han renovado el interés en el análisis estadístico de la variación en las secuencias. En el frente teórico, la teoría neutral de la evolución molecular de Kimura (52) provee de predicciones cuantitativas para los niveles de variación tanto dentro como entre las especies; esta teoría ha asentado los fundamentos modernos de la mayor parte del pensamiento evolutivo molecular (ver, por ejemplo, 63). Los avances teóricos más recientes incluyen modelos de selección débil (revisados en 79), la reformulación de la teoría neutral utilizando la teoría de coalescencia y genealogías de genes (revisadas en 22, 41, 94), y el estudio de la variación neutral ligada a sitios bajo selección direccional (15, 49) y selección estabilizadora (42, 48, 96). Además, Gillespie (30) ha desarrollado modelos de selección en ambientes fluctuantes.

Las principales teorías de la evolución molecular -el modelo neutral de Kimura, el modelo ligeramente deletéreo de Ohta y los modelos de Gillespie de selección estabilizadora y episódica- son todas consistentes con al menos algunos aspectos de los datos de alozimas y del ADN. Ninguno de estos modelos, sin embargo, puede dar cuenta de todas las observaciones empíricas disponibles. La comprensión de la evidencia, creemos, requerirá de una teoría amplia que enfatice las fuerzas débiles y poderosas que actúan simultáneamente bajo las restricciones del ligamiento genético y el tamaño poblacional.

## LA TEORÍA NEUTRAL Y LOS PATRONES DE VARIACIÓN Y EVOLUCIÓN DE LAS PROTEÍNAS.

### *Variación Alosímica.*

El estudio moderno de la variación a nivel de los genes comenzó con el desarrollo de una metodología para cuantificar la variación proteica en loci génicos únicos, por Hubby & Lewontin (40) y Harris (37), y con el descubrimiento subsiguiente de grandes cantidades de polimorfismo en *Drosophila pseudoobscura* (61, 84). El dilema presentado por los hallazgos se estableció rápidamente. Para 1970, Dobzhansky estaba satisfecho con que las grandes cantidades de polimorfismo alosímico en *Drosophila* y humanos 'están claramente de acuerdo con el modelo estabilizador más que con el modelo clásico de estructura genética poblacional' (17, p. 224). Sin embargo, reconociendo los argumentos expuestos por Kimura, Nei y otros, afirmó a continuación que 'el mantenimiento de polimorfismo y heterocigosidad abundantes en las poblaciones requiere, sin embargo, de una explicación... La forma más fácil de cortar el nudo gordiano es, por supuesto, asumir que una gran mayoría de los polimorfismos observados involucran a variantes génicas que son selectivamente neutras, es decir, que no tienen efectos apreciables en la eficacia de sus portadores.'

Una combinación de estudios bioquímicos y datos de historia natural apoya el rol de la selección natural en el mantenimiento de un número de polimorfismos enzimáticos (revisados en 30, 95). A pesar de que los estudios de casos proveen de ejemplos fascinantes de adaptación bioquímica, la evidencia del mantenimiento selectivo de unos pocos polimorfismos enzimáticos bien caracterizados no contribuye a establecer el punto más general de las contribuciones relativas de la selección y la deriva en la determinación de los niveles observados de variación alosímica.

Para las alosimas, la falta de evidencia estadística concreta de la selección positiva (sea estabilizadora o direccional) ha conducido a la creencia generalizada de que los procesos adaptativos no son frecuentes en la evolución de las proteínas. Muchos rasgos del polimorfismo y la divergencia proteicos son consistentes con la teoría neutral (52, 63, 74; ver 30 para una refutación). Estimaciones de la heterocigosidad en un único locus (26, 75), la varianza de la heterocigosidad (32), el número de alelos por locus (14) y la correlación de la heterocigosidad de un único locus entre especies emparentadas (13) pueden todos ser explicados por la acción de la deriva genética sobre variantes neutras. Una correlación positiva entre la cantidad de polimorfismo alosímico y la tasa evolutiva también es predicha por la teoría neutral (87). Sin embargo, Gillespie (31) ha demostrado recientemente que tal correlación también se espera que ocurra en loci bajo selección estabilizadora. Otros autores han expresado su cautela acerca de las predicciones superpuestas hechas por la teoría neutral y la teoría selectiva, especialmente porque se relacionan con los datos de frecuencias génicas (21, 53).

**POLIMORFISMO DE LAS ALOZIMAS VS. DEL ADN** Bajo la teoría neutral estricta, los niveles de polimorfismo (medidos por la heterocigosidad) serán proporcionales al producto del tamaño efectivo poblacional por la tasa de mutación neutra (52). Asumiendo tasas similares de mutación entre especies y poblaciones en equilibrio, la teoría neutral predice una correlación positiva entre la variación genética y el tamaño poblacional. Sin embargo, la heterocigosidad alosímica no difiere sustancialmente entre las especies. Nei & Graur (76) resumen los datos de cientos de organismos en los cuales 20 o más loci alosímicos fueron examinados: en promedio, los invertebrados tienen como máximo sólo el doble de polimorfismo que los vertebrados. ¿Por qué los niveles de polimorfismo y el tamaño poblacional no muestran la correlación predicha por la teoría neutral estricta de la evolución molecular? Una posibilidad, propuesta por Nei & Graur, es que hayan ocurrido cuellos de botella poblacionales en la historia reciente de muchas especies.

Sin embargo, la comparación del polimorfismo proteico con el del ADN sugiere que los cuellos de botella poblacionales no explican la similitud de la heterocigosidad alosímica entre las especies. En *Drosophila melanogaster* y *D. simulans*, los niveles de variación alosímica son aproximadamente los mismos (quizás sean aún más bajos en *D. simulans*) (16). Sin embargo, estudios con RFLP y secuencias de ADN indican niveles de polimorfismo nucleotídico al menos de tres a seis veces más altos en *simulans* (revisado en 4). Si las heterocigosidades nucleotídicas son una medida de las mutaciones que evolucionan neutralmente, y si las variantes alosímicas son también mantenidas por la deriva genética, entonces la heterocigosidad proteica debería mostrar una diferencia similar entre *D. melanogaster* y *D. simulans*, sin

importar si las poblaciones están en equilibrio. La falta de tal patrón en la variación alozímica no puede ser explicada por la teoría neutral estricta. Aquadro (4) postula una selección débil contra las mutaciones que reemplazan a los aminoácidos. Bajo un modelo ligeramente deletéreo de evolución proteica, la selección será más efectiva a la hora de eliminar a las mutaciones de reemplazo de aminoácidos débilmente deletéreas en las especies con mayores tamaños poblacionales.

