

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I



**MUTACIÓN Y EXTINCIÓN: DE LA CATÁSTROFE DE
ERROR A LA DEFECCIÓN LETAL**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

Héctor Tejero Franco

Bajo la dirección del doctor

Francisco Montero Carnerero

Madrid, 2013

©Héctor Tejero Franco, 2012

Mutación y extinción.

De la catástrofe de error a la defeción letal

Héctor Tejero Franco

Tesis Doctoral dirigida por
Francisco Montero Carnerero



Universidad Complutense de Madrid
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I

Índice general

Agradecimientos	VII
1. Introducción	1
1.1. Mutagénesis letal en virus RNA	1
1.1.1. Los virus RNA: características básicas	1
1.1.2. Fenomenología de la mutagénesis letal en virus RNA	2
1.1.3. El modelo de cuasiespecies y los virus RNA	3
1.1.4. Breve introducción a la catástrofe de error	5
1.1.5. Objeciones a la catástrofe de error como explicación de la mutagénesis letal	8
1.1.6. Modelos de mutagénesis letal no basados la entrada en catástrofe de error	10
1.2. El modelo de defección letal	11
1.2.1. Desarrollo de la hipótesis y fenomenología experimental	11
1.2.2. Modelos teóricos de defección letal	11
1.2.3. Diferentes acepciones del término <i>defección letal</i>	12
1.2.4. Límites del modelo de extinción estocástica	13
1.3. Defectivos, interferencia y complementación en virología	13
1.3.1. Interacciones en <i>trans</i> , defectividad, complementación e interferencia en virus RNA	13
1.3.2. Interacciones en <i>trans</i> , complementación e interferencia: especificidad funcional y viral	14
1.3.3. Complementación y equilibrio de selección-mutación	15
1.3.4. Interacciones dentro del espectro de mutantes y selección dependiente de frecuencia	15
1.4. Defección y cooperación en biología evolutiva	17
1.4.1. Defectores y cooperadores	17
1.4.2. Dilemas sociales, juegos y selección natural	17
1.4.3. Juegos de bienes públicos. Dilemas sociales con n -participantes	18
1.4.4. Factores que dificultan la defección: asociación preferencial y efectos demográficos	19
1.4.5. Teoría de juegos, juegos de bienes públicos y virus RNA	20

1.5. Defectores y defectivos en virus RNA: definiciones y significados	20
1.5.1. Revisión de literatura	20
1.5.2. Defección y parasitismo	22
2. Objetivos	25
3. Selección natural, supervivencia del más robusto y catástrofe de error	27
3.1. Un modelo sencillo para demostrar que la entrada en catástrofe de error está causada por la supervivencia del más robusto	27
3.2. Más allá del umbral del error, la población evoluciona hacia las regiones más robustas del espacio de secuencias	29
3.3. Competición entre dos cuasiespecies con diferente robustez mutacional	32
4. Letalidad y extinción en modelos de cuasiespecies	35
4.1. Modelo simplificado de cuasiespecies en presencia de letalidad	36
4.2. Letalidad uniformemente distribuida	36
4.3. Paisaje de letalidad basado en “posiciones letales”	40
4.4. Efectos de la letalidad en la distribución poblacional más allá del umbral de error	46
5. Cuasiespecies y juegos de bienes públicos	51
5.1. Modelo general	51
5.2. Paisaje de eficacias biológicas tipo <i>Single-Peak</i>	53
5.3. Interpretación molecular	54
5.3.1. Cantidad de recurso común constante	54
5.3.2. Interacciones en <i>cis</i>	56
5.3.3. Ventaja selectiva: modelos aditivo y multiplicativo	56
5.4. Resumen de Investigación	57
6. Dinámica evolutiva del modelo de cuasiespecies y juegos de bienes públicos en condiciones de población constante	59
6.1. Modelo general en condiciones de población constante	59
6.2. El fenotipo mutante no tiene una ventaja o desventaja selectiva, $v = 0, w = 0$	60
6.2.1. Dinámica evolutiva en ausencia de mutación, $Q_m = 1$	60
6.2.2. Dinámica evolutiva en presencia de mutación, $Q_m < 1$	61
6.3. El fenotipo mutante presenta una ventaja o desventaja selectiva, w . Modelo aditivo	66
6.3.1. Dinámica evolutiva en ausencia de mutación, $Q_m = 1$	67
6.3.2. Dinámica evolutiva en presencia de mutación, $Q_m < 1$	69
6.4. El fenotipo mutante presenta una ventaja o desventaja selectiva, v . Modelo multiplicativo	72
6.4.1. Dinámica selectiva en ausencia de mutación, $Q_m = 1$	73

6.4.2. Dinámica evolutiva en presencia de mutación, $Q_m < 1$	75
7. Interacciones en grupos de tamaño fijo n	79
7.1. El fenotipo mutante no tiene una ventaja o desventaja selectiva, $v = 0$, $w = 0$, en presencia de mutación, $Q_m < 1$	79
7.2. El fenotipo mutante tiene una ventaja o desventaja selectiva, $v \neq 0$, en ausencia de mutación, $Q_m = 1$	83
7.3. El fenotipo mutante tiene una ventaja o desventaja selectiva de tipo multiplicativo, $v \neq 0$, en presencia de mutación, $Q_m < 1$	86
7.4. Aplicación del modelo al fago $\phi 6$: obtención de parámetros a partir de experimentos	87
7.5. Conclusión	90
8. Dinámica evolutiva del modelo de cuasiespecies y juegos de bienes públicos en condiciones de población variable	91
8.1. El fenotipo mutante no tiene una ventaja o desventaja selectiva, $v = 0$, $w = 0$	92
8.2. El fenotipo mutante tiene una ventaja o desventaja selectiva, w . Modelo aditivo . . .	95
8.3. El fenotipo mutante tiene una ventaja selectiva, v . Modelo multiplicativo en presencia de mutación, $Q_m < 1$	96
9. Modelo de cuasiespecies y juegos de bienes públicos en presencia de letalidad	103
10. Factor de interacción en <i>cis</i> dependiente de densidad	109
10.1. El fenotipo mutante no tiene una ventaja o desventaja selectiva, $v = 0$	110
10.2. El fenotipo mutante tiene una ventaja o desventaja selectiva en <i>cis</i> , $v \neq 0$, en presencia de mutación $Q_m < 1$	114
11. Interacción en grupos de tamaño variable	117
11.1. Descripción del modelo	117
11.2. Dependencia de la extinción con las interacciones en <i>trans</i> y del límite de coinfección, n_{max}	120
11.3. Equilibrio selección-mutación y umbral de error	120
11.4. Tamaño de grupo promedio y lastre mutacional	122
12. Modelo anidado	125
12.1. Descripción del Modelo	125
12.1.1. Dinámica fuera de los grupos	126
12.1.2. Dinámica dentro de los grupos	127
12.2. Resultados	129
13. Discusión	135
13.1. Selección natural, supervivencia del más robusto y umbral de error	135
13.2. Letalidad, umbral de error y extinción en el modelo de cuasiespecies	144

13.3. Cuasiespecies y defeción letal	148
13.4. Defeción letal y feedback eco-evolutivo: componentes de la defeción letal	151
13.5. Dificultades de la teoría	152
13.6. Modelos mínimos de defeción letal y virus RNA	157
13.7. Algunas reflexiones sobre la mutagénesis letal	161
14. Conclusiones	173
A. El modelo de cuasiespecies	175
A.1. Modelo de cuasiespecies con población constante	177
A.1.1. Clasificación según distancias de Hamming	178
A.1.2. Modelo simplificado en el paisaje tipo <i>Single-Peak</i>	178
A.2. Modelo de cuasiespecies con población variable	181
A.2.1. Estabilidad genética y estabilidad demográfica	184
A.2.2. Umbral de extinción y umbral de error en el paisaje <i>Single-peak</i>	185
B. Teoría de juegos evolutiva y definición de defectores	187
B.1. Teoría de juegos evolutiva. La ecuación del replicador	187
B.2. Hacia una definición de defector en juegos de 2 y n participantes	191
B.3. Replicadores inhomogéneos y matriz de pagos	193
C. Variables utilizadas a lo largo de la Tesis	195

Agradecimientos

Los que me conocen saben que no soy alguien al que le resulte cómodo expresar abiertamente lo que siente, así que intentaré ser breve. Espero que nadie se lo tome como un desprecio...

A Susana, que tanto me ha dado y que, con su apoyo, cariño y comprensión es la que hace, día tras día, que yo pueda dedicarme a esto y que esta Tesis haya salido adelante. Sobran las palabras.

A Adriana, por todas las alegrías que me ha dado en estos últimos dos años y medio. Alguno podría pensar que me ha quitado tiempo para la Tesis, pero creo que más bien ha sido la Tesis la que le ha robado a ella mi tiempo.

A mi padre y a mi madre, que desde pequeño me metieron en la cabeza la idea de que podía y debía llegar hasta donde quisiese. De momento, hasta aquí. También a mi familia: primos, primas, tías y tíos.

A Paco, que, al fin y al cabo, es el que me metió en esto hace ya unos cuantos cafés. En lo profesional es un ejemplo de pasión por su trabajo: en la ciencia y en la docencia. Gracias por darme la libertad de elegir el camino que me ha llevado hasta aquí (y de perder el tiempo en callejones que no han llevado a ninguna parte), por asesorarme, en lo profesional y en lo personal, siempre que lo he necesitado. En lo personal, un ejemplo de buena persona, más que un jefe, un amigo.

A Esteban, que si no figura como co-director de esta Tesis, no es porque yo no lo crea conveniente. Por ser un ejemplo de trabajo, constancia, humildad y saber hacer ciencia, y por estar siempre disponible para escuchar, resolver dudas y dar consejos. Espero que se me haya pegado la mitad del entusiasmo que tiene por lo que hace.

A Fede, que me ha ayudado en todo lo posible siempre que se lo he pedido. Puede que las discusiones de fútbol y política se hayan puesto tensas alguna vez, pero han dado vidilla a las comidas, ¿que no?.

A Juan Carlos, con el que siempre es un placer discutir sobre ciencia a gritos, que siempre ha estado ahí para resolverme las dudas que le he planteado.

A todos los integrantes del grupo de Biofísica, pasados y presentes, (Félix, Laura, Arturo, Sara, Gabriel, Dani, Clara, Miguel...) con los que he compartido tantos años, tantos momentos buenos, y que, cada uno a su manera, han contribuido en el desarrollo de esta Tesis. Lo del 5 % fue especialmente bonito, y el viaje a Viena, perdón, quise decir Congreso, especialmente gracioso.

A todos los integrantes del laboratorio 121 (Samuel, Armando, Cristina, Marta, Julie, Nacho, Ana, Isabel...) y del 124 (Tania, Mar, Gilberto y Vero) del CBM-SO con los que he trabajado. Mención aparte merecen Celia, que me guió y enseñó durante la breve pero super-útil “mini-estancia” experimental en el CBM, y Vero y Héctor Moreno, con los que he tenido el placer, a pesar de la estadística, de trabajar más estrechamente los últimos dos años.

A toda la gente del CAB (Carlos, Ester, Susanna, Jaime, Jacobo, Michael...) con la que he ido compartiendo seminarios, congresos y/o *quasi-especiomics* varios.

Ya para acabar, a los “hermanos”, colegas y amigos que, bueno, en realidad no han aportado nada a esta Tesis, pero que lo dan todo en lo que realmente importa: Alex, Jose, David, Carlos, Álvaro, Gon, Gema, Oscar, Yolanda, Olaia, Ramón, Gabi... y los que se me quedan en el tintero...

Por fin acabé (por ahora).

*Alle Wissenschaft wäre überflüssig, wenn die Erscheinungsform
und das Wesen der Dinge unmittelbar zusammenfielen*

*Toda ciencia sería superflua si la apariencia externa
y la esencia de las cosas coincidiesen directamente*

Capítulo 1

Introducción

Esta introducción no sólo busca presentar el estado actual de las investigaciones sobre mutagénesis letal y defeción letal, sino también los modelos y conceptos en los que se basa el trabajo desarrollado en esta Tesis. También intenta contextualizar dichas investigaciones relacionándolas unas con otras. Por este motivo, en ocasiones esta introducción adquiere un cierto carácter de discusión, sin que eso afecte a la discusión final, que puede justificar la extensión de la misma.

1.1. Mutagénesis letal en virus RNA

1.1.1. Los virus RNA: características básicas

Los virus RNA son unos parásitos intracelulares obligados cuyo genoma está codificado en una molécula de RNA. Estos virus se caracterizan por presentar altísimas tasas de mutación (del orden de una mutación por genoma y ronda de replicación), gran capacidad replicativa, pequeñas longitudes de genoma (con un tamaño medio de unos 10 Kb), y grandes tamaños poblacionales (Domingo et al., 2001a; Holmes, 2009).

Debido a estas características, los virus RNA se presentan en la naturaleza como complejas distribuciones de mutantes diferentes pero estrechamente relacionados que se denominan cuasiespecies (Domingo et al., 2001a). El término cuasiespecies tiene su origen en un modelo planteado por Manfred Eigen en 1971 para explicar el origen y evolución de la información en sistemas prebióticos (Eigen, 1971). Desde entonces, su uso en el ámbito de la virología ha superado con creces su campo de aplicación original.

La gran variabilidad genética, alta capacidad replicativa y grandes tamaños poblacionales característicos de los virus RNA les confieren una enorme capacidad adaptativa, lo que, en última instancia, es responsable de que muchos de estos virus se encuentren entre los patógenos de mayor importancia en salud pública: el HIV-1 (*Human immunodeficiency virus type 1*, agente causante del SIDA), el virus de la hepatitis C (HCV, *Hepatitis C virus*) o el virus de la gripe son sólo algunos de los ejemplos más llamativos por su particular incidencia social y en la salud pública. La gran adaptabilidad de los virus RNA es la responsable de su capacidad de generar resistencias frente a fármacos antivirales y frente al sistema inmune del huésped, lo que hace fracasar (o limita la acción) de los tratamientos antivirales en pacientes infectados con virus RNA, especialmente aquellos que dan lugar a enfermedades crónicas, como el HIV-1 o el HCV (Domingo et al., 2012). De hecho, la variabilidad de los virus RNA es tan alta que en muchos casos pueden encontrarse las mutaciones de resistencia presentes en la población antes de que ésta haya tenido contacto con el fármaco (Najera et al., 1995). La aparición de resistencias también tiene importancia a nivel epidemiológico, puesto que la transmisión global de

variantes resistentes disminuye la vida media útil de los fármacos antivirales (Moscona, 2009). Por último, la adaptabilidad también es responsable de otra gran preocupación en lo que respecta a virus RNA: el posible salto de huésped de animales a humanos (zoonosis), responsable de la aparición de los llamados virus emergentes como, por ejemplo, los que causan la gripe A, la gripe H5N1, el Dengue, etc. (Domingo et al., 2012).

