Introducción a la Inferencia Filogenética y Evolución Molecular

23-26 Junio 2008, Fac. C. Biológicas - UANL

Pablo Vinuesa (vinuesa@ccg.unam.mx)

Centro de Ciencias Genómicas-UNAM, México
http://www.ccg.unam.mx/~vinuesa/

Todo el material del curso lo puedes descargar desde:

http://www.ccg.unam.mx/~vinuesa/UANL08

- **Tema 5: Criterios de optimización I – Parsimonia y algoritmos de búsqueda de árboles**

1. La (máxima) parsimonia como criterio de optimización
2. Diferentes implementaciones de parsimonia en filogenética
3. Un ejercicio de inferencia filogenética bajo parsimonia estándar (de Fitch)
4. Métodos de búsqueda de árboles (exhaustivos y heurísticos)
5. Islas de árboles
6. Prácticas – PAUP*

Criterios de optimización – Parsimonia

(máxima) parsimonia: involucra la **identificación de la(s) topología(s) con la menor longitud total del árbol, es decir, que requiere(n) el menor número de cambios evolutivos (transformaciones en estados de caracter) para explicar las diferencias observadas entre OTUs** (Kluge & Farris 1969; Farris, 1970; Fitch, 1971)

- Justificación filosófica - La "**cuchilla de Ockham**" : la mejor hipótesis es aquella que requiere el menor número de suposiciones ("elimínese todo lo prescindible"), es decir, favorecemos a la hipótesis más simple

- Se ha sugerido en un marco conceptual Popperiano que la parsimonia es el único método consistente con un marco hipotético-deductivo de contraste de hipótesis

Criterios de optimización – Parsimonia

- El modelo de MP se justifica en filogenética dado que:

1) se asume que los cambios de estado de caracter (sustituciones) son poco frecuentes

y

2) no se puede conocer con exactitud el camino evolutivo de dichos cambios, por lo que se busca **maximizar la similitud evolutiva** que se puede explicar como **homóloga** (por ancestría compartida). De esta manera se busca de **minimizar la homoplasia** (similitud no heredada directamente del ancestro), ya que las **hipótesis** de homoplasia (convergencia, evolución paralela ...) pueden ser juzgadas como intentos ***ad hoc*** de explicar porqué determinados datos no encajan en una hipótesis evolutiva (árbol filogenético) particular

Criterios de optimización – Parsimonia

- Cualquier discusión sobre métodos de MP debe **distinguir entre el criterio de optimización** (árbol de longitud mínima bajo una serie de restricciones impuestas a los cambios posibles entre estados de caracter) **y el algoritmo** empleado para para **buscar** estos **árboles óptimos** en el espacio de topologías posibles.

- Los algoritmos de búsqueda se van mejorando con el tiempo y algunos puden quedar obsoletos, mientras que el criterio de MP está claramente establecido en ciencia desde hace mucho tiempo y ha perdurado en filogenética desde su implementación en esta disciplina por Edwards y Cavalli-Sforza en 1963 (ver aspectos históricos tratados en el tema I).

- Por lo tanto **vamos a tratar dos puntos en este tema**:

1.- El **criterio de optimización de (máxima) parsimonia (MP)**

2.- las **estrategias de búsqueda** exhaustivas y heurísticas empleadas en la actualidad por paquetes de inferencia filogenética tales como Phylip y PAUP*.