Humanos y *Drosophila*, para los cuales existen abundantes datos, muestran también poca diferencia en los niveles de polimorfismo alozímico. Li & Sadler (64) enviaron esta conclusión comparando datos de alozimas y ADN humanos. Restringieron su análisis a los alelos que fueron secuenciados en un mismo laboratorio, aproximadamente 49 loci en total, para asegurar que cualquier diferencia entre dos secuencias sería chequeada. Nótese que la tasa de error del 1% durante la secuenciación puede ser 10 o 100 veces más alta que las diferencias polimórficas que ocurren naturalmente entre dos alelos, posiblemente tan pequeñas como 0,1%-0,01%. Lo que el estudio reveló fue más que sorprendente: el nivel más alto de polimorfismo nucleotídico fue de sólo 0,11% para sitios con un nivel de degeneración 4, aproximadamente seis veces más bajo que las estimaciones en *D. melanogaster* y más de diez veces más bajos que en *D. simulans* y *D. pseudoobscura*.

Los datos del ADN apoyan una intuición general: existen (y han existido) más moscas que humanos. Pero, ¿qué hay de los niveles aproximadamente similares de polimorfismo proteico entre las dos especies? Si los datos son correctos, y el tamaño efectivo poblacional puede ser inferido a partir de los datos nucleotídicos, el modelo neutral puede nuevamente ser refutado. Li & Sadler, al igual que Aquadro, proponen que efectos levemente deletéreos en la eficacia de variantes proteicas pueden explicar estos patrones. Sin embargo, los autores no intentaron evaluar el modelo en forma cuantitativa. Alternativamente, una selección estabilizadora penetrante puede explicar también casi los mismos niveles de polimorfismo proteico (discutido más abajo).

### *Divergencia de las Proteínas.*

SOBREDISPERSIÓN DEL RELOJ MOLECULAR. La divergencia tipo reloj de varias proteínas fue inicialmente considerada como un fuerte apoyo a la teoría neutral de evolución molecular (52). Para mutaciones estrictamente neutras (con coeficientes de selección de cero), la tasa de divergencia igualará la tasa de mutación a los alelos neutros, independientemente del tamaño poblacional. La variabilidad en la divergencia de las proteínas, sin embargo, ha sido y permanece como un problema irritante para la teoría neutral. La teoría neutral estricta predice, bajo una tasa de mutación constante para alelos neutros, que la varianza esperada en la tasa evolutiva igualará a la tasa media (52). Esto es una simple consecuencia de modelar las mutaciones como un proceso puntual de la distribución de Poisson. Tan tempranamente como en 1971, Ohta y Kimura reconocieron que la constancia en la tasa de cambios con reemplazo de aminoácidos era violada para la  $\beta$ -hemoglobina y el citocromo c (82). Pero las relaciones,  $R$ , varianza : media no estaban severamente en desacuerdo con las predicciones teóricas ( $R_{\beta\text{-globina}} = 2,05$ ;  $R_{\alpha\text{-globina}} = 1,37$ ;  $R_{\text{citocromo c}} = 1,82$ ). Langley & Fitch (56, 57), en análisis más sofisticados, hallaron que las tasas de sustitución de aminoácidos para cuatro proteínas variaban dentro de los linajes mamíferos tres veces más de lo que predecía la teoría neutral. Kimura admitió esta aparente discrepancia pero criticó a los detractores por ‘ver el árbol y no ver el bosque’ (52). Varios estudios subsiguientes de Gillespie (29, referencias citadas allí) y la identificación de un sesgo en las estimaciones (28) produjo una nueva estimación promedio de la sobredispersión del reloj molecular,  $R(t) = 7,75$ ; y una renovada crítica de la neutralidad. Takahata (92, ver también 24) modeló la evolución de las proteínas con una tasa de mutación cambiante para permitir una varianza aumentada en la tasa de sustituciones. Gillespie, sin embargo, permaneció inexorable, ‘El que las sustituciones con reemplazo sean seleccionadas parece casi ineludible’ (29, pero ver también 31).

EFFECTOS DEL LINAJE Y EL TIEMPO DE GENERACIÓN La teoría neutral predice una tasa constante de evolución igual a la tasa de mutación por generación. Dadas grandes diferencias en los tiempos de generación (incluso dentro de los mamíferos) el comportamiento tipo reloj de la divergencia de las proteínas en relación al tiempo absoluto es sorprendente (52). Un efecto del tiempo de generación observado en la evolución del ADN fue entonces bienvenido por los neutralistas. En una serie de artículos sobre la tasa de

evolución del ADN, Li y colaboradores (65-67) documentaron un enlentecimiento dos veces menor en la divergencia neutral en humanos en comparación con la de los monos rhesus, aproximadamente diez veces menor entre humanos y ratones, y una diferencia de dos a cuatro veces entre humanos y artiodáctilos. Los datos se basan en sustituciones sinónimas, sitios que no codifican (principalmente intrones) y pseudogenes ( $\alpha$  y  $\beta$  globinas). Existe también la sugerencia de un enlentecimiento en la tasa de evolución de las proteínas en primates (humanos en particular) comparada con la de los roedores (33, 35, 66, 67), pero no hay aún suficientes datos disponibles para garantizar alguna conclusión.

El efecto del tiempo de generación observado para el ADN puede no aplicarse a las proteínas. Como fue presentado en la ya clásica revisión de la hipótesis del reloj molecular de 1977, Wilson et al. (97) rechazaron un efecto del tiempo de generación en favor de una dependencia de la tasa constante en la sustitución proteica del tiempo absoluto (geológico). Como en la heterocigosidad alozímica y del ADN, puede haber una inconsistencia entre la evolución proteica y la evolución del ADN no codificante. Interesantemente, Li et al. (66) notaron la misma posible discrepancia en su análisis de secuencias de ADN, pero no ofrecieron ninguna explicación.