La facilidad a la hora de desarrollar resistencias y el riesgo de aparición de nuevos virus emergentes hacen necesaria la búsqueda de nuevas aproximaciones a los tratamientos antivirales que tengan en cuenta las especiales características de los virus RNA. En los últimos diez años, una de las posibilidades más interesantes ha sido la extinción de los virus RNA aumentando su tasa de mutación por encima de un límite máximo tolerable, fenómeno denominado mutagénesis letal (Anderson et al., 2004)

1.1.2. Fenomenología de la mutagénesis letal en virus RNA

La mutagénesis letal ha demostrado ser un tratamiento eficaz *in vitro* para virus tan diferentes como el HIV-1, el FMDV (*foot and mouth disease virus*, o virus de la fiebre aftosa), el LCMV (*lymphocytic choriomeningitis virus*, o virus de la coriomeningitis linfocitaria), poliovirus, etc. (Loeb et al., 1999; Sierra et al., 2000; Crotty et al., 2001; Ruiz-Jarabo et al., 2003; Anderson et al., 2004). Básicamente, dichos experimentos consisten en someter a un virus RNA a una serie de pasajes en presencia de un mutágeno. Se considera que el virus se extingue cuando tras tres pasajes “en ciego”¹ en ausencia de mutágeno no se encuentran ni partículas infecciosas ni RNA viral. En la actualidad existen ensayos clínicos preliminares utilizando fármacos mutágenos (Mullins et al., 2011). Además, se piensa que determinados fármacos actualmente en uso, como la ribavirina, pueden ejercer en algunos casos su acción antiviral como mutágenos (Moreno et al., 2011). Por último, el hecho de que a lo largo de la evolución hayan surgido mecanismos de inmunidad innata basados en enzimas deaminasas (como APOBEC3G y APOBEC3F) que actúan frente a los virus RNA mutagenizando sus genomas (Holmes, 2004; Cullen, 2006) constituye una prueba más de la posible eficacia antiviral de la mutagénesis letal.

Las principales características de la mutagénesis letal que se observan en experimentos *in vitro* son:

- La extinción del virus se produce debido a la acumulación de mutaciones y no simplemente a efectos inhibitorios causados por el fármaco mutágeno: cantidades de inhibidor que producen un efecto inhibitorio equivalente al producido por el mutágeno son incapaces de lograr la extinción debido, generalmente, a la aparición de mutantes resistentes al inhibidor (Pariante et al., 2003, 2005; Perales et al., 2009)
- Durante la mutagénesis letal se produce una brusca pérdida de infectividad específica de la población viral (Crotty et al., 2001; Pariante et al., 2003; Graci et al., 2007). La infectividad específica es la relación entre el número de genomas infecciosos y el número total de genomas en una población viral. Debido a la alta tasa de mutación basal de los virus RNA, la infectividad específica suele ser baja incluso en ausencia de mutagénesis artificial (en FMDV, por ejemplo, es del orden de 10^{-5} o 10^{-6} PFU/RNA²), pero aun así sufre una caída notable durante la replicación a altas tasas de mutación. La caída de infectividad específica del virus expresa el hecho de que la infectividad del virus se pierde mucho antes que su capacidad replicativa (Grande-Pérez et al., 2005b; Graci et al., 2012), lo que es lógico si se tiene cuenta que la

¹Los pasajes “en ciego” son infecciones de cultivos celulares en condiciones óptimas, como si el virus estuviese presente.

²Las PFU, del inglés, *plaque-forming units*, o unidades formadoras de placa, son el método estándar para cuantificar la infectividad de un virus en cultivos celulares.

infectividad es, en principio, un fenotipo más complejo y, por tanto, más sensible a mutaciones que la capacidad replicativa.

- La extinción por mutagénesis letal es más eficaz cuanto menores sean la eficacia biológica y la carga viral del virus (Sierra et al., 2000)
- Durante la extinción del virus se produce, en primer, lugar un aumento de la variabilidad del virus, seguido posteriormente de una disminución significativa de la misma, presumiblemente debido a la acción de la selección negativa frente a los genomas con mayor número de mutaciones (Ojosnegros et al., 2008; Perales et al., 2011b). Sin embargo, ni en el FMDV ni en LCMV se han detectado cambios en la secuencia consenso de las poblaciones pre-extinción. En general, tampoco se han detectado genomas hipermutados en dichas poblaciones pre-extinción (Ruiz-Jarabo et al., 2003; Gonzalez-Lopez et al., 2005; Grande-Pérez et al., 2005a; Ojosnegros et al., 2008), aunque, recientemente, se ha conseguido detectar un desplazamiento temprano del espectro de mutantes hacia regiones del espacio de secuencias³ ricas en las mutaciones provocadas por el mutágeno, observándose también un número de mutaciones por genoma mayor del esperado (Perales et al., 2011b).
- La extinción por mutagénesis letal se ve favorecida por la acción de fármacos inhibidores (Pariante et al., 2001, 2005). Ahora bien, dependiendo de ciertos parámetros del sistema, en algunos casos esta acción es más eficaz cuando el mutágeno y el inhibidor actúan de forma combinada, y en otros casos cuando se aplican de forma secuencial (Perales et al., 2009; Iranzo et al., 2011).
- La multiplicidad de infección⁴ (MOI, del inglés *multiplicity of infection*) inicial afecta de forma diferente a la acción de un mutágeno: se ha observado una mayor disminución en la carga viral a baja MOI en los virus LCMV y VSV (vesicular stomatitis virus, virus de la estomatitis vesicular), pero no en los virus FMDV y EMCV (*encephalomyocarditis virus*, virus de la encéfalomiocarditis) (Moreno et al., 2012). Análogamente, otros autores han comprobado que una baja MOI aumenta el efecto del mutágeno en poliovirus y en coxsackievirus B3, siendo el efecto mayor en este último virus (Graci et al., 2012).

La mutagénesis letal tiene su origen conceptual en una de las predicciones más llamativas del modelo de cuasiespecies: la entrada en catástrofe de error, que, generalmente, se ha asociado a la pérdida de la información genética de la cuasiespecie debido a la acumulación de mutaciones (Biebricher y Eigen, 2005). Antes de entrar en detalle en dicho fenómeno es necesario introducir brevemente las principales características del modelo de cuasiespecies desarrollado por Eigen y Schuster (Eigen, 1971; Eigen y Schuster, 1979)⁵, y considerar su aplicación al estudio de los virus RNA.

1.1.3. El modelo de cuasiespecies y los virus RNA

Como se ha dicho, el modelo de cuasiespecies fue originalmente desarrollado para intentar explicar el origen de la información genética en sistemas prebióticos (Eigen, 1971). Como tal, pertenece a la familia de modelos del origen de la vida denominados *replication-first*. Estos modelos plantean que la vida en la Tierra surgió a partir de la aparición y evolución de especies autorreplicativas capaces de adquirir y almacenar información genética (Peretó, 2005). El máximo exponente de este tipo de modelos es la idea del llamado *Mundo RNA* (Robertson y Joyce, 2010). Sin embargo, si el modelo de

³Se denomina espacio de secuencias al conjunto de todas las posibles secuencias de longitud ν que puede generar un determinado conjunto de símbolos, que se denomina alfabeto. El tamaño del espacio de secuencias es igual al número de símbolos que componen el alfabeto n_s elevado a la longitud de la secuencia: n_s^ν

⁴La multiplicidad de infección es la relación entre el número de PFU y el número de células.

⁵El apéndice A presenta en detalle las formulaciones matemáticas más comunes del modelo de cuasiespecies.

cuasiespecies ha adquirido especial relevancia ha sido debido, principalmente, a su aplicación al estudio de la evolución de los virus RNA (Holland, 2006; Domingo y Wain-Hobson, 2009). En esencia, el modelo de cuasiespecies es formalmente equivalente a los modelos de selección-mutación utilizados en genética de poblaciones, en el caso particular en que se consideran altas tasas de mutación y múltiples *loci*, lo que, en el momento de su formulación, lo colocaba en la vanguardia de los modelos evolutivos (Wilke, 2005). Antes de entrar a valorar las principales consecuencias de considerar la evolución en estas condiciones particulares, es necesario destacar que el cambio más significativo que supuso el modelo de cuasiespecies en el campo de los virus RNA fue a un nivel conceptual.

La aplicación del modelo de cuasiespecies a la variabilidad genética de las poblaciones virales supuso el establecimiento de un nuevo paradigma que permitió no sólo explicar una cierta fenomenología experimental, sino, lo que es más importante, plantear una serie de experimentos, terapias, técnicas, etc. que han permitido avanzar en la comprensión de la dinámica de las poblaciones de virus RNA. Es posible que el modelo de cuasiespecies sea equivalente a los modelos clásicos de selección-mutación, sin embargo, lo que no se puede comparar es la profunda diferencia entre el marco conceptual de los modelos de selección-mutación de la genética de poblaciones, y el marco conceptual del modelo de cuasiespecies. Estos marcos conceptuales, que van más allá de la implementación matemática concreta en que se traduzcan, son, en parte, producto de la diferente fenomenología experimental que cada uno de los tipos de modelos pretendía explicar: la evolución natural de poblaciones biológicas de organismos complejos frente al origen y evolución de polímeros prebióticos.

Así, el marco conceptual de la genética de poblaciones parte de la idea, correcta en organismos complejos, de que la tasa de mutación es muy baja comparada con la fuerza de la selección o de la deriva génica. De esta forma, por ejemplo, tal y como señalan Perales et al. (2010), en un libro de genética de poblaciones publicado en 1977, poco antes de que el modelo de cuasiespecies llegase a la virología, no se consideraba como polimorfismo un alelo encontrado una única vez en una población.

Frente a esto, el modelo de cuasiespecies trataba de describir una situación prebiótica en la que, supuestamente, existiría una enorme variabilidad genética. Es por esto que desarrolla un marco conceptual que se apoya en una serie de conceptos como *nube de mutantes*, *catástrofe de error*, *umbral de error*, *cola de error*, etc. Es este marco conceptual, y no tanto la formulación matemática del modelo, lo que ha supuesto una enorme herramienta para los virólogos, al describir las poblaciones de virus RNA como complejas distribuciones de mutantes únicos, y no como formadas por unos pocos alelos distintos.

Habiendo dejado claro ese punto, a pesar de ser equivalente a un modelo clásico de selección-mutación, la consideración explícita de altas tasas de mutación y múltiples *loci* hace que el modelo de cuasiespecies presente varias características fundamentales. La primera es que la mutación ya no puede ser considerada simplemente como un término de perturbación respecto de la dinámica selectiva de la población (Eigen, 1996), sino que su importancia está al mismo nivel que la replicación, ya que puede existir mutación recurrente entre diversos genotipos de la población. Dicho de otra forma, se considera que existe un *acoplamiento mutacional* (Eigen, 1996) que hace que la presencia en la población de un determinado genotipo se deba tanto a su capacidad replicativa como a su probabilidad de ser producido por mutación desde otros genotipos cercanos en el espacio de secuencias (Küppers, 1983; Domingo et al., 2001a). Matemáticamente, el acoplamiento mutacional entre genotipos es, por tanto, la característica esencial del modelo de cuasiespecies. Este acoplamiento mutacional no es equivalente a la idea de una red neutral (es decir, un conjunto de genotipos que dan lugar al mismo fenotipo y, por tanto, sobre los que la selección natural no actúa (Huynen et al., 1996), sino que implica que fenotipos de menor eficacia biológica pueden estar sobrerrepresentados en una población debido a que son producidos recurrentemente por mutación a partir de otros fenotipos (Küppers, 1983; Holmes, 2009)

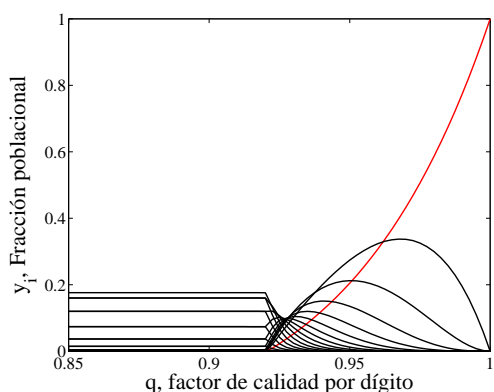
Una de las principales consecuencias del acoplamiento mutacional entre genotipos o fenotipos es que la cuasiespecie puede comportarse como una unidad de selección (Biebricher y Eigen, 2006). Puesto que la cuasiespecie en sí misma es el resultado de la acción de selección y mutación sobre los genotipos individuales, lo que se obtiene es una clásica situación de múltiples niveles de selección (Okasha, 2009). Eigen, por ejemplo, cita al menos tres niveles de selección: entre cuasiespecies, entre “clanes” dentro de una cuasiespecie y entre fenotipos dentro de dichos “clanes”. Como en todos los casos en los que la selección actúa simultáneamente en diferentes niveles, esta acción puede ser en un mismo sentido o en sentidos opuestos (Gould, 2002): es decir, la selección a nivel de cuasiespecie puede favorecer o no los mismos rasgos que favorece la selección individual a nivel de fenotipo.

El acoplamiento mutacional también es la causa del fenómeno conocido como *supervivencia del más robusto*⁶ (Schuster y Swetina, 1988; Wilke, 2001; Wilke et al., 2001; Wilke y Adami, 2003), que algunos autores han denominado *efecto cuasiespecie* (van Nimwegen et al., 1999; Codoñer et al., 2006; Sardanyés et al., 2008). Básicamente, la supervivencia del más robusto considera que, a altas tasas de mutación, una cuasiespecie con alta capacidad replicativa pero baja robustez mutacional puede ser desplazada por otra cuasiespecie con menor capacidad replicativa pero mayor robustez mutacional, es decir, una mayor insensibilidad al efecto mayoritariamente deletéreo de las mutaciones. Esto implica que la robustez mutacional es una característica genética que puede estar sujeta a optimización por la selección natural y, por tanto, que a altas tasas de mutación pueden ser seleccionadas cuasiespecies con mayor robustez. Una de las consecuencias de este fenómeno sería la posibilidad de dar lugar a un nuevo mecanismo de resistencia a terapias basadas en mutagénesis letal, que sería diferente de, y de alguna manera complementario, a la resistencia clásica a fármacos mutágenos. Sin embargo, este punto está todavía sujeto a debate. Por un lado se ha demostrado que un virus con mayor robustez se impone a uno con mayor capacidad replicativa cuando se aumenta la tasa de mutación (Sanjuán et al., 2007). Sin embargo, no se han encontrado evidencias de selección hacia una mayor robustez mutacional durante un proceso de mutagénesis (Martín et al., 2008), algo que ha sido apoyado por resultados computacionales (O’Dea et al., 2010). Finalmente, se ha demostrado que, dentro de un mismo género, existen especies virales con diferente robustez a mutaciones, lo que, evidentemente, afecta a su comportamiento frente a mutágeno (Graci et al., 2012). Además de la supervivencia del más robusto, el otro fenómeno característico que aparece en el modelo de cuasiespecies es la llamada entrada en catástrofe de error, que se considera en detalle en la siguiente sección.

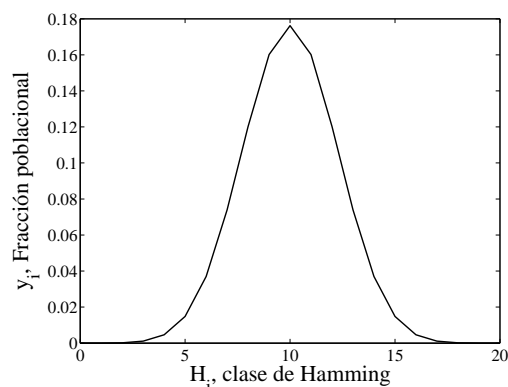
1.1.4. Breve introducción a la catástrofe de error

Debido a su originalidad y posibles aplicaciones prácticas, una de los resultados más llamativos e importantes del modelo de cuasiespecies es el concepto de *catástrofe de error*. En algunos paisajes de eficacia biológica, un incremento de la tasa de mutación por encima de un determinado valor, denominado umbral de error, hace que la cuasiespecie entre en una situación denominada catástrofe de error. En el modelo original (Eigen, 1971; Swetina y Schuster, 1982), se pueden observar varios fenómenos cuando la población cruza el umbral de error. En primer lugar, la especie maestra, es decir, la especie con mayor eficacia replicativa, se extingue, de forma que toda la población está compuesta por el fenotipo mutante (fig. 1.1a y 1.1c). En segundo lugar, se observa que la cuasiespecie se deslocaliza por todo el espacio de secuencias, de tal manera que la distribución de secuencias está uniformemente distribuida (fig. 1.1b). En realidad esto es materialmente imposible para poblaciones finitas, por lo que la deslocalización debe interpretarse como una deriva de la población a través del espacio de secuencias, y la distribución de población como una distribución de la probabilidad de que la población se encuentre en una determinada región del espacio de secuencias. Finalmente, al cruzar el umbral de error se producen cambios abruptos en varias propiedades en la población, como

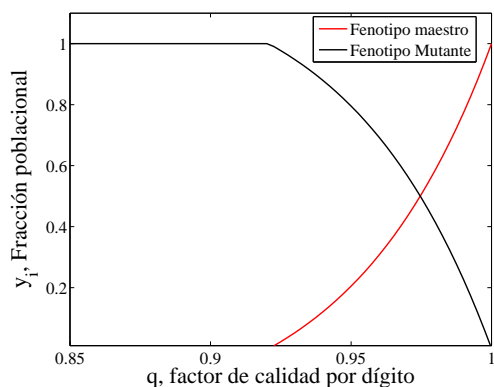
⁶En inglés se denomina *Survival of the flattest*, haciendo un juego de palabras intraducible con el clásico *survival of the fittest* (supervivencia del más apto) darwiniano.