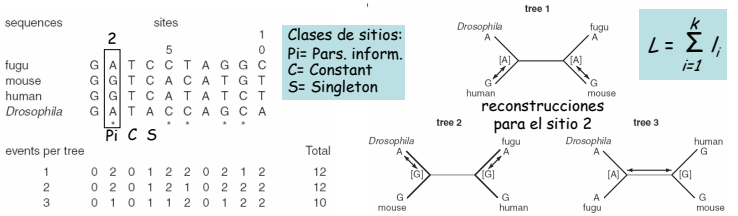
Criterios de optimización – Parsimonia

- El **árbol de máxima parsimonia** representa a la hipótesis evolutiva consistente con el camino evolutivo más corto que explica o conduce a los caracteres observados
- Para sets de datos complejos y con homoplasias se encuentra generalmente más de una topología de igual longitud (número de cambios en estado de caracter); estos **árboles** son **igualmente parsimoniosos y tienen el mismo score (*L*)**
- Se han desarrollado diversos métodos de MP para inferencia filogenética con el fin de poder analizar diferentes tipos de datos:
  - **Parsimonia de Wagner**: trabaja sobre **caracteres multiestado ordenados** A <-> B <-> C (cambio de A a C require 2 pasos)
  - **Parsimonia (estándar) de Fitch**: trabaja sobre **caracteres multiestado desordenados** (nt y aa)
  - **Parsiminia (ponderada) generalizada**: usa una **matriz de pasos** para dar mayor peso a *tv* que a *ti*
  - **Parsimonia de Dollo**: se emplea cuando existe **asimetría en la probabilidad de evolución de estados de caracter** (p. ej. caracteres de sitios de restricción: la pérdida es más probable que la ganancia paralela de un sitio de restricción)

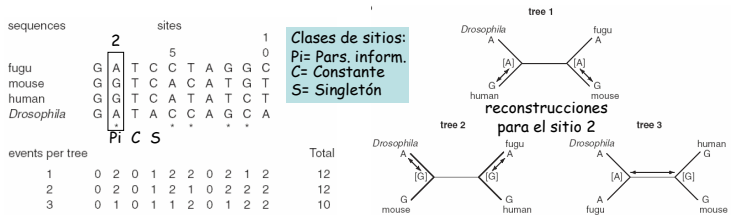
Métodos de reconstrucción filogenética – Parsimonia

Máxima parsimonia: dados dos árboles, se prefiere el que requiere menos cambios en estados de caracter

- El **método de máxima parsimonia** (**MP**) considera cada sitio filogenéticamente informativo (**Pi**) el alineamiento (al menos 2 pares de secuencias que compartan un polimorfismo distinto). Los sitios constantes (**C**) no son considerados y los singletones (**S**) no son Pars. informativos
- El **supuesto teórico (modelo de evolución) implícito** al método es que el árbol más verosímil es aquel que requiere el mínimo número de sustituciones para explicar los datos del alineamiento. **El criterio de optimización de la MP es el de cambio o evolución mínima.**
- Para cada sitio del alineamiento el objetivo es reconstruir su evolución bajo la constricción de **invocar el número mínimo de pasos evolutivos**. El número total de cambios evolutivos sobre un árbol de MP (longitud en pasos evolutivos del árbol) es simplemente la suma de cambios de estados de caracter (p. ej. sustituciones) de cada sitio variable



Parsimonia estándar (de Fitch)



- En nuestro caso la **topología #3 es la más parsimoniosa**, puesto que demanda 2 pasos menos que las topologías #1 y #2
- Para cada sitio var. del alineamiento el objetivo es reconstruir su evolución bajo la constricción de invocar el número mínimo de pasos evolutivos. El número total de cambios evolutivos sobre un árbol (**longitud en pasos evolutivos del árbol**) es simplemente la suma de cambios de estados de caracter (p. ej. mutaciones) en cada sitio var. de la matriz o alineamiento

$$L = \sum_{i=1}^{k} l_i$$

K = no. de sitios; l = no. sust. (pasos) de cada sitio

Ejercicio – Parsimonia estándar (FITCH)

Para el siguiente alineamiento:

A) haz una clasificación de caracteres según el criterio de parsimonia estándar ("Fitch Parsimony")

1. Alineamiento: No. sitios : 15; OTUs (taxa) = 4

Rhizobium GGA GGG AGG AGG CCT
Agrobacterium GGC GGG AGG AGG CCT
Sinorhizobium GGG GGA AGG TGT CGG
Bradyrhizobium GGT CGT AGC TGT GTG