Easteal & Collet (20) compararon recientemente las tasas de sustituciones con reemplazo y silenciosas entre linajes de roedores y primates, utilizando a los marsupiales como grupo externo. En los sitios de reemplazo, de 14 genes, 12 mostraron gran divergencia en el linaje de los roedores. Muchos de estos sitios muestran tasas variables de evolución silenciosa (algunos parecen estar cerca de la saturación), pero no hay un efecto global para todo el linaje. Contrariamente a los hallazgos de Li y colaboradores, estos resultados sugieren una tasa de evolución de las proteínas más rápida en roedores que en primates. Easteal & Collet invocan mutaciones levemente deletéreas dirigiéndose a la fijación en las presumiblemente menores poblaciones del linaje de los roedores para explicar las mayores tasas de evolución de las proteínas. No hay evidencia, sin embargo, para apoyar la idea de que históricamente los tamaños poblacionales hayan sido menores en roedores que en primates. Interesantemente, variantes proteicas débilmente deletéreas son también invocadas (77) para explicar la falta de un efecto global en el linaje en la evolución de las proteínas hallada por Li y colaboradores; la tasa de evolución de las proteínas en las presumiblemente menores poblaciones de primates aumenta al permitir que más mutaciones levemente deletéreas se dirijan a la fijación por deriva genética, compensando así el enlentecimiento causado por la tasa intrínsecamente más baja de mutación por unidad de tiempo absoluto. Una vez más, los modelos de evolución adaptativa no pueden ser excluidos como explicaciones para los datos de proteínas (31).

### *Evolución Levemente Deletérea de las Proteínas.*

Uno de los aspectos más atrayentes de la teoría neutral es su capacidad de hacer predicciones cuantitativas tanto para los niveles esperados de variación dentro de las poblaciones como para la divergencia entre especies. La teoría neutral estricta no puede explicar o la falta de variación en los niveles de polimorfismo proteico en especies diferentes o los niveles inesperadamente altos de variación en las tasas de divergencia proteica (ambas observadas como sobredispersión del reloj y como efectos del linaje).

Ohta, Kimura y otros (revisado en 52, 79) han desarrollado el modelo levemente deletéreo de evolución molecular para explicar algunas de estas discrepancias. Las contribuciones relativas de fuerzas estocásticas y deterministas a la dinámica evolutiva de las mutaciones levemente deletéreas dependen críticamente del tamaño poblacional. Este modelo propone la existencia de una gran clase de variantes proteicas con coeficientes de selección en el rango de  $1/Ne$  (el recíproco del tamaño efectivo poblacional de la especie). Esto permite que los patrones no neutros puedan ser explicados por la dependencia de la selección deletérea de los tamaños poblacionales. Desafortunadamente, la falta de estimaciones independientes de  $Ne$  en la mayoría de las poblaciones naturales permite una gran libertad de invocar una 'casí neutralidad' para explicar muchos patrones no neutros de evolución proteica. Más importante, a pesar de que muchos aspectos de la dinámica evolutiva de las mutaciones débilmente seleccionadas han sido investigados teóricamente (79), hay poca evidencia directa de que una proporción de mutaciones en aminoácidos caiga dentro de esta clase de efectos en la eficacia. En *Drosophila*, donde altos niveles de polimorfismo silencioso sugieren tamaños efectivos poblacionales evolutivos muy grandes, la región comprendida por:  $|s| < 1/Ne$  puede ser más pequeña que  $|s| < 10^{-6}$ . Tal región no puede siquiera

representarse por una fina línea en los histogramas clásicos de viabilidad cromosómica (71, 72). No sabemos virtualmente nada acerca de la distribución alrededor de cero de los efectos en la eficacia de nuevas mutaciones.

Tal vez la evidencia disponible más fuerte para la selección débil sobre variantes proteicas proviene del estudio de Hartl et al. (38) del polimorfismo de reemplazo y silencioso del ADN en el locus 6-fosfogluconato deshidrogenasa (*gnd*) de *Escherichia coli*. Cuando se la compara con la de las mutaciones silenciosas, la distribución de las frecuencias de las mutaciones en aminoácidos es desviada significativamente hacia las variantes raras, lo que implica la acción de la selección purificadora sobre los cambios en las proteínas. Sin embargo, estimaciones de máxima verosimilitud muestran que la intensidad de la selección para mutaciones de reemplazo probablemente no es más que un orden de magnitud mayor que para los cambios silenciosos. Sería muy interesante ver si las tasas de evolución proteica de la *gnd* varían considerablemente entre linajes con diferentes tamaños efectivos poblacionales.

Ohta (80) analizó los datos de los genes de alcohol deshidrogenasa en las *Drosophila* hawaianas, el subgrupo de la especie *D. melanogaster* y el subgrupo de la especie *D. obscura*, mostrando que la tasa de sustitución con reemplazo en relación a la tasa sinónoma es de un 40-50% más alta en las poblaciones (presumiblemente) más pequeñas de las especies hawaianas. Los datos son consistentes con un modelo levemente deletéreo, pero las alternativas adaptativas tales como el modelo de selección episódica de Gillespie (30) no pueden ser rechazadas.

## EVIDENCIA ESTADÍSTICA DE LA EVOLUCIÓN ADAPTATIVA DE LAS PROTEÍNAS.

Patrones a gran escala del polimorfismo y divergencia proteicos nos permiten rechazar el modelo neutral estricto de la evolución molecular. Desafortunadamente, no podemos distinguir si son los modelos casi neutrales o los modelos adaptativos los que explican mejor estos datos. La evidencia molecular locus-específica para la evolución adaptativa de las proteínas, sin embargo, se ha vuelto cada vez más abundante. Revisaremos brevemente algunos de los casos mejor documentados; todos se basan en trabajos recientes utilizando comparaciones de ADN.