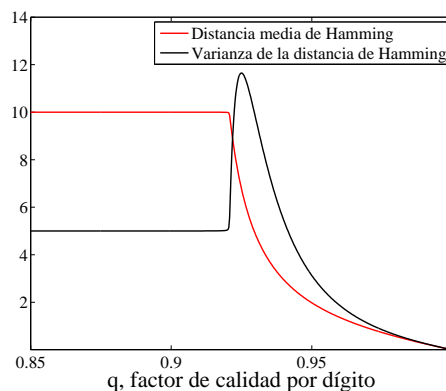
(a) **Variación de las fracciones poblacionales de las clases de Hamming.** La línea roja es la especie maestra. Las líneas negras son el resto de clases de Hamming. Más allá del umbral de error todas las secuencias están equipobladas, pero al clasificarlas en función de su distancia de Hamming, algunas clases de Hamming tienen más secuencias que otras.



(b) **Distribución poblacional uniforme más allá del umbral de error.** Cuando el espacio de secuencias se clasifica en clases de Hamming, la distribución poblacional adopta esta forma característica más allá del umbral de error. Como se ha comentado antes, a nivel de secuencias individuales esto significa que todas están equipobladas.



(c) **Variación de las fracciones poblacionales de los fenotipos mutante y maestro.** Cuando todas las secuencias diferentes de la secuencia maestra se agrupan en un mismo fenotipo, el fenotipo mutante, se observa con claridad que más allá del umbral de error la secuencia maestra se hace prácticamente cero (o estrictamente cero cuando se desestiman las mutaciones desde el fenotipo mutante al fenotipo maestro) y toda la población está formada por secuencias del fenotipo mutante.



(d) **Variación de la distancia media de Hamming y de la varianza de la distancia de Hamming.** La distancia media de Hamming y la varianza de la distancia de Hamming sufren una transición brusca en el umbral de error. Más allá del umbral de error, al deslocalizarse la población por el espacio de secuencias y adoptar la distribución la forma presentada en la parte b de esta figura, la distancia media de Hamming es igual a la mitad de la longitud de secuencia, ν , en este caso 10.

Figura 1.1: Transiciones características de la entrada en catástrofe de error en función del factor de calidad por dígito en un paisaje de eficacias biológicas tipo *Single-Peak*. $A_m = 10$, $A_k = 2$, $\nu=20$.

el valor promedio y la desviación estándar de las distancias de Hamming respecto a la especie maestra (fig. 1.1d), la secuencia consenso, la llamada distribución ancestral (Hermisson et al., 2002) o el lastre mutacional⁷.

Quizás debido a esta variedad de fenómenos que pueden observarse al entrar en catástrofe de error, las definiciones de catástrofe de error, y de umbral de error, cambian de trabajo a trabajo (Baa-

⁷El lastre mutacional mide el efecto de la tasa de mutación sobre la capacidad reproductiva de una población, ver el apéndice A (ecu. A.21 y A.22) para una definición exacta.

ke y Gabriel, 2000; Baake y Georgii, 2007; Eigen, 2002), lo que ha añadido cierta confusión a la comprensión de un fenómeno ya de por sí complejo. En la mayoría de trabajos, la catástrofe de error se define por la pérdida de la especie maestra (Eigen, 1971; Eigen y Schuster, 1982; Bull et al., 2005; Summers y Litwin, 2006; Sardanyés et al., 2009; Sardanyés y Elena, 2010), en otros se asocia con la deslocalización de la población por el espacio de secuencias (Nowak y Schuster, 1989; Campos et al., 2002; Wilke, 2005; Takeuchi y Hogeweg, 2007), mientras que en algunos se considera como una transición a regiones más robustas del espacio de secuencias (Bull et al., 2007).

De hecho, en algunos de estos trabajos se utilizan simultánea e indistintamente dos de estas definiciones, aunque el criterio matemático más habitual para definir el umbral de error es la desaparición de la secuencia maestra. Una de las razones de esta confusión tiene que ver con los paisajes de eficacia biológica utilizados. En los modelos de cuasiespecies, los paisajes más utilizados son, sin duda, los paisajes formados por un único pico, denominados de tipo *Single-Peak*. En esta familia de paisajes, una o más secuencias, que componen el fenotipo maestro, presentan un valor determinado de eficacia biológica mientras que el resto de secuencias, que componen el denominado fenotipo mutante, presentan una eficacia biológica menor, pero igual para todas ellas.

El primer problema surge porque la pérdida de la secuencia maestra sólo tiene lugar, estrictamente, en el paisaje *Single-Peak* cuando se desestima la mutación desde el fenotipo mutante al fenotipo maestro⁸, pero cuando ésta se tiene en cuenta, o en otros paisajes de eficacia biológica como el multiplicativo, esta condición no se cumple en condiciones de población infinita. Otro problema es que en los paisajes tipo *Single-Peak*, todos estos fenómenos ocurren para el mismo valor del factor de calidad,⁹. Sin embargo, esto no tiene por qué ser así para otros paisajes más complejos. Hermisson et al. (Hermisson et al., 2002) mostraron que estos fenómenos podrían agruparse como diferentes variantes de lo que ellos denominan “umbrales de mutación” (*mutation thresholds*), que definen como “cambios pronunciados de la distribución de equilibrio de alguna propiedad poblacional o de su eficacia biológica que tienen lugar para cambios muy pequeños de la tasa de mutación”. En dicho trabajo identifican cuatro tipos de umbrales de mutación: a) un “umbral de eficacia biológica” (*fitness threshold*) en el que es la eficacia biológica promedio de la población la que sufre un cambio pronunciado; b) un “umbral de especie wild-type” (*wild-type threshold*) que se define como la pérdida del fenotipo maestro, o al menos una caída muy abrupta en su concentración; c) un “umbral de degradación” (*degradation threshold*), más allá del cual la eficacia biológica de la población no depende de la tasa de mutación; y d) un “umbral de carácter” (*trait threshold*), definido por un cambio muy pronunciado en una determinada propiedad, o carácter, poblacional: como, por ejemplo, la distancia media de Hamming. Además, todos estos umbrales dependen completamente del paisaje de eficacia biológica y del paisaje de factores de calidad, la distribución de factores de calidad de cada una de las secuencias, (Hermisson et al., 2002; Schuster, 2010), por lo que en algunos paisajes de eficacia biológica puedan coincidir, y en otros no, lo que, como se ha comentado más arriba, quizás haya causado cierta confusión.

Las diferencias que se observan tanto para describir la fenomenología, como para la definición de la catástrofe de error y del umbral de error, se encuentran también en la interpretación de ambos conceptos. El umbral de error se ha considerado como una tasa de mutación crítica más allá de la cual, dependiendo de los autores, ocurre alguna de estas posibilidades:

- la mutación domina a la selección (Hermisson et al., 2002; Biebricher y Eigen, 2006; Cowperthwaite y Meyers, 2007)

⁸A esta condición, muy habitual en los modelos más sencillos de cuasiespecies, suele denominarsele “ausencia de *back-mutation*” y será así, como se hará a lo largo de esta Tesis.

⁹El factor de calidad por secuencia, Q , es la probabilidad de que una secuencia se copie correctamente sin que se produzca ninguna mutación. Es igual al factor de calidad por dígito, q , que es la probabilidad de que un dígito o posición se copie correctamente, elevado a la longitud de secuencia, ν . $Q = q^\nu$

- la selección natural deja de actuar (Hermisson et al., 2002; Kamp et al., 2002)
- deja de existir un equilibrio de mutación-selección (Bull et al., 2005, 2007)
- deja de tener lugar la adaptación (Huynen et al., 1996) o la optimización (Takeuchi y Hogeweg, 2007) evolutiva.

Tanto la pérdida de la secuencia maestra como la deslocalización de la cuasiespecie por el espacio de secuencias han sido relacionadas con una “crisis” o “pérdida” de la información (Eigen y Schuster, 1979; Schuster, 2001; Eigen, 2002; Biebricher y Eigen, 2005, 2006). En este sentido, se supone que la entrada en catástrofe de error establece un límite máximo a la cantidad de información que puede mantener un sistema autorreplicativo a una tasa de mutación determinada (Takeuchi et al., 2005; Wilke, 2005; Obermayer y Frey, 2010). Esta interpretación tiene dos importantes consecuencias prácticas: en el campo del origen de la vida, introduce la llamada *paradoja de Eigen* (Eigen, 1971; Eigen y Schuster, 1979; Szathmáry y Smith, 1995), según la cual las primeras moléculas autorreplicativas no tendrían la suficiente longitud, a tasas de mutación prebióticas, para codificar las enzimas, o estructuras secundarias y terciarias de RNA, necesarias para copiar las secuencias con menor tasa de mutación. La segunda consecuencia importante es que, como se vio anteriormente, la idea de hacer que los virus RNA entrasen en catástrofe de error utilizando fármacos mutagénicos (Eigen, 1993, 2002), fue el origen de los primeros experimentos de mutagénesis letal, así como la primera explicación para la pérdida de infectividad viral en dichas condiciones (Holland et al., 1990; Loeb et al., 1999; Cameron y Castro, 2001).

1.1.5. Objeciones a la catástrofe de error como explicación de la mutagénesis letal

Aunque el concepto de catástrofe de error fuese la primera explicación de la mutagénesis letal, poco a poco distintos autores comenzaron a plantear diferentes objeciones a que la entrada en catástrofe de error pudiera explicar la mutagénesis letal.

Catástrofe de error y letalidad

Las primeras objeciones se basaron en la idea de que la presencia de mutantes letales en el espacio de secuencias hacía imposible la existencia de un umbral de error y, por tanto, la entrada en catástrofe de error. Por ejemplo, Wagner y Krall (1993), demostraron que era necesario un valor mínimo de eficacia biológica para que la población pudiese entrar en catástrofe de error; es decir, que ésta no podía tener lugar en presencia de mutantes letales. Este resultado fue recogido posteriormente por Wilke (2005). Por su parte, Summers y Litwin (2006) mostraron que si todos los mutantes de la cuasiespecie eran letales, tampoco podría tener lugar una catástrofe de error, aunque esto ya había sido sugerido previamente por Bull et al. (2005). Sin embargo, estos resultados deben ser tomados con precaución. En primer lugar, la suposición de que todos los mutantes excepto la especie maestra son letales es tan poco realista como suponer que ninguno lo es y, claramente, ninguna de las dos situaciones es directamente extrapolable al caso en el que sólo existe una determinada fracción de secuencias letales. En este sentido, Bonnaz y Koch (1998) mostraron, estudiando el modelo de cuasiespecies desde un formalismo matemático completamente distinto, que cuando se considera la presencia de una determinada fracción de mutantes letales en el espacio de secuencia, el umbral de error sigue produciéndose, aunque se reduce; es decir, la letalidad permite que la cuasiespecie tolere tasas de mutación más altas. Por otro lado, como mostrarían Takeuchi y Hogeweg (2007) en su respuesta a Wilke, el modelo utilizado por Wagner y Krall suponía una serie de restricciones muy limitadas que eran precisamente responsables de los resultados obtenidos. Utilizando un modelo clásico de cuasiespecies en el que se consideraba una fracción de secuencias letales uniformemente distribuida en el

espacio de secuencias, Takeuchi y Hogeweg mostraron de nuevo la existencia de un umbral de error en presencia de mutaciones letales y, al igual que Bonnaz y Koch (1998), que dicho umbral de error disminuye al aumentar la letalidad. Más aún, en este trabajo se observó que la consideración de altos grados de letalidad podía hacer aparecer un umbral de error en paisajes de eficacia biológica que, como el multiplicativo, no lo presentan en ausencia de letalidad (Takeuchi y Hogeweg, 2007). Sin embargo, todos estos trabajos consideraban el modelo en condiciones de población constante, lo que impedía, por definición, que la población se extinguiese. Esto implica que la relación entre umbral de error y umbral de extinción en presencia de letalidad no fue estudiada en ninguno de los dos trabajos mencionados anteriormente (Bonnaz y Koch, 1998; Takeuchi y Hogeweg, 2007). ***El estudio detallado de la relación entre extinción y catástrofe de error en presencia de diferentes distribuciones de letalidad en el espacio de secuencia constituye uno de los principales objetivos de esta Tesis.***

Catástrofe de error vs. extinción

En otros autores, la crítica se ha basado en diferenciar la extinción de la entrada en catástrofe de error. Wilke (2005) fue el primero en afirmar que ambos conceptos probablemente no estaban relacionados, señalando, acertadamente, el hecho de que la gran mayoría de modelos de cuasiespecies, y de entrada en catástrofe de error, consideraban condiciones de población constante en los que la extinción, por definición, no está permitida. Casi simultáneamente, Bull et al. (2005) señalaron la necesidad de diferenciar entre la extinción, que implica la desaparición de toda la población, y la entrada en catástrofe de error, en la que sólo es la especie maestra la que desaparece. En ambos casos, se planteaba, por tanto, distinguir entre el umbral de error y el umbral de extinción de una cuasiespecie. El primero determina la tasa de mutación a la cual la población entra en catástrofe de error, mientras que el segundo determina la tasa de mutación a la que la población se extingue. De esta forma, ambos trabajos descartaban que la mutagénesis letal estuviese causada por la entrada de la cuasiespecie en catástrofe de error. Siguiendo esta línea de crítica, Bull et al. (2007) formalizaron la necesidad de diferenciar entre procesos demográficos, como la extinción, y procesos genético-evolutivos, como la catástrofe de error¹⁰. Basándose en esta idea, estos autores no sólo descartaban que la entrada en catástrofe de error fuese el proceso responsable de la mutagénesis letal, sino que llegaban a proponer que la entrada en catástrofe de error podría dificultar o retrasar la extinción de un virus por mutagénesis letal.