CCS SCS CCS ICI SSI

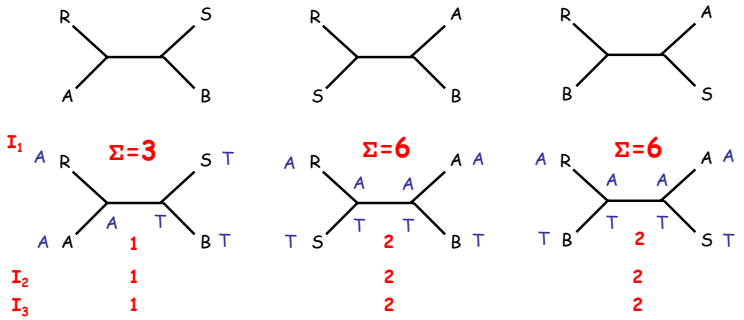
C = 6
V = 9
S = 6
Pi = 3
Σ 15

Caracteres
- Constantes (C)
- Variables
  - Singletones (S)
  - Informativos (I)

Ejercicio – Parsimonia estándar (FITCH)

C) Dibuja las toplogías posibles para los 4 OTUs, indica cual es la topología más parsimoniosa de ellas y calcula la longitud de la misma

Rhizobium GGA GGG AGG AGG CCT
Agrobacterium GGC GGG AGG AGG CCT
Sinorhizobium GGG GGA AGG TGT CCG
Bradyrhizobium GGT CGT AGC TGT GTG



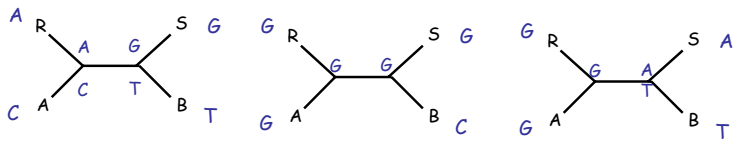
Ejercicio – Parsimonia estándar (FITCH)

C) Dibuja las toplogías posibles para los 4 OTUs e indica cual es la topología más parsimoniosa de ellas y calcula la longitud de la misma

Rhizobium GGA GGG AGG AGG CCT
Agrobacterium GGC GGG AGG AGG CCT
Sinorhizobium GGG GGA AGG TGT CCG
Bradyrhizobium GGT CGT AGC TGT GTG

CCS SCS CCS ICI SSI

3 1 2 1 1 1 111 Σ = 12 =TL



¿Es el ML siempre consistente?

NO

ML tiende a ser inconsistente cuando el modelo seleccionado es incorrecto (presenta muy mal ajuste). La presencia de ramas largas puede ser un síntoma de un modelo con pobre ajuste

- fuerte variación de tasas de sustitución entre sitios

  Gaut & Lewis 1995. Mol. Biol. Evol. 12:152-162

- cuando los sitios no evolucionan independientemente

  Schöniger & von Haeseler 1995. Syst. Biol. 44:533-547

• En general, **ML es bastante robusto a violaciones de los supuestos**

- cada vez se tiene más claro qué factores evolutivos son los relevantes en distintos tipos de secuencias y se continúan desarrollando más y mejores modelos que consideran dichos factores para hacer la reconstrucción filogenética

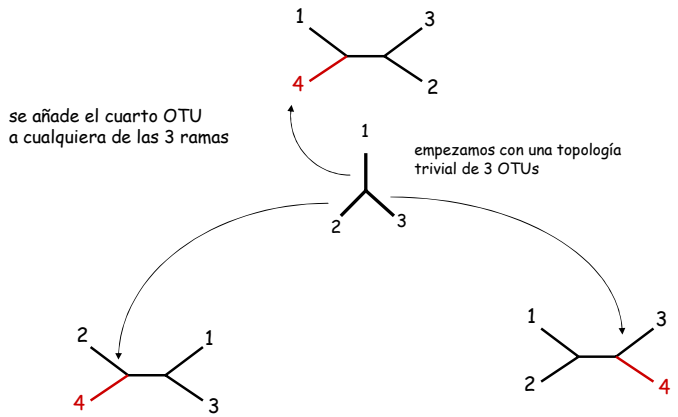
Métodos de búsqueda de árboles

• Pasos lógicos de los métodos filogenéticos basados en criterios de optimización (MP, ML ...)

1. definir el criterio de optimización (descrito formalmente en una **función objetiva**)
2. Construir un árbol de partida que contenga todos los OTUs
3. Emplar **algoritmos de búsqueda** que tratan de encontrar árboles mejores bajo el criterio de optimizaci'on escogido que el árbol actual o de partida.