### *Selección Estabilizadora.*

La teoría de que la selección estabilizadora mantiene el polimorfismo alozímico es una alternativa obvia a la selección contra mutaciones levemente deletéreas (con tamaños poblacionales cambiantes) para explicar la falta de variación en las heterocigosidades alozímicas entre especies. Bajo este modelo de selección, los niveles de polimorfismo pueden ser casi independientes del tamaño poblacional, en vez de ser gobernados por las condiciones ambientales y por la tasa a la cual surgen los polimorfismos balanceados. Muy pocos estudios han demostrado convincentemente la presencia de la selección estabilizadora en la naturaleza, y hay varios argumentos teóricos en contra de un rol prominente de la misma (52, 60, pero ver también 88). Ejemplos de un único locus, sin embargo, existen tanto para humanos como para *Drosophila*. El trabajo reciente de Berry & Kreitman (9) provee fuerte evidencia de que la selección estabilizadora mantiene la clina de frecuencias del gen alcohol deshidrogenasa (*Adh*) a lo largo de la costa este de los Estados Unidos en *D. melanogaster*. De aproximadamente 20 sitios nucleotídicos polimórficos en el locus *Adh*, sólo el polimorfismo Rápido-Lento de reemplazo de aminoácidos y una inserción en un intrón (el cual incrementa los niveles de expresión de los genes -58) son significativamente clinales.

La hipótesis de que la selección estabilizadora mantiene el polimorfismo Rápido-Lento también está apoyada por un análisis de la variación silenciosa del ADN alrededor del único cambio de aminoácidos. Bajo selección estabilizadora, los alelos pueden continuar segregándose en la población por más tiempo que el que se esperaría para variantes neutrales. Las mutaciones neutras se acumularán en los sitios estrechamente ligados a los alelos seleccionados, conduciendo a inusualmente altos niveles de variación silenciosa entre ellos (42, 48). Un test estadístico conservador muestra un exceso de variación silenciosa alrededor del polimorfismo de reemplazo Rápido-Lento que no puede ser explicado por deriva genética (43). El test HKA detectará sólo a los polimorfismos balanceados que han estado segregándose en la población por un largo período de tiempo y sólo cuando la tasa de recombinación alrededor del sitio

seleccionado es suficientemente baja. El test ha sido aplicado a los datos de varios otros loci en *D. melanogaster* que se piensa poseen polimorfismos mantenidos por la selección; sólo *Adh*, y posiblemente alfa-glicerofosfato deshidrogenasa (93) proveen evidencia para la selección estabilizadora. La selección estabilizadora o bien es rara o es de vida corta, o sino es la recombinación la que usualmente borra sus huellas. Además, la interpretación del test HKA para datos de *Drosophila* se ha vuelto complicada por la presencia de selección de codones (2) así como por barridas selectivas y la selección de fondo (discutidos más tarde).

Hudson et al. (44) han propuesto recientemente un test para detectar la acción de la selección estabilizadora en alelos más recientemente derivados. En un estudio de secuencias de ADN de los genes superóxido dismutasa (*Sod*) de *D. melanogaster*, 19 alelos de la variante alozímica lenta comparten un haplotipo idéntico, mientras que 22 alelos de la (presumiblemente más vieja) alozima rápida poseen mucha más variación en la secuencia. Hudson et al. muestran que las altas frecuencias (alrededor de 50% tanto en California como en España) de la variante recientemente derivada *Sod<sup>s</sup>* son poco probables de haber ocurrido solamente bajo la acción de la deriva genética. La acción de la selección natural puede ser necesaria para explicar la rápida dispersión de *Sod<sup>s</sup>*.

Un reclamo más general de selección sobredominante para mantener el polimorfismo alozímico es hecho por Karl & Avise (51) para la ostra americana, *Crassostrea virginica*. Las poblaciones de esta ostra, que se encuentran lo largo de la costa este de los Estados Unidos, incluyendo el golfo de Méjico, son altamente polimórficas para las alozimas. Hay poca diferenciación genética entre las poblaciones -nada sorprendente para una especie con larvas planctónicas. Sin embargo, el análisis del ADN mitocondrial revela una diferenciación sustancial entre las poblaciones del golfo y las de la costa este. Análisis subsiguientes de dos polimorfismos al azar del ADN copia única nuclear parecen confirmar la diferenciación entre las dos poblaciones. Clinas similares para varias alozimas de cara a una fuerte subdivisión poblacional sugieren que la selección estabilizadora está manteniendo las alozimas en frecuencias relativamente constantes a través de la extensión de distribución de la especie. Pero con sólo dos marcadores nucleares para confirmar los datos del ADN mitocondrial, no podemos llegar a ninguna conclusión fuerte sobre el rol de la selección. En realidad, la selección divergente sobre el ADN mitocondrial puede proveer de una explicación de los datos más parsimoniosa. Deberían colectarse datos adicionales del ADN nuclear para esta especie.

### *Evolución Acelerada de las Proteínas.*

El surgimiento de datos de secuencias de ADN para muchos genes y especies revela un principio general acerca de la evolución de las proteínas: la gran mayoría de las mutaciones de reemplazo de aminoácidos son desventajosas y son eliminadas por la selección. La tasa de evolución del reemplazo de aminoácidos puede ser tan baja como cero pero es casi siempre menos que la tasa de evolución silenciosa. Por tanto, las tasas de evolución de las proteínas pueden ser explicadas por una combinación de la eliminación de mutaciones de reemplazo deletéreas por la selección purificadora y la fijación de mutaciones selectivamente neutras por la deriva genética. La selección natural sin duda permanece atenta para eliminar las mutaciones deletéreas. La pregunta es si todos los otros cambios (no deletéreos) de aminoácidos observados dentro y entre las poblaciones naturales son neutros, débilmente seleccionados, o adaptativos.

Gillespie (27, 31) ha propuesto un modelo de selección episódica para permitir que explosiones esporádicas de cambios puedan dar cuenta de la tasa de variación mayor de lo esperada en la evolución de las proteínas. Sin embargo, hay pocos, si es que los hay, ejemplos específicos de selección episódica. Cita varios ejemplos de evolución acelerada -hemoglobina de babuinos, pigmentos visuales y citocromos humanos- junto con la advertencia, ‘... las causas de la mayoría de las aceleraciones descritas ... son desconocidas.’