En este sentido, algunos autores han relacionado explícitamente la idea de entrada en catástrofe de error con la supervivencia del más robusto, señalando que la entrada en catástrofe de error “requires that some genotypes or phenotypes are more sensitive to mutation than others” (Bull et al., 2005), o que es “*an evolutionary phenomenon in which (...) the population evolves to genotypes that are low in fitness but robust to the effects of mutations*” (Bull et al., 2007), o que es una teoría que muestra que “*the evolutionary potential of a phenotype depends on both its fitness relative to alternative phenotypes and its robustness to mutations*” (Cowperthwaite et al., 2008). ***Sin embargo, hasta donde sabemos, nadie ha estudiado explícitamente esta relación ni ha llevado a cabo una reinterpretación de ambos fenómenos en base a dicha relación, lo que constituye otro de los principales objetivos de esta Tesis.***

Por último, si se considera la fenomenología experimental de la mutagénesis letal, algunas de sus características no cumplen lo esperable en el caso de una entrada en catástrofe de error. En primer lugar, la entrada en catástrofe de error debería dar lugar a genomas con un gran número de mutaciones, pero el análisis de las poblaciones preextinción presenta resultados contradictorios: en algunos casos

¹⁰En este sentido, es sencillo demostrar que la entrada en catástrofe de error es un proceso independiente del comportamiento demográfico de la población: puede producirse mientras la población está creciendo, en estado estacionario o incluso mientras se extingue, ya que sólo depende de la relación entre las eficacias biológicas de los fenotipos maestro y mutante (ver apéndice A).

no se han encontrado ejemplos de hipermutación genómica (Grande-Perez et al., 2002; Grande-Pérez et al., 2005a), mientras que recientemente, utilizando técnicas más sensibles, sí se han encontrado genomas con un gran número de mutaciones asociadas al fármaco mutágeno (Perales et al., 2011b). Ahora bien, está por ver si el número de mutaciones por genoma encontrado en este último caso es suficientemente alto como para ser compatible con la entrada del virus en catástrofe de error.

Por otro lado, la acción de fármacos inhibidores en concentraciones suficientemente altas favorece la extinción por mutagénesis letal (Sierra et al., 2000; Iranzo et al., 2011). Sin embargo, salvo que dicho inhibidor alterase la estructura relativa del paisaje de eficacia biológica, es decir, la relación entre la eficacia biológica del fenotipo maestro y el resto de mutantes, el umbral de error no se vería afectado. Igualmente, una menor eficacia biológica de la cuasiespecie como un todo no afectaría al umbral de error salvo que estuviese asociada a un desplazamiento en el espacio de secuencias que alterase las eficacias biológicas relativas entre los diferentes mutantes.

1.1.6. Modelos de mutagénesis letal no basados la entrada en catástrofe de error

Los trabajos mencionados anteriormente planteaban serias dudas sobre la capacidad de la entrada en catástrofe de error para explicar la mutagénesis letal, tal y como se había propuesto clásicamente. De hecho, en los últimos años han aparecido varios trabajos en los que se han propuesto modelos alternativos para explicar la extinción de un virus por acumulación de mutaciones (Bull et al., 2007; Chen y Shakhnovich, 2009; Martin y Gandon, 2010). Estos modelos se diferencian en aspectos metodológicos y, sobre todo, en los paisajes de eficacia biológica utilizados, pero todos ellos consideran el efecto de la selección y la mutación sobre una población con una determinada eficacia biológica absoluta. Sobre este núcleo esencial, los diferentes paisajes de eficacia biológica utilizados dan lugar a diferentes predicciones para la dependencia del umbral de extinción con la eficacia biológica absoluta del genotipo de mayor eficacia biológica. Así, el modelo presentado por Bull et al. (2007), basándose en la aproximación de que la eficacia biológica media en el equilibrio de selección-mutación no depende del coste selectivo de las mutaciones, establece una relación exponencial entre la tasa de mutación crítica y la eficacia biológica absoluta máxima. El modelo presentado por Chen y Shakhnovich (2009), que utiliza un paisaje de eficacia biológica basado en una distribución experimental del efecto que tienen las mutaciones en la estabilidad térmica de las proteínas, establece que la tasa de mutación crítica varía de forma prácticamente lineal con la eficacia biológica absoluta. Por último, Martin y Gandon (2010), utilizando un paisaje de eficacias biológicas en el que el coste mutacional sigue una determinada distribución estadística, junto con otras suposiciones adicionales, obtienen una expresión para el umbral de extinción que depende crucialmente del porcentaje de mutaciones letales. Cuando éste es muy alto, la tasa de mutación crítica depende linealmente con la eficacia biológica absoluta. Sin embargo, cuando la fracción de mutaciones letales es baja el umbral de extinción depende del cuadrado de la eficacia biológica absoluta. A pesar de las diferencias, la idea fundamental es la misma en todos los modelos: la extinción por mutagénesis letal se produce porque el aumento de la tasa de mutación desplaza el equilibrio selección-mutación hasta que la población no puede mantenerse en el tiempo. Junto con estos modelos basados exclusivamente en el efecto del equilibrio de selección-mutación sobre el comportamiento demográfico de la cuasiespecie, existe otro modelo alternativo que considera crucial para que la población se extinga la participación de una subpoblación de virus mutantes denominados defectores. La base experimental de esta hipótesis, así como el modelo teórico que la explica se introducen brevemente en la siguiente sección.

1.2. El modelo de defeción letal

1.2.1. Desarrollo de la hipótesis y fenomenología experimental

El origen de la hipótesis de defeción letal hay que buscarlo en una característica del comportamiento de las cuasiespecies virales: la supresión de variantes de alta eficacia biológica por el espectro de mutantes que las acompañan (de la Torre y Holland, 1990; Domingo et al., 2006; Perales et al., 2010). Inspirándose en dicho fenómeno, se estudió el efecto que podrían tener poblaciones del virus de la fiebre aftosa que habían sido sometidas a mutagénesis hasta extinguirse, sobre la capacidad infectiva de una población del mismo virus. Al hacerlo se observó que las llamadas poblaciones pre-extinción, la última población recuperable antes de la extinción del virus, interferían en el crecimiento de las poblaciones viables sólo cuando los genomas pre-extinción mantenían su integridad biológica (Gonzalez-Lopez et al., 2004). A partir de estos resultados se planteó la hipótesis de que la mutagénesis de un virus RNA daría lugar a un subconjunto de virus mutantes interferentes denominados *defectores* cuyo papel sería crucial para la extinción del virus. Esta hipótesis recibió el nombre de *defeción letal* (Grande-Pérez et al., 2005b). A partir del descubrimiento inicial, una serie de resultados experimentales posteriores han ido apoyando esta hipótesis. Entre estos resultados destacan:

- Las poblaciones pre-extinción de FMDV capaces de interferir con el virus viable presentan una eficacia biológica mucho menor que la de la población sin mutagenizar (Gonzalez-Lopez et al., 2005).
- Mutantes concretos, diseñados *ex profeso*, de la cápside y la RNA polimerasa de FMDV interfieren con la replicación y producción del virus estándar cuando ambos coinfectan una célula. La interferencia es mayor cuando los mutantes se presentan en mezcla y, además, la acción de los mutantes interferentes de la cápside y la polimerasa es sinérgica (Perales et al., 2007).
- Las poblaciones de LCMV tratadas con el mutágeno 5-fluorouracilo (FU) presentan capacidad interferente cuando se coinfectan junto con poblaciones no tratadas de LCMV. Este componente interferente no necesita presentar infectividad, es específico para LCMV y es sensible al tratamiento con rayos UV. La retirada cada cierto tiempo del sobrenadante durante una infección persistente en presencia de mutágeno dificulta la extinción del virus (Martín et al., 2010).

Todos estos resultados experimentales muestran la importancia que los mutantes defectivos y defectores pueden tener en la extinción de un virus RNA por aumento de su tasa de mutación. Además, algunas de las características experimentales de la mutagénesis letal mencionadas anteriormente podrían explicarse en base a la defeción letal. Por ejemplo, el hecho de que la frecuencia de mutación en poblaciones pre-extinción sea menor de lo esperado (Grande-Pérez et al., 2005a), el que la infectividad del virus se pierda antes que la capacidad replicativa (Grande-Pérez et al., 2005b) o el que en el bacteriófago $Q\beta$ dos poblaciones pre-extinción de bajo título viral se extingan más fácilmente cuando la infección tiene lugar en medio líquido en presencia de mutágeno que cuando se someten a pases placa a placa en presencia del mismo (Cases-González et al., 2008).

1.2.2. Modelos teóricos de defeción letal

El origen de la hipótesis de defeción letal está estrechamente ligado al desarrollo de modelos computacionales y estudios *in silico*. El mismo trabajo en el que se planteó por vez primera esta hipótesis fue una aproximación conjunta *in vitro-in silico* en la que se desarrolló una implementación computacional estocástica del modelo de extinción por defeción letal (Grande-Pérez et al., 2005b). Posteriormente, se presentó una versión simplificada del mismo que podía estudiarse analíticamente utilizando tanto una aproximación determinista como estocástica (Iranzo y Manrubia, 2009). Este

modelo, que se denominará modelo Manrubia-Iranzo por sus autores, es, hasta la fecha, el único propuesto para explicar la extinción por defeción letal.

Básicamente, el modelo de defeción letal de Manrubia e Iranzo considera que los virus codifican dos rasgos fenotípicos: la capacidad replicativa y la infectividad, esta última asociada con la capacidad de codificar las proteínas necesarias para la replicación. El primer rasgo actúa exclusivamente en *cis* mientras que el segundo actúa en *trans*¹¹. Durante la replicación, los virus acumulan mutaciones que pueden afectar tanto a su capacidad replicativa como a su infectividad. Estas mutaciones pueden ser tanto beneficiosas como deletéreas. Sin embargo, el efecto de las mutaciones en ambos rasgos está acoplado, puesto que se considera que la pérdida de infectividad por mutaciones se produce siempre que dichas mutaciones disminuyan simultáneamente su capacidad replicativa. Igualmente, se supone que la recuperación de la capacidad infectiva tiene lugar siempre y cuando se produzcan mutaciones que aumenten la capacidad replicativa. Aquellos virus que codifican proteínas funcionales se denominan viables. Por el contrario, aquellos que acumulan mutaciones que hacen que sus proteínas dejen de ser funcionales, perdiendo su infectividad, son denominados defectivos. La capacidad reproductiva de la población se considera así proporcional al número de virus viables en la misma. Cuando estos desaparecen de la población, ésta es incapaz de reproducirse y, por tanto, se extingue.

Utilizando este modelo, es posible comparar las diferencias en la extinción por acumulación de mutaciones en presencia o ausencia de defectivos. Cuando el tamaño poblacional es suficientemente alto, ambos casos se comportan de forma idéntica, extinguiéndose al superar un determinado valor crítico de la tasa de mutación. Este valor es equivalente al umbral de extinción determinista. Sin embargo, cuando el tamaño poblacional es pequeño, el comportamiento es cualitativamente distinto a tasas de mutación relativamente bajas. Mientras que en el caso en el que todos los virus son viables la población persiste en el tiempo, en el escenario con defectivos la población se extingue debido a la acumulación de estos virus (Grande-Pérez et al., 2005b). Esta extinción debida a los defectivos que tiene lugar a tasas de mutación más bajas cuando los tamaños poblacionales son suficientemente pequeños ha sido denominada extinción estocástica (Iranzo y Manrubia, 2009). El motivo es que ésta se produce porque, debido a la posibilidad que aparezcan mutaciones que aumenten la capacidad replicativa, cada cierto tiempo aparecen virus defectivos de alta capacidad replicativa. Estos virus aumentan temporalmente su proporción en la población en forma de *bursts*. Cuando esto ocurre, o bien los defectivos de alta capacidad replicativa se extinguen y el *burst* termina, o bien se imponen en la población y, al desaparecer todos los virus viables, ésta se extingue. En el modelo presentado en (Iranzo y Manrubia, 2009), la capacidad replicativa de los virus defectivos de alta capacidad replicativa es la misma que la de los virus viables y, por tanto, puede considerarse un caso de evolución neutral o cuasi-neutral (debido a las contribuciones por mutación de otros fenotipos). La imposición de los mutantes defectivos es consecuencia de un efecto de deriva génica y, por tanto, es más probable cuanto menor sea dicho tamaño poblacional.

1.2.3. Diferentes acepciones del término *defeción letal*

Una revisión detallada de la literatura muestra que pueden encontrarse dos acepciones del término defeción letal. En primer lugar, existe una acepción más genérica y, si se quiere, fenomenológica o descriptiva, que entiende la defeción letal como un proceso de extinción por acumulación de mutaciones (mutagénesis letal) en el que tiene un papel crucial una subpoblación de mutantes específicos denominados defectores. Esta acepción, expresada fundamentalmente en la literatura más experimental no específica, en general, ningún mecanismo concreto más allá de referirse al modelo teórico

¹¹En virología, los términos interacción en *cis* o en *trans* se utilizan para describir si la acción de un elemento codificado genéticamente (una secuencia genómica, una estructura secundaria o terciaria de RNA, una proteína, etc.) tiene lugar bien sobre el genoma que lo codifica, en cuyo caso se denomina interacción en *cis*, o bien sobre otros genomas diferentes, en cuyo caso sería una interacción en *trans*.

propuesto por Manrubia e Iranzo, comentado anteriormente. Por otro lado, el uso de estos autores del término defeción letal implica una segunda acepción más específica y concreta, que asume que la defeción letal es la extinción estocástica o extinción inducida por ruido que plantea su modelo. Es importante tener en cuenta ambos sentidos o acepciones del término para evitar confusiones semánticas problemáticas. A lo largo de este trabajo, cuando se use el término defeción letal en general se estará utilizando la primera acepción, puramente descriptiva. Cuando sea necesario referirse en concreto al mecanismo específico propuesto por Manrubia e Iranzo para explicar dicho fenómeno, se utilizarán los términos defeción letal inducida por ruido o defeción letal por extinción estocástica.

1.2.4. Límites del modelo de extinción estocástica

A pesar de que es capaz de explicar la extinción de una población por acumulación de defectivos, el modelo de defeción letal por extinción estocástica presenta una serie de limitaciones. Tal y como los propios autores reconocen (Manrubia et al., 2010), dicho modelo no puede explicar la acción de la defeción letal en infecciones líticas. Sin embargo, buena parte de la fenomenología experimental sobre la que se sostiene la hipótesis de defeción letal procede de virus líticos (Gonzalez-Lopez et al., 2004; Perales et al., 2007). Por otro lado, el modelo sólo explica la extinción cuando los tamaños poblacionales son relativamente pequeños (Iranzo y Manrubia, 2009). Sin embargo, tanto en infecciones líticas como persistentes, los tamaños de población de los virus RNA son extremadamente grandes, dentro y fuera de las células, aunque es cierto que no todos los genomas virales dentro de la célula se están replicando y que eso podría disminuir considerablemente el tamaño efectivo de la población, facilitando la extinción estocástica. *Estas limitaciones plantean la necesidad de desarrollar modelos de mutagénesis letal por defeción letal complementarios al modelo Iranzo-Manrubia, lo que constituye otro de los objetivos fundamentales de esta Tesis.*

1.3. Defectivos, interferencia y complementación en virología

1.3.1. Interacciones en *trans*, defectividad, complementación e interferencia en virus RNA

La existencia y replicación de los virus defectores y defectivos en los que se basa la hipótesis de defeción letal se debe, en última instancia, a la existencia de interacciones en *trans* en los virus RNA. Estas interacciones dan lugar a los fenómenos de complementación, interferencia y defectividad, conocidos y bien estudiados desde hace años en virología. En esta sección se repasarán estos conceptos tal y como se han estudiado y definido en la virología clásica, así como la importancia que recientemente están adquiriendo para explicar el comportamiento de las cuasiespecies virales.

Algunos virus son incapaces de completar un ciclo infeccioso por sí mismos debido a algún defecto genético (mutación, deleción, inserción, etc...), pero sí pueden hacerlo en presencia de otros virus. A los primeros se los denomina virus *defectivos* o, cuando ese defecto se expresa sólo bajo ciertas condiciones (por ejemplo, alta temperatura), *defectivos condicionales* (Whitaker-Dowling y Youngner, 1987). Los virus que permiten que el virus defectivo complete un ciclo infeccioso reciben el nombre de *helper*. Estos virus producen el producto génico necesario del que carecen los virus defectivos, que interaccionan en *trans* con él. De esta forma, se dice que el virus *helper* complementa al virus defectivo, entendiéndose por complementación el efecto compensatorio de los productos génicos de dos sistemas genéticos homólogos para aliviar los defectos de genes mutantes (Ehrenfeld et al., 2010). La diferencia entre los virus defectivos y los virus con mutaciones letales, es que éstos no pueden completar un ciclo infectivo en ningún caso, no pueden ser complementados.