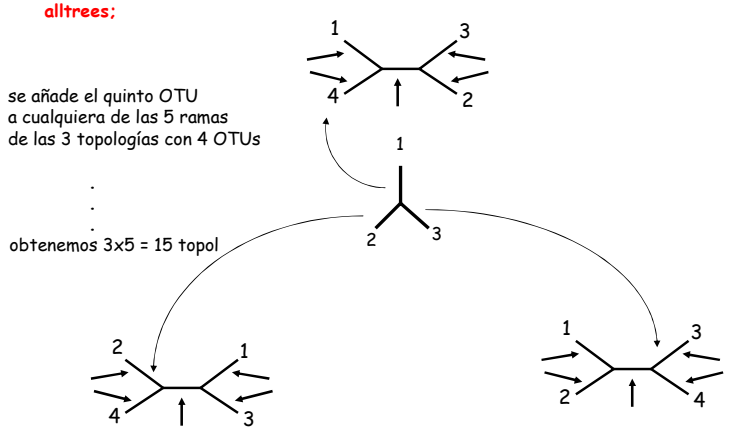
1. Criterios de optimización	2. Estrategias de búsqueda	
Máxima parsimonia	Enumeración exhaustiva ($n \leq 12$) (exhaustive enumeration)	**Métodos exactos**: garantizan encontrar la topología óptima
Máxima verosimilitud	Ramificación y límite ($n \leq 25$) (branch-and-bound)	
Evolución Mínima	Decomposición en estrella (star decomposition)	**Métodos heurísticos**: no garantizan encontrar la topología óptima
Mínimos cuadrados	Adición secuencial (stepwise addition)	
	(Inter-)cambio de rama (branch swapping)	

Métodos de búsqueda de árboles -enumeración exhaustiva (n ≤ 12)

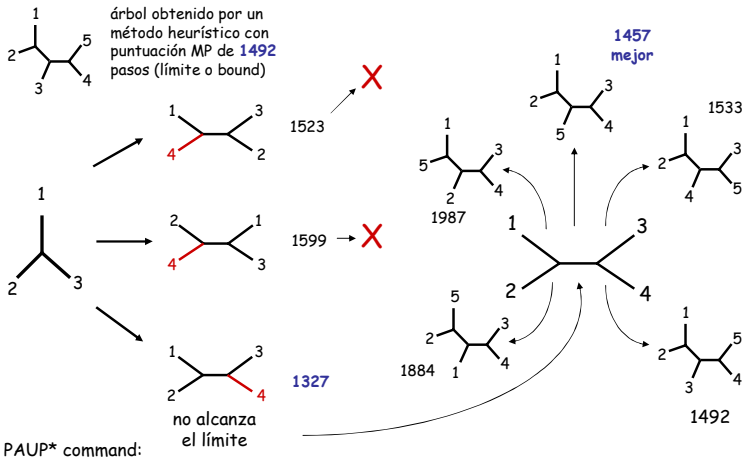


Métodos exactos de búsqueda de árboles -enumeración exhaustiva (n ≤ 12)

PAUP* command:
alltrees;



Métodos exactos de búsqueda de árboles - "branch and bound" (n ≤ 25)



• PAUP* command:
bandb;

• Al igual que la búsqueda exhaustiva, **garantiza encontrar el árbol óptimo**

Métodos de búsqueda de árboles

I.- el problema del número de topologías

El número de topologías posibles incrementa factorialmente con cada nuevo taxon o secuencia que se añade al análisis

No. de árboles no enraizados
$= (2n-5)!/2^{n-3}(n-3)$

No. de árboles enraizados
$= (2n-3)!/2^{n-2}(n-2)$

Taxa	árboles no enraiz*.	árb. enraiz.
4	3	15
8	10,395	135,135
10	2,027,025	34,459,425
22	$3x10^{23}$	...
50	$3x10^{74}$	...

*por ej. para sólo 15 OTUs tenemos 213,458,046,676,875 topologías

- ¡ si pudiésemos evaluar $1x10^6$ topol./seg. necesitaríamos 6 años y 9 meses para completar la búsqueda! El no. de Avogadro es ~ 6 $x10^{23}$ (átomos/mol). Según la teor. de la relatividad de la estructura del universo de Einstein, existen 10^{80} átomos de H_2 en el universo ...