**DUPLICACIONES DE GENES** La evidencia más fuerte de evolución acelerada en proteínas es la que sigue a la duplicación de genes (62, 78, 81). El fenómeno fue descrito por primera vez para las hemoglobinas luego de la separación de las familias  $\alpha$  y  $\beta$  (34, 36). Ohta cita varios ejemplos adicionales, incluyendo la hemoglobina  $\gamma$  (Anthropoidia) y  $\beta$  (cabra vs. oveja), lisozimas del estómago de los rumiantes, pigmentos

visuales y receptor adrenérgico (humanos), antígeno de la histocompatibilidad (sitio de reconocimiento del antígeno, humano y ratón), inmunoglobulinas (cadena pesada de ratón y cadena appa de la rata), e inhibidor de las proteasas (sitio de inhibición, muchas especies). Otros ejemplos de evolución acelerada asociados con la duplicación de genes son provistos por Li (62), incluyendo a la somatostatina (peces), citocromo c (*Drosophila*), y genes de la hormona de crecimiento (humanos y bovinos). Aceleraciones de la tasa han sido también convincentemente demostradas para la insulina en roedores histricomorfos (11, 13). En este caso, sin embargo, la aceleración no es atribuída a la duplicación sino a un cambio en la proteína activa de hexámero a monómero en el linaje del cobayo.

En todos los ejemplos anteriores, la evidencia de la aceleración de la tasa es de gran valor para la divergencia proteica,  $k_a$ , en relación a la divergencia silenciosa,  $k_s$ , o en relación al promedio de valores de  $k_a$  en otros linajes. En sólo un caso  $k_a$  excedió a  $k_s$  (antígeno de la histocompatibilidad). Dada la gran varianza esperada en las tasas evolutivas, la ausencia de pruebas estadísticas adecuadas, y la falta de información funcional acerca de las consecuencias de las sustituciones, es poco probable que esta aproximación sea útil para distinguir entre la evolución adaptativa y el relajamiento de las constricciones. Quizás no sea sorprendente que la conclusión de Li (62) acerca de la causa probable de la aceleración de la evolución luego de la duplicación de genes, ‘... la relajación de constricciones selectivas parece ser una explicación más plausible que la mutación ventajosa’, contraste agudamente con la conclusión de Ohta (78) acerca de los mismos datos: ‘A pesar de que nuevamente es difícil juzgar cuál de las dos hipótesis es correcta, es probable que la selección natural favorezca a aquellos individuos que posean las mutaciones deseadas en las copias de los genes duplicados.’

Un caso convincente de evolución adaptativa luego de la duplicación de genes es el gen *jingwei* de rápida evolución en *D. yakuba* y *D. teissieri* (68). Las dos especies forman un clado monofilético dentro del subgrupo de la especie *D. melanogaster*. Una duplicación génica surgió del gen *Adh* por retrotransposición en el clado *yakuba-teissieri*, cayendo en un cromosoma diferente. No sólo  $k_a$  excede a  $k_s$  entre genes parálogos dentro de cada especie así como entre los genes *jingwei* homólogos entre especies, hay también una relación significativamente más alta de reemplazo de aminoácidos hacia cambios sinónimos entre especies que dentro de las mismas. Tales comparaciones, si los cambios sinónimos son neutros, revelan la acción de selección positiva para cambios de aminoácidos (70, 85, discutido más abajo).

**DIVERGENCIA POR REEMPLAZO VS. SILENCIOSA** Como se discute más arriba, algunas proteínas muestran tasas más rápidas de reemplazo que de evolución sinónoma del ADN. La primera, y posiblemente la más dramática, es la rápida evolución de los sitios de reconocimiento de antígenos (ARS) de los genes de clase I y II del locus mayor de la histocompatibilidad de humanos y ratones. Como Hughes & Nei pudieron mostrar, la divergencia por reemplazo en la región ARS es más alta que en los sitios silenciosos y no codificantes en la misma especie. Si los sitios silenciosos evolucionan neutralmente, como en general se cree, entonces la tasa más alta de los sitios antigénicos debe reflejar la contribución de la selección natural positiva. Además, las sustituciones no sinónimas que resultan en cambios en la carga de la cadena lateral ocurren en el sitio de unión de los ARS más frecuentemente que lo que predice el azar (47). Estos mismos loci, vale la pena notarlo, ofrecen evidencia dramática de una persistente selección estabilizadora: dos alelos altamente divergentes son compartidos por ratones y ratas, sugiriendo un ancestro común muy reciente de al menos 13 millones de años atrás (23).

Varias puntualizaciones deberían hacerse acerca de este tipo de evidencia de selección positiva. Primero, el requerimiento de que los cambios de reemplazo de aminoácidos sean más frecuentes que los cambios silenciosos es un criterio extremadamente rígido para detectar la selección. Debido a que la selección purificadora es la forma más prominente de selección en proteínas (52), la tasa de sustitución con reemplazo de aminoácidos tenderá a ser mucho más baja que la de la divergencia sinónima. Probablemente sólo en la más rara de las instancias la selección positiva elevará la tasa a un nivel que exceda el de la tasa neutral; por tanto, muchas instancias de evolución adaptativa pueden no ser vistas. Segundo, en especies que muestran un sesgo en la utilización de codones, la selección purificadora puede restringir la divergencia sinónima (revisado en 86). La validez de la comparación  $k_a > k_s$  depende críticamente de la asunción de neutralidad en los sitios silenciosos, una asunción que debe ser cuidadosamente examinada (2, 86). Tercero, la elevada tasa de sustitución con reemplazo estará restringida probablemente a un único, y posiblemente pequeño, dominio de la proteína. En el caso de MHC, la circularidad en la definición del sitio seleccionado

se evita debido a que el sitio de reconocimiento del antígeno ha sido identificado independientemente del patrón de divergencia por reemplazo.