En la mayoría de los casos, puesto que el virus defectivo utiliza productos génicos producidos por

el virus *helper*, la reproducción de éste es menor que si el virus defectivo no estuviese presente. A este fenómeno, es lo que se denomina *interferencia*¹² (Fields et al., 2007). La interferencia puede producirse entre virus diferentes, recibiendo el nombre de interferencia heteróloga, o bien entre diferentes variantes genéticas de un mismo virus, denominándose interferencia homóloga o autointerferencia (Youngner y Whitaker-Dowling, 1999; Domingo et al., 2006). El ejemplo clásico de virus defectivos e interferencia homóloga son las llamadas partículas defectivas interferentes, (*DIP*, por su acrónimo en inglés, *Defective Interfering Particles*) (Fields et al., 2007). En la mayoría de los casos, el carácter defectivo de estas *DIP* se debe a deleciones de regiones más o menos extensas de su genoma (Roux, 1999), aunque también pueden surgir por pequeñas deleciones en regiones concretas del genoma (Meyer y Southern, 1997). En general, las *DIP* presentan una ventaja replicativa frente a los virus *helper*, lo que las permite coexistir con éstos durante gran número de pases. Esta ventaja replicativa puede deberse a las propias deleciones genómicas, bien porque éstas aumenten su capacidad replicativa o la estabilidad del virión (Ojosnegros et al., 2011), a la duplicación de secuencias implicadas en el inicio de la replicación o incluso una mayor capacidad de encapsidación (Roux, 1999; Marriott y Dimmock, 2010), .

Además del caso de los virus *helper* y las *DIP*, se conocen otros ejemplos de complementación como la *mezcla fenotípica*, (del inglés *phenotypic mixing* o *phenotypic hiding*) (Novick y Szilard, 1951), que tiene lugar cuando se generan cápsides mosaicos a partir de proteínas procedentes de virus de diferentes serotipos, o el llamado *enmascaramiento genómico* (*genome masking*), que se produce cuando los genomas de un virus son encapsidados por proteínas codificadas por otro, dando lugar a los llamados *pseudotipos*, virus en los que parte de su fenotipo, la cápside, no coincide con su genotipo (Ehrenfeld et al., 2010).

La interferencia que causan las *DIP* se debe a la competición por factores virales que actúan en *trans*. Algunas compiten por la RNA polimerasa viral (Giachetti y Holland, 1989) mientras que otros lo hacen por las proteínas de la cápside (Dennehy y Turner, 2004; Marriott y Dimmock, 2010). Si el factor en cuestión está en exceso, un virus defectivo puede no causar interferencia, dando lugar a las llamadas *partículas defectivas no interferentes* (Roux, 1999; Simon et al., 2004). Otro mecanismo que también pueden causar interferencia homóloga es la interacción directa entre productos aberrantes y productos funcionales (Whitaker-Dowling y Youngner, 1987). Este mecanismo puede ser especialmente importante durante los procesos de mutagénesis letal, ya que la acumulación de mutaciones aumentará la cantidad de genomas que codificarán productos génicos aberrantes. La interacción de éstos con los productos funcionales de otro virus puede dar lugar a la pérdida total o parcial de la actividad de los complejos heteropoliméricos formados -mecanismo de “manzana podrida”- o al secuestro de productos funcionales -mecanismo de “callejón sin salida”. Los genomas que codifican este tipo de productos aberrantes impidiendo la expresión de los virus *wild-type* reciben el nombre *mutantes dominantes negativos* (Whitaker-Dowling y Youngner, 1987).

1.3.2. Interacciones en *trans*, complementación e interferencia: especificidad funcional y viral

Aunque hasta la fecha no exista manera de cuantificar las interacciones en *trans* en un virus, se sabe que las diferentes familias virales pueden diferir en el grado de interacciones en *trans* que presentan (Fields et al., 2007). Así, por ejemplo, si se toma la producción y amplificación de *DIP* como un indicativo de la capacidad global de ciertas familias virales para interactuar en *trans* (aunque en realidad aquella dependa de más fenómenos a parte de estas interacciones, como la tendencia de la RNA polimerasa viral a producir deleciones, la ventaja replicativa que puedan alcanzar dichas partículas, etc.) se observa que los virus RNA de cadena negativa, como por ejemplo las familias

¹²Existe otra definición de interferencia, más amplia, que incluye cualquier fenómeno en el que la replicación de un virus disminuya la replicación de otro, incluso aquellos que, como la interferencia clonal, están basados en la acción de la selección natural.

Arenaviridae, Rhabdoviridae, etc. tienen una gran tendencia a formar *DIP* en unos pocos países a alta multiplicidad de infección (Roux et al., 1991). Sin embargo, los virus de la familia Picornaviridae, cuyo RNA es de cadena positiva, tienen muy poca tendencia a formar *DIP*. De hecho, aunque se han obtenido para diferentes especies de esta familia (Cole et al., 1971; McClure et al., 1980; Charpentier et al., 1996; McInerney et al., 2000), sólo se ha conseguido tras un número elevado de países a alta multiplicidad de infección.

Por otro lado, el grado de interacción en *trans* no sólo depende de la familia viral, ya que dentro de una misma especie viral no todas las mutaciones son igualmente complementables. Por ejemplo, mientras que la proteína 2A de las especies del género Enterovirus es complementable, algunas lesiones de la proteína contigua 2B no son complementables en *trans*. Más aún, en las regiones 2C, 3A y 3D de este género se han descrito tanto mutaciones complementables como no complementables (Ehrenfeld et al., 2010). Puesto que la mayoría de proteínas virales son multifuncionales, es probable que una misma proteína pueda cumplir funciones complementables y no complementables.

1.3.3. Complementación y equilibrio de selección-mutación

Diferentes autores han estudiado teórica y computacionalmente el efecto de la complementación en el equilibrio selección-mutación de los virus RNA (Wilke y Novella, 2003; Froissart et al., 2004; Novella et al., 2004; Gao y Feldman, 2009). El resultado fundamental de todos estos trabajos es que la complementación desplaza el equilibrio de selección-mutación hacia mayores frecuencias de alelo mutante. Esencialmente, lo que ocurre es que la complementación, al permitir al alelo mutante aprovecharse parcialmente de la eficacia biológica del alelo *wild-type*, disminuye la desventaja selectiva de dicho alelo mutante respecto del *wild-type*, lo que disminuye a su vez el efecto de la selección natural. A pesar de esto, en el modelo de Gao y Feldman (2009) la eficacia biológica media de la población apenas varía con la complementación, aunque ésta tenga efectos drásticos en la composición poblacional. Por último, dentro del marco conceptual de las cuasiespecies, Sardanyés y Elena (2010) han estudiado el comportamiento de un hiper ciclo con replicación mediada por una enzima polimerasa¹³ (Eigen y Schuster, 1979) como ejemplo de cuasiespecies con complementación. En este trabajo se muestra que la complementación hace que el umbral de error se produzca a tasas de mutación menores, y que, antes de dicho umbral, la fracción de fenotipo maestro en la población disminuye.

1.3.4. Interacciones dentro del espectro de mutantes y selección dependiente de frecuencia

Dadas las características de los virus, cuyos genomas se replican en un entorno intracelular no individualizado, la interacción en *trans* es, en principio, general para todos ellos. Sin embargo, la importancia funcional y evolutiva de la interacción en *trans* depende crucialmente de la diversidad genética de los virus. Si dos virus genéticamente iguales coinfectan una misma célula, la interacción en *trans* entre ambos virus tiene poca o nula importancia para su ciclo infectivo ya que no existen diferencias entre la funcionalidad de los elementos genéticos que codifican ambos virus. Sin embargo, cuando dos virus genéticamente diferentes coinfectan una célula, las interacciones en *trans* pueden cambiar completamente la dinámica de la infección, dando lugar a fenómenos de complementación, interferencia, etc. Por este motivo, debido a la gran variabilidad genética y fenotípica de los virus RNA, las interacciones en *trans* tendrán un papel mucho más relevante en las dinámicas evolutivas y patogénicas de las poblaciones de este tipo de virus (Domingo et al., 2006; Perales et al., 2010).

¹³Un hiper ciclo mediado por replicasa es un sistema autocatalítico que considera un genoma que se traduce para dar una enzima replicasa que cataliza la replicación de dicho genoma. Bajo ciertas condiciones, dicho sistema es matemáticamente equivalente a un hiper ciclo clásico en el que la molécula genómica actúa a la vez como *template* y como enzima replicasa.

Como se vio anteriormente, el paradigma original de las cuasiespecies, basado en el modelo clásico de Eigen (Eigen, 1971), tiene como principal característica que la presencia de un determinado mutante no sólo depende de su eficacia biológica, sino también de la de su “entorno mutacional”, es decir, debido a la probabilidad de que otras variantes muten en él (Biebricher y Eigen, 2006). Sin embargo, los últimos hallazgos experimentales en el campo de los virus RNA apuntan a una extensión de dicho paradigma en la que las interacciones dentro del espectro de mutantes son cruciales para entender el comportamiento de las cuasiespecies. Este desarrollo del paradigma de las cuasiespecies, así como los resultados experimentales más relevantes que han conducido hacia él, se ha plasmado en una serie de revisiones recientes (Domingo et al., 2006; Perales et al., 2010; Luring y Andino, 2010; Más et al., 2010).

A pesar de que los ejemplos más evidentes y conocidos de interferencia y complementación están relacionados con virus defectivos, virus dominantes negativos, diferentes serotipos de un mismo virus, etc. hay que destacar que los fenómenos de interferencia y complementación pueden tener una naturaleza continua, es decir, pueden ocurrir entre variantes genéticas y fenotípicas de diferente eficacia biológica que interactúen en *trans*, aun cuando estas variantes no sean estrictamente defectivas. De esta forma la eficacia biológica de cada una de ellas tendrá una componente individual y una componente colectiva. La componente individual será dependiente en última instancia de su genotipo, y de la interacción de éste con el entorno celular. Sin embargo, la componente colectiva de su eficacia biológica dependerá de los genotipos con los que interactúa dentro de la célula, así como de su frecuencia relativa. En biología evolutiva, cuando la eficacia biológica de un determinado fenotipo depende de la frecuencia relativa del resto de fenotipos en la población, se habla de selección dependiente de frecuencia (Heino et al., 1998).

La selección dependiente de frecuencia se ha observado en diferentes ejemplos de virus RNA (Elena et al., 1997; Turner y Chao, 1999; Yuste et al., 2002; Ojosnegros et al., 2010) muchas veces acompañada además de selección dependiente de densidad. Si la selección dependiente de frecuencia es negativa, es decir, la eficacia biológica de un fenotipo aumenta al disminuir su proporción en la población, contribuye a mantener los polimorfismos genéticos en las poblaciones (Heino et al., 1998). En el caso de los virus RNA, ésta sería una contribución adicional a la ya de por sí alta variabilidad genética de los mismos. Si la selección dependiente de frecuencia es positiva, es decir, si la eficacia biológica de un fenotipo aumenta al aumentar su proporción en la población, este fenotipo aumenta su probabilidad de fijarse, lo que contribuye a disminuir la variabilidad de las poblaciones.

Como se vio anteriormente, las diferentes familias virales, así como cada una de las funciones que contribuyen a la eficacia biológica de un virus RNA, pueden tener diferentes probabilidades de interactuar en *cis* o en *trans*. Estas probabilidades determinan en qué proporción depende la eficacia biológica de un miembro de la cuasiespecie de las contribuciones individual y colectiva y, por tanto, hasta qué punto está actuando la selección dependiente de frecuencia en el seno de la cuasiespecie.

La selección dependiente de frecuencia y/o de densidad es un fenómeno clásico en la teoría evolutiva, y ha sido modelizada extensamente en el campo de la ecología y del estudio de las interacciones sociales en biología. Precisamente, en los últimos años el estudio del origen y evolución de las interacciones sociales dentro de una misma especie se ha convertido en una de las líneas de investigación más prolíficas de la teoría evolutiva. Uno de los formalismos matemáticos más utilizados para su estudio es la teoría de juegos evolutiva (TJE) que, entre otros fenómenos, ha sido extensamente aplicado al estudio de las dinámicas de defección-cooperación (Nowak, 2006a). ***Uno de los objetivos de esta Tesis es el desarrollo de modelos del comportamiento de los virus RNA que tengan en cuenta que la eficacia biológica de los individuos es, en parte, dependiente de frecuencia.*** En la siguiente sección se revisarán los aspectos de dicha teoría que puedan ser más relevantes para el estudio de la defección letal en virus RNA.

1.4. Defección y cooperación en biología evolutiva

1.4.1. Defectores y cooperadores

La teoría de juegos evolutiva (TJE) estudia el comportamiento dinámico de poblaciones en las que sus miembros interactúan entre sí según un “juego” predeterminado, lo que determina su eficacia biológica. Estudia, por tanto, situaciones en las que existe selección dependiente de frecuencia (Nowak, 2006a)¹⁴. Los términos defección y cooperación, tal y como se usan actualmente en el contexto de la TJE, tienen su origen en el conocido “dilema del prisionero”. Éste es el paradigma y quizás el ejemplo más conocido de la teoría de juegos, en el que las dos posibles estrategias de los “jugadores” son o bien cooperar con el otro jugador o bien traicionarle (en inglés, *to defect*: desertar o pasarse al otro bando) y no cooperar.

En la TJE se considera que los individuos cooperadores o altruistas (C) producen o comparten un *beneficio* (b), pero pagan un *coste* (c) por producirlo. Los individuos defectores o egoístas (D) no producen beneficio ni, por tanto, pagan un coste, pero sí pueden aprovecharse del beneficio que generan los cooperadores. Tanto los beneficios como los costes se miden en términos de eficacia biológica (Nowak, 2006b). Cuando un individuo interactúa con otro, ambos reciben un *pago* (del inglés, *payoff*) en unidades de eficacia biológica que viene especificado de antemano por el juego en cuestión. De esta manera, la eficacia biológica de un individuo depende de las interacciones que mantenga con cooperadores y defectores y, por tanto, depende de las fracciones de ambos en la población: es dependiente de frecuencia. Un aspecto que merece la pena destacar es que esto implica que cooperación y defección son fenómenos relativos, dependientes de contexto poblacional (Sella y Lachmann, 2000). Es decir, un mismo individuo puede comportarse como defector frente a un individuo A, pero como un cooperador frente a un individuo B. En la mayoría de los juegos más simples se supone que las interacciones se producen entre dos individuos, cada uno de los cuales presenta dos posibles estrategias, de manera que los juegos se denominan 2×2 .

1.4.2. Dilemas sociales, juegos y selección natural

Bajo ciertas condiciones, la interacción entre cooperadores y defectores se plantea como un dilema social. Un dilema social surge cuando existe un conflicto de intereses entre lo que es beneficioso para el individuo y lo que es beneficioso para la población en la que se encuentra (Hauert, 2006). Por ejemplo, en los juegos más simples, la eficacia biológica media de la población es máxima cuando dicha población está compuesta exclusivamente por cooperadores. Sin embargo, dependiendo del juego, la selección natural a nivel del individuo puede favorecer la defección y, por tanto, en ausencia de otros mecanismos compensatorios, el estado final estará compuesto total o parcialmente por defectores, de manera que la eficacia absoluta media de la población será inferior a la óptima, de ahí el dilema social.