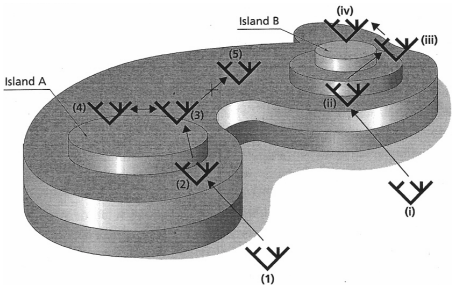
http://en.wikipedia.org/wiki/Observable_universe

Por tanto se requieren de **estrategias heurísticas de búsqueda** árboles cuando se emplean métodos basados en criterios de optimización y *n*> ~25

Métodos heurísticos de búsqueda de árboles - islas de árboles

- En la mayor parte de los casos se emplean métodos heurísticos;
- éstos comienzan con un árbol (aleatorio, NJ o de adición secuencial) para realizar intercambios de ramas (**branch swappig**) sobre esta topología inicial con el propósito de encontrar topologías de mejor puntuación (según la func. de objetividad) que la de partida

- estos métodos heurísticos no garantizan encontrar la topología óptima pero trabajan muy bien cuando se comparan con sets de datos de ≤ 25 secs. analizados mediante B&B

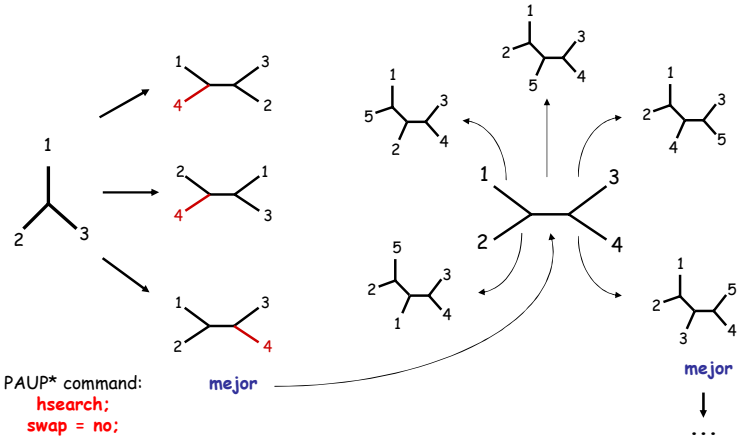


- El espacio de árboles puede visualizarse como un paisaje con colinas de diversas alturas; cada pico representa un máximo local de score o puntuación (**isla de árboles**)

- Es recomendable hacer múltiples búsqudeas heuríst. comenzando cada una desde una topología distinta para minimizar el riesgo de obtener un árbol ubicado en una isla topológica subóptima

Métodos heurísticos de búsqueda de árboles - adición secuencial (aleatorizada)

Este método se usa con frecuencia para generar distintos "**árboles semilla**" a partir de los cuales comenzar búsquedas heurísticas, partiendo de "distintos puntos del espacio de árboles



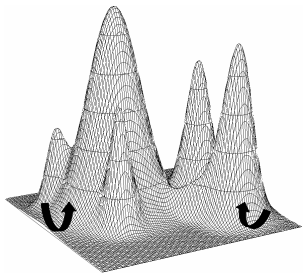
PAUP* command:
hsearch;
swap = no;

Métodos heurísticos de búsqueda de árboles - adición secuencial (aleatorizada)

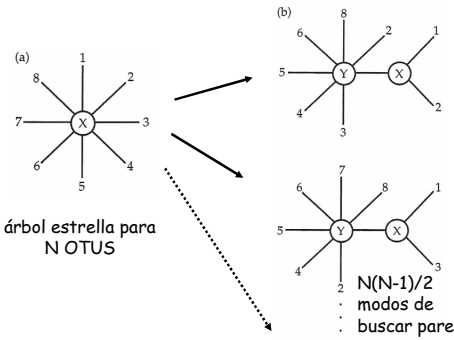
- El órden en el que se añaden los OTUs puede cambiar los resultados

- Por ello suele repetirse varias veces, añadiendo OTUs en cada ciclo de manera aleatorizada