Una elevada divergencia proteica comparada con la divergencia sinónima se observa en las lisinas espermáticas de 20 especies de moluscos gasterópodos de California, sugiriendo selección positiva (58, 59). Sorprendentemente, varias comparaciones pareadas muestran un exceso de divergencia no sinónima en la proteína entera. Además, Lee et al. (58) encontraron un sesgo pequeño en la utilización de codones en estos genes, sugiriendo que la selección purificadora en sitios silenciosos no explica el exceso de divergencia con reemplazo entre especies. La presión selectiva que dirige la evolución adaptativa de las lisinas espermáticas de estos moluscos, sin embargo, aún debe ser establecida.

**COMPARACIONES BASADAS EN LINAJES** Por mucho tiempo se pensó que la rápida evolución de los sitios antigénicos en las hemaglutininas del virus A de la influenza que afecta a los humanos era dirigida por la selección para escapar a la respuesta inmunológica del hospedero. Fitch et al. (25) proveyeron evidencia estadística apoyando esta afirmación. La proteína puede dividirse en sitios antigénicos y sitios no antigénicos (se sabe mucho acerca de la estructura y función de la proteína, en gran medida gracias a los esfuerzos de Wiley y colaboradores, citado en 25). Además, este virus provee una oportunidad única para estudiar la evolución molecular. Debido a que muchas cepas (ahora extintas) fueron colectadas y guardadas en el laboratorio, la evolución en los linajes sobrevivientes puede ser contrastada con la de las ramas extintas. Fitch et al. muestran un exceso significativo de cambios antigénicos en el tronco (sobreviviente) del árbol filogenético comparado con las ramas tipo ‘callejón sin salida’ (extintas). La selección positiva parece estar dirigiendo la rápida evolución del sitio antigénico del virus A de la influenza.

Hughes (45) ha puesto a prueba la predicción de la teoría neutral de que el número de reemplazos de aminoácidos en una región dada de un gen debería ser una función lineal del número de reemplazos en otra región del mismo gen. Aplicando esta idea a la familia de genes de la proteína 70 de choque térmico (‘heat-shock protein’), Hughes halló relaciones no lineales entre tres dominios funcionales de la proteína. Los resultados son consistentes con la divergencia adaptativa entre miembros de la subfamilia de genes, pero la posibilidad de cambios en las restricciones funcionales en uno o más dominios en algunos de los linajes no puede ser rechazada.

### *Evolución Convergente.*

La convergencia funcional a través de sustituciones paralelas en linajes evolutivos diferentes demuestra la acción de la evolución darwiniana en las proteínas. A pesar de que la convergencia funcional en proteínas puede ocurrir con o sin convergencia estructural o de secuencia, la evidencia rigurosa de la evolución adaptativa en proteínas está limitada a casos de convergencia tanto en la función como en la secuencia aminoacídica.

Para demostrar la convergencia de secuencia, debe demostrarse que los cambios compartidos sean caracteres derivados más que estados ancestrales conservados o eventos al azar; la convergencia sólo puede discernirse en un contexto filogenético. La evolución de las lisozimas del estómago de la vaca y el mono langur provee la evidencia disponible más fuerte de la convergencia adaptativa en proteínas (89, 90). Las lisozimas, expresadas en macrófagos, funcionan como enzimas antibacterianas. Dos órdenes de mamíferos (primates y artiodáctilos) han reclutado independientemente a las lisozimas para digerir la celulosa en un pre-estómago fermentador. Los autores desarrollaron un test para la convergencia basado en la filogenia contrastando los cambios silenciosos y de reemplazo en cuatro linajes: vaca (artiodáctilo), ratón (roedor), y monos rhesus y langures (primates). El test involucra la construcción de tres posibles relaciones entre las secuencias de las lisozimas de las cuatro especies. De 14 cambios silenciosos en el ADN, 13 apoyan el árbol bien establecido (los primates juntos, la vaca y el ratón juntos) mientras que 6 de los 15 sitios con reemplazo apoyan una genealogía que liga al mono langur con la vaca. Las distribuciones de los cambios silenciosos y de reemplazo en el árbol estándar son significativamente diferentes, sugiriendo que al menos algunos de los 6 cambios con reemplazo han ocurrido en paralelo.



Hay otros ejemplos potenciales de evolución convergente. Yokohama & Yokohama (98) compararon los pigmentos visuales de los peces ciegos de las cavernas con los humanos. Los autores argumentan la evolución independiente de los pigmentos visuales rojos tanto en peces como en humanos a partir de pigmentos verdes ancestrales. Sin embargo, la convergencia postulada involucra sólo dos o tres cambios posibles de aminoácidos en 15 residuos variables, y aún debe ser demostrado que estos cambios paralelos no son meras coincidencias. El significado funcional de los cambios convergentes putativos debería ser investigado.

Aparte de las lisozimas, pocas declaraciones de convergencia están apoyadas por análisis filogenéticos. Un ejemplo carente de dicho análisis es el del citocromo c de la serpiente de cascabel, hipotéticamente convergente con el homólogo humano (3). Una comparación de la secuencia de aminoácidos del citocromo c de la cascabel con la de otros ocho vertebrados utilizando una matriz de diferencias indica que el citocromo c de la cascabel se parece más al citocromo c humano. Los citocromos c humanos y de la serpiente de cascabel se diferencian en 14 de 104 aminoácidos. Sin embargo, los citocromos c de la cascabel y del lagarto monitor se diferencian en sólo 16 aminoácidos. Sin ninguna evidencia de convergencia funcional entre el citocromo c humano y el de la serpiente de cascabel y en ausencia de un análisis filogenético, la similitud entre estas dos moléculas puede ser explicada en términos de homoplasia resultante de una sustitución acelerada más que de la evolución convergente.

Los ejemplos de evolución convergente apoyados por pruebas filogenéticas son pocos en número. Desafortunadamente, un análisis filogenético no garantiza que la convergencia sea detectada debido a que el poder del análisis estadístico depende del número de sustituciones paralelas. Al igual que las comparaciones de las tasas de divergencia por reemplazo y silenciosas, este test no detectará las instancias en las cuales el número de cambios adaptativos sea pequeño.