El que la selección natural favorezca la defección o la cooperación va a depender de la estructura de “pagos” del juego, es decir, de cómo se producen y reparten los “beneficios” y los “costes”. Como han señalado varios autores, uno de los problemas actuales de la TJE es que el juego del dilema del prisionero ha sido considerado como el paradigma de la teoría de juegos en biología evolutiva (Archetti y Scheuring, 2012), algo que ya ocurrió previamente en los estudios sociales (Kollock, 1998). En el dilema del prisionero, la selección natural siempre favorece a la defección frente a la cooperación (ver apéndice B). Sin embargo, como señalan con razón dichos autores, el dilema del prisionero no es el único juego posible. Existen otros juegos, como el *snowdrift*, el *stag-hunt*, etc. cuyas matrices de pagos dan lugar a resultados evolutivos diferentes a los del dilema del prisionero. En el primero de ellos, por ejemplo, el resultado del juego es la coexistencia entre cooperadores y defectores,

¹⁴En el apéndice B se repasa, brevemente, la formulación matemática más simple de la TJE.

mientras que en el segundo la población acaba estando formada completamente por cooperadores o por defectores dependiendo de las condiciones iniciales (ver apéndice B). De hecho, si los beneficios que aporta la cooperación son suficientemente grandes, ésta puede estar favorecida por la selección natural bajo cualquier situación, situación que ha sido denominada *armonía*, por no existir dilema social alguno. Todo esto implica que la dinámica evolutiva de defectores y cooperadores es más compleja que simplemente afirmar que la selección natural favorece la defección, pues esto depende de los tipos de interacciones y/o de la composición de la población y, sobre todo, implica que es necesario estudiar qué juego refleja mejor una realidad biológica determinada (Doebeli y Hauert, 2005). Además, como se mostrará más adelante, existen mecanismos adicionales (consideración del espacio, aspectos demográficos, etc.), que pueden favorecer la defección o la cooperación y alterar el resultado del juego.

1.4.3. Juegos de bienes públicos. Dilemas sociales con n -participantes

Los juegos de n -jugadores son una extensión de los juegos de 2 jugadores en los que las interacciones tienen lugar en grupos formados por n participantes. En estos juegos, cooperadores y defectores se diferencian por cómo contribuyen a la producción y al consumo de un bien colectivo. En general, se podría decir que un defector es aquel individuo cuya aportación es menor o igual que la aportación media en el grupo pero que recibe más de lo que le correspondería proporcionalmente a dicha aportación. Sin embargo, la aportación de un cooperador es mayor o igual que la aportación promedio en su grupo, pero recibe menos de lo que le correspondería proporcionalmente según dicha aportación. Existen diferentes tipos de bienes colectivos que se diferencian en función de dos características: su exclusividad y la rivalidad en su consumo (Dionisio y Gordo, 2006). La exclusividad considera si el acceso al bien es exclusivo o no, es decir, si se puede restringir su uso a determinados jugadores. La rivalidad en el consumo considera si el consumo del bien por alguno de los participantes disminuye el consumo por parte de otro jugador. La tabla 1.1 muestra los diferentes tipos de bienes colectivos que pueden definirse en función de estas características.

	Exclusivo	No Exclusivo
Rivalidad en el Consumo	Bien Privado	Bien Público
Sin Rivalidad en el Consumo	Bien Reservado	Bien Común

Tabla 1.1: Clasificación de un bien en función de su exclusividad y rivalidad

Merece la pena destacar que tanto en economía como en biología evolutiva existe cierta tendencia a confundir bienes comunes y bienes públicos (Archetti y Scheuring, 2012; Apesteguía y Maier-Rigaud, 2006; Dionisio y Gordo, 2006). En este sentido, hay que tener en cuenta que la rivalidad de un bien puede ser función del número de participantes que lo esté usando: así, por ejemplo, cuando el uso de un bien no está saturado, la situación se puede aproximar a la ausencia de rivalidad, mientras que cerca de la saturación del recurso, se asemeja claramente a la existencia de rivalidad. El tamaño del grupo de interacción es determinante en el resultado de los juegos de bienes públicos, ya que cuanto mayor sea el tamaño de dicho grupo más favorecida se ve la defección frente a la cooperación (Olson, 1965).

Los bienes públicos pueden diferenciarse en cómo se produce y cómo se reparte dicho bien en función del número de participantes. Un juego de bienes públicos depende de una determinada función de producción del bien público que relaciona la cantidad de bien público producida en un grupo con el número de cooperadores y defectores que interaccionan en dicho grupo. En general, ha sido habitual limitar el estudio de los dilemas de bienes públicos al dilema del prisionero de n participantes (nPD , de n -Prisoner's dilemma). Tal y como señalan Archetti y Scheuring (2012), muchos

autores consideran ambos conceptos simplemente equivalentes, lo cual no es cierto. En realidad, el nPD es un tipo particular de juego de bienes públicos en los que la función de producción del bien público es lineal respecto a la fracción de cooperadores en el grupo. En este caso, al igual que en el dilema del prisionero, la defección se impone a la cooperación. Sin embargo, existen numerosas otras funciones de producción del bien público no lineales (con rendimientos decrecientes, con interacciones sinérgicas, tipo *Heavyside*, tipo sigmoidea, etc), de forma que el resultado del juego (imposición de la cooperación, de la defección, coexistencia o biestabilidad) depende de los parámetros concretos de dichas funciones (Archetti y Scheuring, 2012; Heckathorn, 1996; Foster, 2004; Hauert et al., 2006b).

1.4.4. Factores que dificultan la defección: asociación preferencial y efectos demográficos

Además de la estructura de pagos del juego, existen diferentes factores que pueden alterar el resultado de un juego, bien favoreciendo la defección o bien la cooperación. Cuando se tienen en cuenta interacciones repetidas en las que los jugadores “recuerdan” con quien interaccionaron antes, pueden considerarse mecanismos como el castigo, la reputación, etc. que favorecen la cooperación (Nowak, 2006b). Sin embargo, cuando se consideran juegos tipo *one-shot*, en los que los individuos no “recuerdan” las interacciones mantenidas previamente, también existen factores que pueden alterar la relación entre cooperación y defección. Fundamentalmente existen dos tipos de mecanismos: la asociación preferencial entre cooperadores y el efecto de los cambios demográficos sobre las interacciones.

Asociación preferencial entre cooperadores

Como indica su nombre, este mecanismo tiene lugar cuando los cooperadores interaccionan preferentemente con otros cooperadores. Esta mayor afinidad entre cooperadores puede deberse a diferentes mecanismos. Cuando la cooperación es preferencial entre individuos relacionados genéticamente recibe el nombre de selección por parentesco¹⁵ (Hamilton, 1964b,a). También puede producirse si los cooperadores pueden reconocerse por algún tipo de “marcador” externo (Hamilton, 1964b), fenómeno que ha sido llamado *efecto de la barba verde* (Dawkins, 1976). Sin embargo, existen otros fenómenos que hacen que los cooperadores tiendan a interaccionar preferentemente con otros cooperadores, como es, por ejemplo, tener en cuenta una determinada estructura espacial, o en red, de la población (Ohtsuki et al., 2006), o una difusión espacial limitada, también llamada viscosidad poblacional (Mitteldorf y Wilson, 2000), puesto que ésta da lugar a regiones ricas en cooperadores, *clústeres*, que no pueden ser invadidos por los defectores (Nowak y May, 1992).

Efecto de la densidad

Cuando se tiene en cuenta que las interacciones entre los individuos de la población no sólo afectan a la composición de la misma sino también a su densidad, puede producirse un ejemplo de *feedback* eco-evolutivo (Schoener, 2011), en el que los cambios en la dinámica demográfica inducidos por la dinámica evolutiva afectan a esta misma dinámica. En este caso ocurre porque al aumentar la proporción de defectores en la población, disminuye la eficacia biológica media de la población y, por tanto, también el tamaño poblacional, lo que, a su vez, disminuye las interacciones. Al disminuir las interacciones entre cooperadores y defectores, éstos son incapaces de aprovecharse de aquellos, disminuyendo la eficacia biológica relativa de los defectores, lo que favorece a los cooperadores. De esta

¹⁵En su formulación original la selección por parentesco tiene lugar cuando el altruismo se dirige preferentemente hacia individuos relacionados genéticamente que, por tanto, también presentan el gen que codifica el carácter altruista.

forma, los cooperadores se mantienen en la población en proporciones más elevadas de las esperadas en condiciones de población constante. Este fenómeno ha sido modelizado en diferentes ocasiones a lo largo de los últimos años, por ejemplo, durante el debate sobre la evolución del altruismo durante los años 70 (Cohen y Eshel, 1976; Eshel, 1977), utilizando modelos basados en autómatas celulares con densidad variable (Mitteldorf y Wilson, 2000), o modelos basados en juegos de bienes públicos cuando se considera que el tamaño de grupo es variable: los llamados *Juegos de Bienes Públicos Ecológicos* (Hauert et al., 2006a; Janssen y Goldstone, 2006; Killingback et al., 2006; Hauert et al., 2008).

El efecto de la densidad es importante en el contexto de la defeción letal, puesto que algunos autores han propuesto que la propia caída de la población debida al efecto de la defeción letal actuaría en contra de ésta, al disminuir la multiplicidad de infección y, por tanto, las interacciones entre virus defectores y viables (Steinmeyer y Wilke, 2009). *El estudio del efecto de la densidad en los modelos de defeción letal constituye otro de los objetivos de este trabajo.*

1.4.5. Teoría de juegos, juegos de bienes públicos y virus RNA

El comportamiento de los virus RNA ha sido modelado en algunos trabajos desde la perspectiva de la TJE. Aunque Szathmáry (1992) ya señaló en un modelo teórico las similitudes de las interacciones entre partículas defectivas interferentes y virus *helper* con el juego del *snowdrift*, sin duda los trabajos más remarcables y paradigmáticos en este sentido fueron los realizados por Lin Chao y Paul Turner con el fago $\phi 6$ (Turner y Chao, 1999, 2003). En el primero de ellos sus autores mostraron, calculando experimentalmente los valores de la matriz de pagos, que un clon que había sido sometido a 250 pases a alta MOI se comportaba como un defector en un dilema del prisionero cuando competía frente al virus ancestral del que procedía (Turner y Chao, 1999). Posteriormente, comparando dicho virus defector con otro clon que había sido sometido a 250 pases a baja MOI vieron que los valores de dicha matriz de pagos habían evolucionado hacia una situación tipo *snowdrift* (Turner y Chao, 2003), de forma que ambas variantes deberían coexistir. En ambos trabajos, Chao y Turner consideraron las interacciones ente ambos mutantes como un juego 2x2. Basándose en los resultados experimentales de estos autores, Brown desarrollo un modelo en el que consideraba que la interacción tenía lugar como un juego de bienes públicos con contribuciones continuas (Brown, 2001). A pesar de que todos estos trabajos estudiaban las interacciones entre diferentes variantes de un virus, ninguno de ellos consideraba la que, sin duda, es la propiedad más notable de los virus RNA: su altísima tasa de mutación y la distribución poblacional en forma de cuasiespecie que de ella resulta. *El desarrollo de modelos que consideren, simultáneamente, la estructura de la población en forma de cuasiespecies y las interacciones en el seno del espectro de mutantes es otro de los objetivos de esta Tesis.*

1.5. Defectores y defectivos en virus RNA: definiciones y significados

1.5.1. Revisión de literatura

La definición de defector en el contexto de la defeción letal ha ido perfilándose y enriqueciéndose durante estos últimos años, a la par que surgía nueva evidencia experimental. Tal y como se intentará mostrar en esta sección, ha habido una cierta tendencia a identificar defectores y defectivos como si fueran sinónimos, lo que en ocasiones puede llegar a resultar confuso. Por este motivo, el objetivo de esta sección es intentar aclarar dicha confusión o, al menos, establecer un marco terminológico coherente para el resto del trabajo.

La primera descripción de los virus defectores (Grande-Pérez et al., 2005b) les concebía como una subpoblación de virus defectivos capaces de replicarse, pero incapaces de infectar células por sí

mismos, de forma que dentro de la célula se comportaban como “parásitos” de los virus viables o “altruistas”¹⁶. En este artículo, no se hace ninguna distinción entre virus defectivos y defectores, utilizándose como términos prácticamente sinónimos. Algo parecido hicieron Iranzo y Manrubia (2009) al considerar, nuevamente, a los defectores simplemente como virus defectivos capaces de replicarse en presencia de virus viable, pero incapaces de infectar una célula por sí mismos¹⁷. Perales et al. (2007), comprobaron que los virus defectores deben ser capaces de replicarse para ejercer su efecto interferente y distinguían entre cuatro posibles variantes virales: defectivos interferentes, defectivos no interferentes, no defectivos interferentes y no defectivos no interferentes. Nuevamente, defectivo y defector parecen considerarse sinónimos. Posteriormente, Perales et al. (2009) consideraron los virus defectores como virus defectivos competentes en replicación¹⁸, pero no aclararon si esta capacidad replicativa se refiere a la capacidad de replicarse o a la de ser replicado en presencia de virus viable (en el modelo computacional presentado en dicho trabajo se considera el segundo caso). Manrubia et al. (2010), identificaron a los virus defectores con virus incapaces de completar su ciclo reproductivo pero que pueden sobrevivir en una población compleja debido a complementación¹⁹. Más adelante, subrayaron el carácter parasitario de los virus defectivos, pero tampoco diferenciaron entre virus defectores y defectivos²⁰. Finalmente, la definición más clara ha sido la planteada por Perales et al. (2011a), que definen a los defectores como “virus defectivos competentes en replicación, producidos por mutación a partir del virus viable y que no tienen por qué completar necesariamente un ciclo infeccioso”. Su diferencia respecto a las *DIP* sería que los defectores “no necesitan la presencia de virus viables para replicarse”²¹. Sin embargo, esta definición puede ser problemática puesto que, en principio, las partículas defectivas interferentes se definen por la necesidad de un virus *helper* para completar el ciclo infeccioso, pero no para replicar su RNA. Así, por ejemplo, las *DIP* de poliovirus obtenidas por Cole et al. (Cole et al., 1971) son capaces de replicarse por sí mismas, pero no de dar progenie infecciosa, ya que su defecto son deleciones en la región que codifica la cápside viral. Otro problema es que dicha definición de defector no se relaciona, al menos directamente, con la forma en que se concibe la defeción en TJE, de donde procede el término, ni tampoco con la idea original de ser elementos parasitarios que subrayan otras definiciones.

Por otro lado, en los trabajos de Chao y Turner mencionados anteriormente, se distingue entre virus “cooperadores” y “defectores”. Los virus “cooperadores” serían aquellos que producen factores o proteínas virales difusibles en gran cantidad, mientras que los defectores serían virus que producen menos factores difusibles, pero que se especializan en unirse a ellos (Turner y Chao, 1999). Aunque esté expresada en términos moleculares, esta definición está directamente relacionada con cómo se entiende la defeción en la TJE. Esta definición está especialmente pensada para el caso de las *DIP*, que suelen presentar alguna ventaja replicativa respecto a los virus *helper*, pero no se adapta de forma general a lo esperable en una situación de mutagénesis incrementada en la que los defectores no tienen por qué tener una ventaja replicativa respecto a los virus viables, incluso al contrario, es posible que tengan una desventaja selectiva frente a los mismos.