- Sirve por lo tanto **para iniciar distintas búsquedas heurísticas** partiendo de topologías potencialmente diferences para una eficiente exploración del espacio de topologías (pero **no adecuado como hipótesis evolutiva en sí misma**)



Métodos heurísticos de búsqueda de árboles - decomposición de estrella



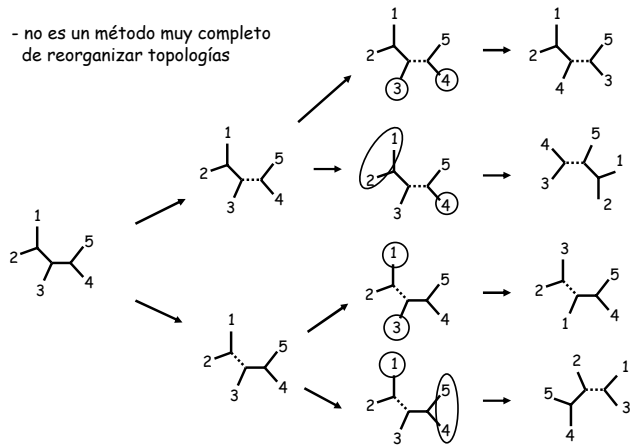
PAUP* command:
stardecomp;

- NJ usa este método junto al criterio de evolución mínima
- una vez que 2 OTUs han sido unidos ya no pueden ser desacoplados más adelante; en esto difiere del algoritmo de adición secuencial
- sensible al orden en que se van uniendo los OTUs; problema incrementa con el no. de OTUs
- no debe ser por tanto usado como método de búsqueda definitivo
- buena estrategia para producir árboles iniciales que sean mejorados mediante otras estrategias heurísticas

Métodos heurísticos de búsqueda de árboles - intercambio de ramas (branch swapping)

• **Intercambio entre vecinos más próximos (Nearest Neighbor Interchange, NNI)**

- no es un método muy completo de reorganizar topologías



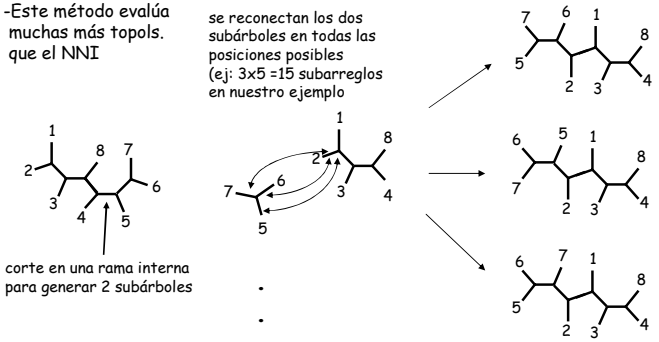
PAUP* cmmd:
hsearch swap=nni start=stepwise addseq=random;

Métodos heurísticos de búsqueda de árboles - intercambio de ramas (branch swapping)

• **Bisección-reconexión de árboles (Tree Bisection-Reconection, TBR)**

-Este método evalúa muchas más topols. que el NNI

se reconectan los dos subárboles en todas las posiciones posibles (ej: 3x5 =15 subarreglos en nuestro ejemplo



corte en una rama interna para generar 2 subárboles

. . .

se repite esta operación para reconectar el subárbol chico en las ramas terminales 1, 8, 4 y 3 del subárbol grande

PAUP* cmmd:
hsearch swap=tbr start=stepwise addseq=random;

Métodos heurísticos de búsqueda de árboles - estrategias de búsqueda para muchos OTUs *n* > 25

• Generalmente se combinan distintos tipos de búsquedas

- es frecuente comenzar con (una o varias) topología generada por adición secuencial aleatorizada y mejorarla mediante un TBR

- a veces se intercala una búsqueda NNI

• Una vez encontrada una topología mejor en una ronda de "branch-swapping", ésta sirve como topología de partida para nuevos rearreglos. Por tanto es conveniente partir de árboles "buenos" para minimizar el número de ciclos de branch swapping que se han de realizar para encontrar la topología localmente óptima. Las topologías generadas por adición secuencial aleatorizada son generalmente suficientemente "buenas" para iniciar los ciclos de branch-swapping que permiten una exploración eficiente del espacio de topologías.