#### *Relaciones del Polimorfismo y la Divergencia.*

McDonald & Kreitman (70) pusieron a prueba una predicción simple de la teoría neutral estricta para el polimorfismo dentro de las especies y las sustituciones entre las especies. De acuerdo a la teoría, los niveles de polimorfismo y las tasas de cambio están correlacionados en forma positiva, y ambos son gobernados por la tasa de mutaciones neutras (52). Una región de un gen con muchas mutaciones neutras posibles debería ser más polimórfica y debería evolucionar más rápido que una región de tamaño similar bajo restricciones selectivas más severas. La predicción fue probada para cambios con reemplazo de aminoácidos y para cambios sinónimos en el locus *Adh* de tres especies, *D. melanogaster*, *D. simulans* y *D. yakuba*. Se observó un exceso estadísticamente significativo de cambios con reemplazo de aminoácidos entre especies en comparación con los cambios sinónimos, lo que sugiere que una fracción significativa de los cambios con reemplazo de aminoácidos entre especies es dirigida por la selección natural.

Muchas otras proteínas parecen violar la predicción de la teoría neutral para el polimorfismo y la divergencia. En una comparación dentro y entre especies del locus *glucosa-6-fosfato deshidrogenasa* de *D. melanogaster* y *D. simulans* (18), sólo se detectaron dos polimorfismos de reemplazo de aminoácidos de un total de 44 alelos *G6pd* de las dos especies. Uno, como *Adh-R/L*, es probable que sea un polimorfismo balanceado. En contraste, hay 21 diferencias por reemplazo entre las especies. El test McDonald-Kreitman es altamente significativo. El estudio de la esterasa 6 (50) de Karotam et al. mostró que, a diferencia de *Adh* y *G6pd*, *Est 6* es altamente polimórfico para los reemplazos de aminoácidos. No obstante, hay un exceso estadísticamente significativo de sustituciones con reemplazo entre las especies en comparación con los cambios sinónimos.

Hay dos posibles explicaciones alternativas para la desviación significativa de las predicciones neutralistas en dirección a ‘demasiados’ reemplazos de aminoácidos entre las especies. La primera es que los cambios sinónimos, en vez de ser neutrales, están sujetos a una débil selección negativa. Esto es probablemente cierto para *Adh*, el cual posee un sesgo alto en el uso de codones. En comparación con el caso neutral, el polimorfismo será menos severamente reducido que las sustituciones; es esperada una desviación de la neutralidad en la dirección observada si los cambios sinónimos son negativamente seleccionados (2). La segunda alternativa, sugerida por Ohta (80), es que los tamaños poblacionales de las

especies existentes se han incrementado recientemente en comparación con sus tamaños evolutivos. Si las mutaciones de reemplazo de aminoácidos son levemente deletéreas (coeficientes de selección del orden de  $1/Ne$ ), entonces el incremento en el tamaño poblacional permitirá a la selección eliminar las mutaciones deletéreas de las poblaciones actuales. En este escenario, se esperaría un nivel más alto de divergencia por reemplazo en comparación con el del polimorfismo.

## SELECCIÓN NATURAL, RECOMBINACIÓN Y VARIACIÓN GENÉTICA EN DROSOPHILA.

### *Genes Ligados y Barridas Selectivas.*

El tipo final de evidencia que apoya la hipótesis de la adaptación evolutiva es el de los genes ligados (o 'genetic hitchhiking') en *Drosophila*. Estudiado primeramente en forma teórica por Maynard Smith & Haig (69) y por Ohta & Kimura (83), y más recientemente por Kaplan et al. (49), el hitchhiking ocurre cuando una mutación neutral cambia su frecuencia mediante el ligamiento genético con una mutación que está siendo seleccionada. De particular interés es el efecto de una fijación adaptativa reciente a nivel de polimorfismo neutral en una región alrededor de la mutación benéfica. Dependiendo de un número de factores -la tasa de mutación neutra, la tasa de recombinación, el tamaño poblacional, la fuerza de la selección, y el tiempo desde la sustitución selectiva- la barrida selectiva de una mutación favorecida no sólo homogeneizará la población (o especie) hacia la mutación favorecida, sino que también homogeneizará la población hacia mutaciones neutras suficientemente fuerte ligadas. El hitchhiking genético puede reducir la variación que rodea al sitio bajo selección.

Los eventos de hitchhiking (i.e. sustituciones selectivas) pueden ser inferidos a partir de una falta relativa de polimorfismo sinónimo o no codificante en un locus de una especie ya conocida por poseer relativamente altos niveles de polimorfismo silencioso. Además, debe demostrarse que la falta de polimorfismo, aún siendo no codificante, no puede ser atribuída a restricciones selectivas en los sitios bajo consideración. Esto es relativamente fácil de lograr comparando la divergencia evolutiva entre especies para los sitios o regiones afectados; una restricción selectiva, pero no el hitchhiking, resultará en una divergencia relativamente menor entre las especies.

En contraste con los severos tests para la evolución adaptativa descritos en secciones previas, los cuales pueden requerir muchos cambios concentrados en una región pequeña de un gen, la variación reducida por medio del hitchhiking puede resultar de un sólo evento selectivo. Desafortunadamente, una pérdida de precisión es el precio a pagar por la sensibilidad más alta de este test; la mutación seleccionada no puede ser localizada dentro de la región de variación reducida, ni tampoco ser clasificada como cambio de reemplazo o no codificante.

La primera evidencia de un efecto hitchhiking en *Drosophila* fue el reporte de bajos niveles de polimorfismo del ADN en la región 'yellow-achaete-scute' del cromosoma X de *D. melanogaster* (1, 6, 7, 19). Esto es especialmente cierto para *D. simulans*, en la cual hay una dramática falta de polimorfismo. 'Yellow-achaete-scute' se encuentra en el extremo distal del cromosoma X, una región que se sabe posee una recombinación severamente reducida, volviendo sensible su nivel de polimorfismo a las barridas selectivas distantes.