¹⁶ “*Inside the cell, the noninfective class can be regarded in practice as a parasite of the viable type, thus resulting in viable-defector interactions (16-18) that likely interfere in a deleterious way with the efficient replication of the altruistic, viable class*”

¹⁷ “*It was conjectured (...) that the role of the mutagen is to enhance the appearance of a class of defective mutants, able to replicate but unable to infect susceptible cells. This parasitic subclass eventually induces the extinction of the whole population*”

¹⁸ “*replication-competent subsets of defective viral genome subpopulations termed defectors may participate in the process of viral extinction*”

¹⁹ “*(...) defectors, i.e. genomes by themselves unable (...) completing the full reproductive viral cycle but capable of surviving within a complex population*”

²⁰ “*In highly diverse populations permitting complementation among types, a large fraction of defective, parasitic types can be sustained. Parasites are unable to produce themselves the correct products to ensure their viability, but are often able to use in trans the products correctly encoded by other types.*”

²¹ “*Defectors are RNA-replication competent viruses that are produced by mutation of the standard virus and that, by themselves, do not necessarily complete an infectious cycle. They differ from defective interfering RNAs in that the latter require the presence of the standard virus for replication.*”

1.5.2. Defección y parasitismo

La definición de defección implica que el defector no contribuye, o contribuye menos que el cooperador, a la producción del beneficio pero se aprovecha de los beneficios producidos igual o más que los cooperadores, lo que, en general, le reporta una ventaja frente a estos (aunque sea por no sufrir el coste asociado a la cooperación). En esta relación, el defector se ve beneficiado por la interacción, mientras que el cooperador se ve perjudicado. Las similitudes con el parasitismo son obvias, por lo que, en base a la terminología utilizada en ecología, la defección podría definirse como una interacción antagonista intraespecífica, es decir, una interacción entre individuos de la misma especie en la que uno de los individuos aumenta su eficacia biológica a costa del otro. Sin embargo, al considerar una interacción intraespecífica es necesario añadir la condición de que, en caso de que no haya interacción, el individuo defector tenga menor eficacia biológica que el otro individuo. Este criterio no tiene sentido entre especies diferentes, entre las que no se puede comparar la eficacia biológica. Considerar a los virus defectores como parásitos intraespecíficos era, esencialmente, la propuesta original de la defección letal (Grande-Pérez et al., 2005b), recalcada en (Manrubia et al., 2010), pero parece que la confusión entre defectores y defectivos de alguna forma ha podido ocultar esta idea básica. Definir la defección como una interacción antagonista intraespecífica no implica hacer ninguna suposición sobre la capacidad reproductiva absoluta de los individuos implicados, sino sólo sobre las condiciones y el resultado de su interacción. Es decir, un virus puede ser viable, en el sentido de que es capaz de completar un ciclo infectivo por sí mismo, y puede actuar como un defector cuando interacciona en *trans* con otro virus, si éste último se ve perjudicado por dicha interacción. En este sentido, los defectivos interferentes no serían más que un subtipo de defectores incapaces de completar un ciclo infectivo por sí mismos. Es decir, si los defectores son parásitos intraespecíficos, los defectivos serían el equivalente a parásitos intraespecíficos obligados.

Como se vio en la sección 1.3.1., la interferencia puede definirse desde un punto de vista fenomenológico como la disminución de la replicación de un virus por la presencia de otro. Este fenómeno puede estar causado por diferentes mecanismos. La defección implica, por tanto, una interferencia debida a interacciones en *trans* entre individuos de diferente eficacia biológica. Para aclarar las relaciones entre defectores, defectivos e interferentes, la figura 1.2 muestra, en un diagrama de Venn, las relaciones entre dichos tipos de individuos.

El diagrama muestra que los defectores son un tipo concreto de virus interferentes y que los defectivos interferentes son un subconjunto determinado de virus defectores. Dentro de los defectivos existen los llamados defectivos no interferentes (Roux, 1999) que no serían defectores ya que no establecen una relación antagonista con los otros virus, sino, en todo caso, una relación equivalente al amensalismo²². Considerar a las partículas defectivas interferentes como parásitos de los virus RNA no es algo nuevo (Kirkwood y Bangham, 1994; Frank, 2000), pero, estrictamente, es incorrecto. El parasitismo se define para individuos de especies distintas, mientras que las partículas defectivas interferentes, o los individuos no defectivos de menor eficacia biológica que pueden interaccionar en *trans*, pertenecen a la misma especie viral que el virus *helper*, es decir, son una variante genética producida por mutación o delección a partir de un virus viable. Por tanto, lo correcto es tratarlas como variantes defectoras y no como parásitos. Aunque bajo ciertas condiciones los modelos matemáticos puedan ser formalmente equivalentes (ya que la ecuación del replicador es equivalente a una ecuación de Lotka-Volterra generalizada (Hofbauer y Sigmund, 1988)), parasitismo y defección son realidades biológicas distintas y como tal deben ser tratadas. De hecho, es evidente que mientras que un defector puede ser producido a partir de un cooperador por mutación o, si se consideran especies sexuales, cooperadores y defectores pueden aparearse entre ellos, no puede decirse lo mismo de una especie hospedadora y su parásito. Por tanto, en realidad los modelos son formalmente equivalentes sólo en el

²²El amensalismo es una relación ecológica en la que una de las especies se ve favorecida mientras que la otra no se ve afectada.

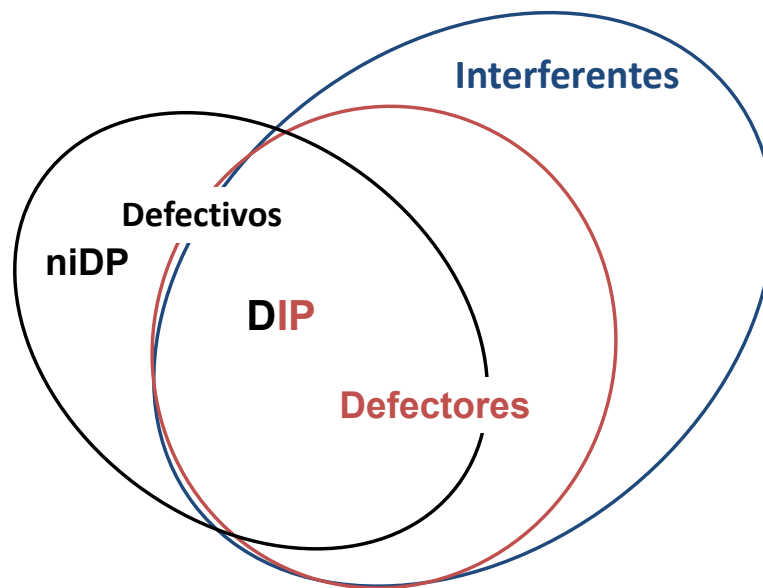


Figura 1.2: Diagrama de Venn para las relaciones entre defectivos, interferentes y defectores. Los términos *DIP* y *niDP* significan *Defective Interfering Particles* y *non-interfering Defective Particles*, respectivamente. Para una explicación más detallada ver el texto.

límite de tasas de mutación bajas o muy bajas. En la sección 2 apéndice B se especifican todas estas consideraciones sobre defectores, defectivos e interferencia en los casos concretos de los juegos 2x2 y los juegos de n -participantes. En dicho apéndice también se ha intentado obtener una definición rigurosa y general de *defector* para ambos tipos de juegos.

Capítulo 2

Objetivos

En los distintos apartados de la introducción se han ido planteando los problemas y cuestiones fundamentales que han ido apareciendo a lo largo de trabajos los previos sobre mutagénesis letal, catástrofe de error y defeción letal. Dentro de dicho planteamiento general, en la presente Tesis se abordarán los siguientes objetivos:

1. Mostrar que, en un paisaje tipo *Single-peak*, la llamada entrada en catástrofe de error debería ser considerada un caso específico de *supervivencia del más robusto*. Es decir, la causa de la aparición de un umbral de error es la acción de la selección natural cuando la presión de selección que sufre la población es un aumento en la tasa de mutación.
2. Estudiar el efecto de la letalidad sobre el umbral de error y el umbral de extinción de una cuasiespecie y, especialmente, sobre la relación entre ambos umbrales.
3. Desarrollar un modelo de cuasiespecies que tenga en cuenta las interacciones dentro del espectro de mutantes de tipo defeción e interacción como si fueran un juego de bienes públicos. Estudiar el efecto de las dinámicas de defeción-complementación sobre la distribución de cuasiespecies bajo condiciones de población constante.
4. Estudiar el efecto de las interacciones en *trans* en el espectro de mutantes mediadas por defeción-cooperación sobre la extinción de cuasiespecies a altas tasas de mutación, en la línea de lo planteado por la hipótesis de defeción letal. Estudiar el efecto de la letalidad sobre la extinción de cuasiespecies debida a defeción letal.
5. Estudiar cómo afecta la variación de la densidad poblacional durante la mutagénesis letal al mecanismo de extinción por defeción letal. Comprobar bajo qué supuestos dicha variación de densidad puede limitar o disminuir la acción de la defeción letal.

Capítulo 3

Selección natural, supervivencia del más robusto y catástrofe de error

En la introducción se consideró la “confusión” que existe en torno al concepto de umbral de error y de entrada en catástrofe de error. Algunos autores han señalado la relación entre la existencia de un umbral de error y el fenómeno denominado *supervivencia del más robusto*, pero sin llegar a estudiar sistemáticamente la relación entre ambos fenómenos. El objetivo de este capítulo es tratar de mostrar que la existencia de un umbral de error en el paisaje tipo *Single-Peak* se debe a que el aumento de la tasa de mutación da lugar a un fenómeno de supervivencia del más robusto en el seno de la cuasiespecie.

3.1. Un modelo sencillo para demostrar que la entrada en catástrofe de error está causada por la supervivencia del más robusto

Para mostrar que la causa de la transición a catástrofe de error de una cuasiespecie es la selección del fenotipo más robusto a altas tasas de mutación, se utilizará el modelo más sencillo de cuasiespecies que presenta un umbral de error, basado en el paisaje *Single-Peak* (ver apéndice A). Este modelo simplificado viene representado por el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales:

$$\begin{aligned}\frac{dx_m}{dt} &= A_m Q_m x_m - \phi_0 x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= A_m (1 - Q_m) x_m + A_k x_k - \phi_0 x_k\end{aligned}\tag{3.1}$$

en el que, sin pérdida de generalidad, se ha supuesto que el factor de degradación, D , es igual a cero. Como se vio en el apéndice A, este sistema de ecuaciones diferenciales presenta un umbral de error para un valor del factor de calidad:

$$Q_c = \frac{A_k}{A_m}\tag{3.2}$$

El sistema de ecuaciones diferenciales 3.1 puede expresarse en términos de eficacias biológicas relativas y coeficientes de selección referidos al fenotipo maestro, tal y como habitualmente se hace en genética de poblaciones. Igualando a 1 el valor de eficacia biológica de un fenotipo, que se considera de referencia, la eficacia biológica relativa del otro fenotipo respecto a este puede expresarse en términos de coeficientes de selección como $1 + s$. De esta forma, un $s > 0$ implica que el fenotipo

en cuestión presenta una ventaja selectiva respecto al fenotipo de referencia, un $s < 0$ indica una desventaja selectiva del fenotipo respecto al de referencia, mientras que cuando $s = 0$, ambos fenotipos tienen la misma eficacia biológica, es decir, existe neutralidad, por lo que la selección natural no puede distinguir entre ambos.

Para encontrar una relación explícita entre el coeficiente de selección y el resto de parámetros del sistema, éste debe ser reformulado mediante un cambio de variable:

$$\begin{aligned} z_m &= A_m Q_m x_m \\ z_k &= A_m Q_m x_k \end{aligned} \quad (3.3)$$

Este cambio de variable es equivalente a dividir las ecuaciones del sistema 3.1 por lo que se denominará *eficacia biológica efectiva*¹ del fenotipo maestro, es decir, el producto de su capacidad replicativa, expresada por su factor de amplificación A_m , por su robustez mutacional, Q_m .

Puesto que $A_m Q_m$ es constante en el tiempo, el sistema resultante es:

$$\begin{aligned} \frac{dz_m}{dt} &= z_m - \phi_0 z_m \\ \frac{dz_k}{dt} &= \frac{(1 - Q_m)}{Q_m} z_m + \frac{A_k}{A_m Q_m} z_k - \phi_0 z_k \end{aligned} \quad (3.4)$$

Donde el flujo de salida del reactor, ϕ_0 , en condiciones de población constante, viene determinado por

$$\phi_0 = \frac{1}{N} \left(\frac{z_m}{Q_m} + \frac{A_k}{A_m Q_m} z_k \right) \quad (3.5)$$

A partir del sistema de ecuaciones diferenciales 3.4 es fácil comprobar que el coeficiente de selección del fenotipo mutante respecto al fenotipo maestro, en función del factor de calidad del fenotipo maestro viene definido por:

$$s(Q_m) = \frac{A_k}{A_m Q_m} - 1 \quad (3.6)$$

Es decir, el coeficiente de selección es el cociente entre la eficacia biológica efectiva del fenotipo mutante y la del fenotipo maestro, menos uno. De hecho, la eficacia biológica efectiva del fenotipo mutante debería ser considerada como $A_k \tilde{Q}_k$, donde la tilde expresaría que el factor de calidad se está considerando a nivel fenotípico. Sin embargo, puesto que en este caso se ha desestimado la *back-mutation*, $\tilde{Q}_k = 1$.

Sustituyendo el coeficiente de selección 3.6 en el sistema 3.4 obtenemos:

$$\begin{aligned} \frac{dz_m}{dt} &= z_m - \phi_0 z_m \\ \frac{dz_k}{dt} &= \frac{(1 - Q_m)z_m}{Q_m} + (1 + s(Q_m))z_k - \phi_0 z_k \end{aligned} \quad (3.7)$$

¹En ocasiones también se le ha denominado *valor selectivo*, citepEigen79

$$\text{Donde } \phi_0 = \frac{1}{N} \left(\frac{z_m}{Q_m} + (1 + s(Q_m))z_k \right)$$

Teniendo esto en cuenta y sustituyendo la expresión 3.2 en 3.6, se obtiene que el umbral de error es el valor de Q_m para el que el coeficiente de selección, s , se hace cero. Es decir, cuando $Q_m < Q_c$, el fenotipo mutante tiene una ventaja selectiva sobre el fenotipo maestro, de forma que $s > 0$ (fig. 3.1). Por este motivo, es incorrecto decir que antes del umbral de error la selección se impone a la mutación, mientras que después del umbral de error, la mutación se impone a la selección. Lo que ocurre en realidad es que la selección natural actúa en beneficio del fenotipo maestro antes del umbral de error ($Q_m > Q_c$), mientras que después del mismo, la selección natural actúa a favor del fenotipo mutante. Es decir, la entrada en catástrofe de error es la selección del fenotipo mutante debido a la ventaja selectiva que le proporciona su mayor robustez mutacional. Anteriormente este fenómeno ha sido denominado *supervivencia del más robusto* (Schuster y Swetina, 1988; Wilke, 2001; Wilke et al., 2001).