Siguiendo con el mismo razonamiento, Berry et al. (10) secuenciaron 19 genes *cubitus-interruptus-Dominant*, *ci<sup>D</sup>*, en *D. melanogaster* y *D. simulans*. Sólo se encontró un único polimorfismo, mientras que las dos especies diferían en el 10% de los sitios. Claramente, barridas selectivas han ocurrido en el pasado relativamente reciente de ambas especies (su relación es demasiado distante como para que una única barrida selectiva haya ocurrido en su ancestro común). *ci<sup>D</sup>* está ubicado en el cuarto cromosoma, el cual no recombina. Estos datos también sugieren que las barridas adaptativas tal vez sean un rasgo regular de la evolución molecular. Hay sólo 50 grupos de complementación conocidos en el cuarto cromosoma (39), y barridas selectivas independientes han ocurrido tanto en *melanogaster* como en *simulans*.

Se está volviendo aparente que muchas si no todas las regiones de recombinación (severamente) reducida en *Drosophila* exhiben niveles reducidos de polimorfismo (5). Begun & Aquadro (8) han elevado la barrida selectiva al nivel de fuerza en la evolución molecular, sugiriendo la posibilidad de una alta densidad de eventos de barrido a lo largo del genoma. Comparando las tasas de recombinación y los niveles

de polimorfismo para 17 loci en *D. melanogaster*, hallaron una correlación sorprendentemente fuerte ( $r^2 = 0,42$ ). Notando correctamente las grandes varianzas esperadas para las estimaciones del polimorfismo basadas en RFLP, la correlación sugiere que muchas de las regiones han experimentado barridas selectivas relativamente recientes. Para que este tipo de comparaciones tenga significado, el análisis debe tomar en cuenta las variaciones en los niveles de restricción selectiva entre los loci, los cuales pueden ser estimados cuantificando los niveles de divergencia entre especies. Desafortunadamente, tal corrección complica el desarrollo de una teoría de muestreo apropiada y de un test estadístico.

### *Selección de Fondo.*

El desarrollo reciente de un modelo alternativo para explicar la correlación entre la tasa de recombinación y el nivel de polimorfismo complica aún más este cuadro. Charlesworth et al. (15) muestran que la selección en contra de las mutaciones deletéreas emergentes, la ‘selección de fondo’, puede reducir sustancialmente el nivel de la variación neutral en ligamiento si las mutaciones deletéreas surgen a tasas lo suficientemente altas y en bloques fuertemente ligados. El mecanismo de la reducción del polimorfismo puede ser atribuido a la reducción en el número de cromosomas no deletéreos de la población. De acuerdo con los cálculos de los autores, este mecanismo reducirá los niveles de polimorfismo tanto como en un 78% en los cromosomas dos y tres. No puede dar cuenta de la severa reducción en el polimorfismo observada para el cuarto cromosoma y para el extremo del X. Por tanto, al menos para estas regiones, es probable que hayan ocurrido barridas selectivas.

La distribución de frecuencias de las mutaciones segregadas puede proveer de información para distinguir entre las barridas selectivas y la selección de fondo como explicaciones de la variación reducida. Un rasgo adaptativo fijado recientemente provocará un exceso de las variantes raras así como una reducción en la heterocigosidad nucleotídica en la región afectada. El efecto es equivalente a la recuperación de la variación luego de un cuello de botella poblacional (12). La selección de fondo, sin embargo, parece tener poco efecto sobre el espectro de frecuencias esperadas de las mutaciones (15). Tajima (91) ha desarrollado un test estadístico para determinar si el espectro de frecuencias se desvía del esperado para mutaciones neutras en equilibrio. Braverman et al. (12) sugieren que este test debería tener el poder suficiente, en los conjuntos de datos disponibles, para detectar el exceso de variantes raras predichas para las barridas selectivas. Concluyen que otras fuerzas (además de las barridas selectivas) deben ser invocados para explicar la falta de evidencia para las distribuciones sesgadas de frecuencias en las regiones de variación reducida en *Drosophila*. La hipótesis de Aquadro & Begun permanece altamente disputada -ciertamente permanecerá como uno de los principales focos de atención en genética de poblaciones de *Drosophila*.

Como comentario final, notamos que la reducción en la variación observada para todas las regiones de recombinación reducida en *D. melanogaster* viola la hipótesis del polimorfismo balanceado para el mantenimiento de la variación. Si un único polimorfismo balanceado fuera mantenido en el cuarto cromosoma, por ejemplo, se esperaría la acumulación de polimorfismos neutros ligados a lo largo de los dos cromosomas seleccionados (96). Recuérdese que esta era la explicación para los dos alelos MHC altamente divergentes compartidos por la rata y el ratón. La falta de altos niveles de polimorfismo en las regiones de recombinación reducida nos permite rechazar a la selección estabilizadora como explicación general del mantenimiento de la variación genética. La selección estabilizadora, si ocurre a una frecuencia apreciable, puede no durar lo suficiente para la acumulación de mutaciones neutras ligadas.

### CONCLUSIONES.

Un cuadro detallado del polimorfismo en el ADN de *Drosophila* está emergiendo. Desafortunadamente no hay una explicación simple para la complejidad de los patrones observados. Los niveles de variación en un locus pueden depender de la selección en ese locus, de la selección (tanto positiva como negativa) en la región cromosómica del locus, y de la dinámica poblacional de la especie. A pesar de que ninguno de los modelos ‘estándar’ de genética de poblaciones explica en forma adecuada todos los datos moleculares, rasgos individuales de los datos pueden ser explicados en términos de procesos simples tales como la deriva genética o la selección de fondo contra mutaciones deletéreas. Ni el modelo neutral estricto ni ningún otro modelo de evolución molecular puede dar cuenta de los rasgos principales de

la evolución de las proteínas. A pesar de que la deriva genética puede jugar un rol importante en la evolución del ADN, los nuevos datos resucitan la pregunta de qué es lo que causa el polimorfismo y la divergencia proteicos. Curiosamente, para gran parte de los datos no podemos distinguir entre el modelo deletéreo y el adaptativo. Es discutible si la evolución adaptativa a nivel molecular alcanza la hegemonía que disfruta en la evolución fenotípica, pero la evidencia reciente sugiere que merece un nuevo nivel de valoración.