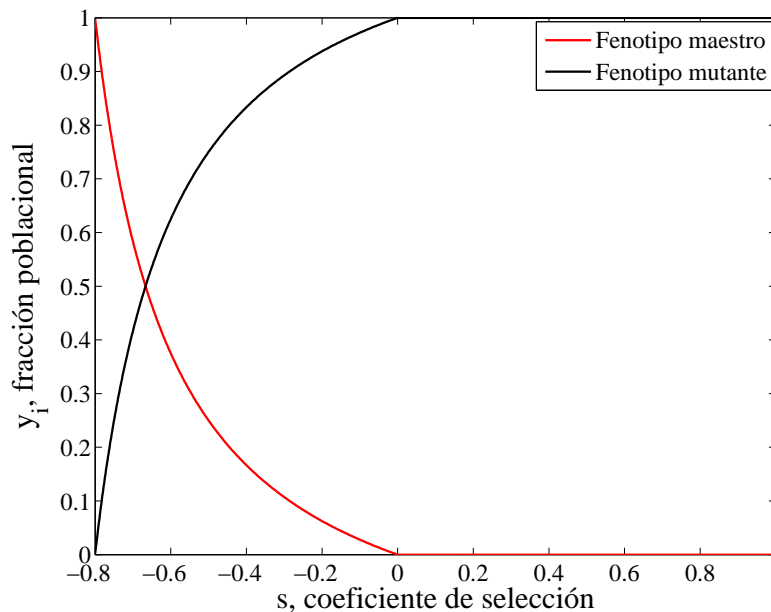


Figura 3.1: Variación de la fracción poblacional de cada fenotipo con el coeficiente de selección. Gracias al cambio de variables 3.3 es posible observar que el umbral de error ocurre exactamente cuando el coeficiente de selección 3.6 se iguala a cero. La fracción poblacional viene definida por $y_i = \frac{z_i}{z_m + z_k}$

3.2. Más allá del umbral del error, la población evoluciona hacia las regiones más robustas del espacio de secuencias

En el apartado anterior se demostró que la entrada en catástrofe de error es el resultado de la selección natural actuando sobre las diferencias de eficacia biológica efectiva entre los fenotipos maestro y mutante. Este fenómeno también puede observarse cuando se utiliza el modelo de cuasiespecies extendido (Swetina y Schuster, 1982) en el que las secuencias mutantes se agrupan en clases de Hamming. En este caso, la *back-mutation* no es desestimada y el sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias tiene la forma general:

$$\frac{dx_i}{dt} = A_i Q_{ii} x_i + \sum_{j \neq i} A_j Q_{ij} x_j - \phi_0 x_i \quad (3.8)$$

que tras la linealización (Schuster y Stadler, 2008) queda en forma de un problema de autovalores y autovectores de la forma $W\lambda = \lambda v$ (ver apéndice A, ecu. A.12, para una explicación más detallada) Puesto que este problema no es, en general, tratable analíticamente, incluso para longitudes de secuencias pequeñas, la solución al problema 3.8 se ha obtenido numéricamente utilizando la plataforma de software matemático MATLAB®.

La figura 3.2 muestra que la transición observada en el umbral de error tiene lugar, aproximadamente, cuando el coeficiente de selección se hace cero. Esto se debe a que el coeficiente se ha expresado de forma equivalente a la sección previa, y se ha calculado considerando el fenotipo mutante en su conjunto, y no teniendo en cuenta que está compuesto por clases de Hamming.

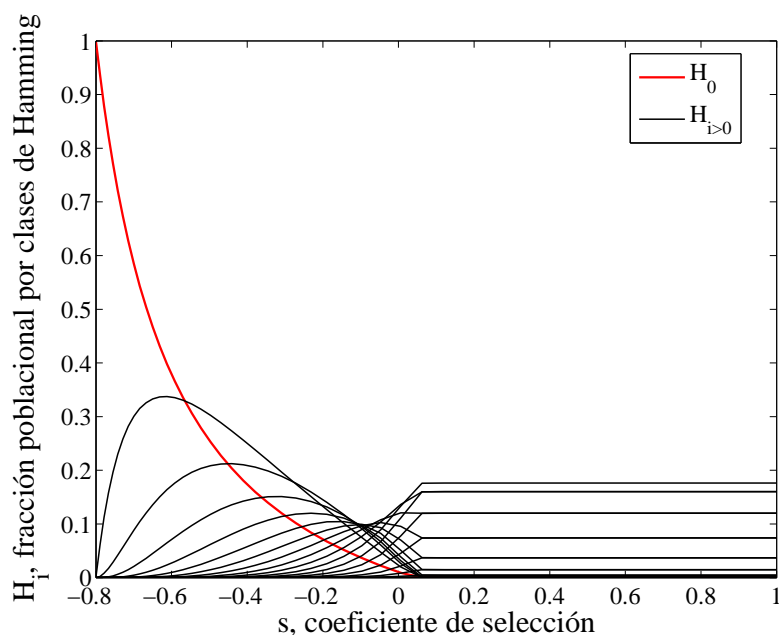


Figura 3.2: Variación de la fracción de Hamming en función del coeficiente de selección obtenido sin considerar la *back-mutation*. Se observa que la transición característica que ocurre en el umbral de error tiene lugar aproximadamente cuando el coeficiente de selección s , ecu. 3.6, se hace cero.

Como se vio en la introducción, una de las características de la catástrofe de error es que, más allá del umbral de error, la población se deslocaliza por el espacio de secuencias. Esto hace que la aproximación determinista no sea apropiada para estudiar el régimen de catástrofe de error, puesto que esta aproximación predice que todas las secuencias están equipobladas, algo materialmente imposible. Sin embargo, si este resultado se interpreta como la distribución, no de la población, sino de la probabilidad de que la población se encuentre en una determinada región del espacio de secuencias, lo que se obtiene es que es igualmente probable que la población se encuentre en cualquier región del espacio de secuencias. En realidad, esto se debe a que todas las secuencias del fenotipo mutante tienen el mismo factor de amplificación y el mismo factor de calidad, por lo que la selección natural deja de actuar dentro de dicho fenotipo. Sin embargo, esta es una condición muy extrema, y no debería derivarse ninguna conclusión general a partir de ella. Cuando se cambian o bien los factores de amplificación o bien la robustez mutacional de algunas de las clases de Hamming, la distribución de la población más allá del umbral de error se aparta de la distribución uniforme característica de la catástrofe de error. Sin embargo, el umbral de error, que es la relación entre las eficacias biológicas efectivas de los dos fenotipos, no tiene por qué verse afectado por dichos cambios. En esta sección se estudiará cómo cambia la distribución poblacional más allá del umbral de error cuando se modifica la robustez de algunas de las clases de Hamming. El número de secuencias, n_i , que componen una clase H_i es una propiedad intrínseca de la clasificación según distancias de Hamming, que depende

del número de mutaciones, i , respecto de la secuencia maestra y de la longitud de la secuencia, ν , según:

$$n_i = \binom{\nu}{i} \quad (3.9)$$

Una posible manera de cambiar la robustez mutacional de cada clase de Hamming es asumiendo que el factor de calidad por dígito de cada especie, q_i , depende de su secuencia, tal y como hicieron previamente Sasaki y Nowak (2003). Como primera aproximación, se considerará que el factor de calidad depende de la distancia de Hamming respecto a la secuencia maestra, de forma que la robustez de cada clase de Hamming pueda ser modificada. Para ello se utilizará un paisaje de factores de calidad truncado que depende de la distancia de Hamming según la siguiente expresión:

$$\begin{aligned} q_k &= q_1 \text{ si } k \leq k_c \\ q_k &= 1 - K_q(1 - q_1) \text{ si } k > k_c \end{aligned} \quad (3.10)$$

Donde q_k es el factor de calidad de la clase de Hamming k , y K_q es una constante que determina el cambio del factor de calidad de las clases de Hamming más allá de un umbral arbitrario de distancia de Hamming k_c .

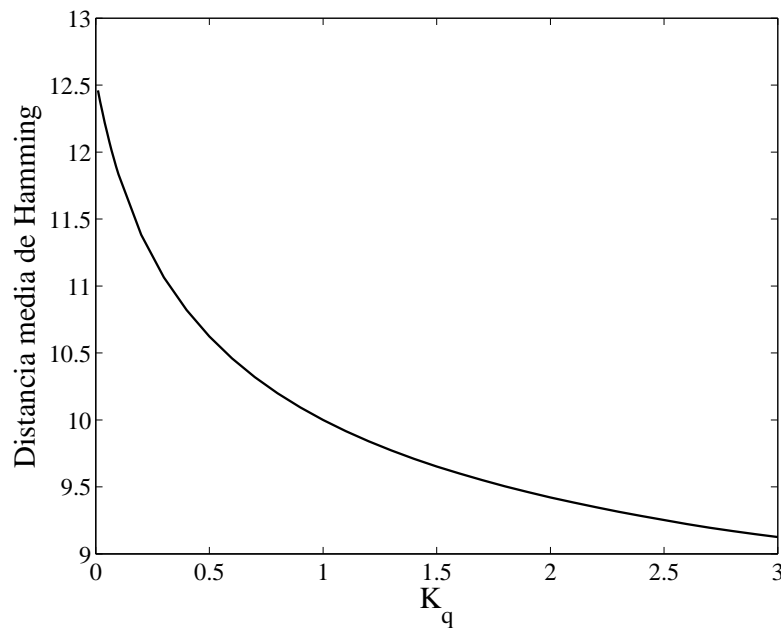
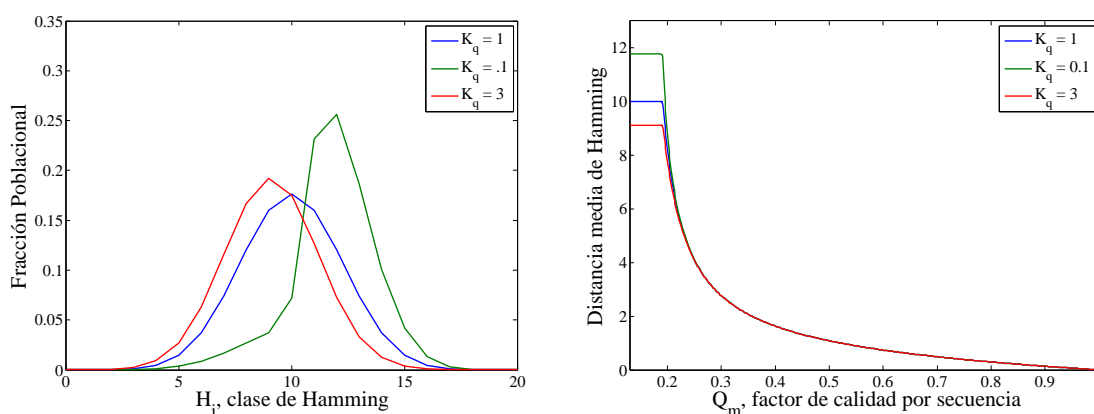


Figura 3.3: Variación de la distancia media de Hamming en la catástrofe de error con el parámetro K_q para $\nu = 20$. La figura muestra cómo la distribución de población se desplaza a mayores o menores distancias de Hamming en función del valor de K_q . Cuando $K_q = 1$, todas las secuencias tienen el mismo factor de calidad y la distancia media de Hamming en la catástrofe de error es $\frac{\nu}{2} = 10$. Ver texto para más detalles.

La manera más sencilla de estudiar los cambios que se producen en la distribución poblacional más allá del umbral de error es viendo cómo se modifica la distancia media de Hamming que, tradicionalmente, ha sido considerada una medida de localización central de la distribución poblacional. La figura 3.3 muestra el resultado para $k_c = 10$. Cuando $K_q = 1$, $q_k(k < k_c) = q_k(k > k_c)$ y, por tanto, el factor de calidad es el mismo para todas las secuencias, recuperándose el modelo original de cuasiespecies. Cuando $K_q > 1$, $q_k(k > k_c)$ es menor que $q_k(k < k_c)$ obteniéndose que la distancia

de Hamming promedio de la población en la catástrofe de error disminuye respecto al caso homogéneo ($K_q = 1$). Sin embargo, en el caso $K_q < 1$, $q_k(k > k_c)$ es mayor que $q_k(k < k_c)$ y lo que se obtiene es que la distancia de Hamming promedio en la catástrofe de error aumenta respecto al caso homogéneo. Una distancia media de Hamming mayor o menor que la obtenida en el caso homogéneo implica que la distribución de población en el estado estacionario más allá del umbral de error se aleja de la homogeneidad en la distribución de secuencias, hacia regiones más alejadas o más cercanas a la secuencia maestra (la figura 3.4a muestra este efecto para varios casos particulares). En términos probabilísticos, esto implica que cuando la población inicia su proceso de deriva por el espacio de secuencias, ésta no es equiprobable, sino que ciertas zonas, las más robustas, tienden a ser más visitadas que otras. Sin embargo, a pesar de que la distancia de Hamming promedio en la catástrofe de error cambia, el umbral de error no varía para cualquier valor de K_q , al menos para $k_c = 10$, ya que la eficacia biológica efectiva global del fenotipo mutante no se ve afectada por los cambios en el factor de calidad de las secuencias que lo componen. La figura 3.4 muestra los resultados para los casos concretos $K_q = 0.1$ y $K_q = 3$, comparados con el caso homogéneo $K_q = 1$. En ella se observa tanto que el umbral de error no varía (fig. 3.4b) como el cambio que sufre la distribución de población en la catástrofe de error hacia mayores o menores clases de Hamming (fig. 3.4a), en función de los cambios en la robustez mutacional de dichas clases de Hamming.



(a) **Distribución de clases de Hamming más allá del umbral de error para diferentes valores de K_q .** Todas las distribuciones se han obtenido para $q_1 = 0.8$. La población obtenida a $K_q = 1$ es la distribución uniforme característica de la catástrofe de error en el modelo clásico. Para un mayor o menor valor de K_q , la población se desplaza hacia clases de Hamming menores o mayores, respectivamente.

(b) **Variación de la distancia media de Hamming con el factor de calidad por secuencia, Q_m , para diferentes valores de K_q .** Los cambios en K_q no alteran el umbral de error, pero la distancia media de Hamming en, y más allá de, la catástrofe de error se ve modificada como consecuencia del desplazamiento de la distribución poblacional mostrado en la parte a de la figura. $Q_m = q_1^\nu$

Figura 3.4: Cambios en la distribución poblacional más allá del umbral de error para diferentes valores de K_q .

3.3. Competición entre dos cuasiespecies con diferente robustez mutacional

En las secciones anteriores, se ha mostrado que la entrada en catástrofe de error implica la selección de un fenotipo más robusto cuando la población se ve sometida a altas presiones mutacionales. En este apartado, se considerará la posible relación entre la entrada en catástrofe de error dentro de una cuasiespecie y un fenómeno de *supervivencia del más robusto* entre dos cuasiespecies diferentes. Para estudiar esta relación se ha utilizado un modelo simplificado que considera dos cuasiespecies A

y B , similar a los utilizados en (Aguirre y Manrubia, 2007; O'Fallon et al., 2007; Sardanyés et al., 2008). En este modelo, dos cuasiespecies A y B compiten entre sí sin que exista un flujo mutacional entre ellas, es decir, es altamente improbable que una secuencia de una de las cuasiespecies al reproducirse genere por mutación una secuencia de la otra cuasiespecie. Las dos cuasiespecies están formadas por un fenotipo maestro (m) y uno mutante (k). Los cuatro fenotipos tienen como factores de amplificación A_{Am} , A_{Ak} , A_{Bm} y A_{Bk} , donde el primer subíndice hace referencia a la cuasiespecie y el segundo al fenotipo. El factor de degradación D , es el mismo para todos los fenotipos y, sin pérdida de generalidad, se iguala a cero.

El factor de calidad por dígito, q también se considera que es el mismo para todos los fenotipos, pero cada uno de los fenotipos tiene una robustez mutacional diferente. El factor de calidad fenotípico de cada fenotipo i viene determinado por la expresión $\tilde{Q}_i = \exp[-a_i(1-q)]$, donde a_i es un parámetro arbitrario que decrece de forma inversa a la robustez mutacional de dicho fenotipo (Wilke y Adami, 2003; Bloom et al., 2007). Por tanto, los fenotipos maestro y mutante de la cuasiespecie A tienen una robustez mutacional que varía de forma inversa a a_{Am} y a_{Ak} , respectivamente, mientras que los fenotipos maestro y mutante de la cuasiespecie B tienen una robustez mutacional que varía de forma inversa a a_{Bm} y a_{Bk} . Tomando todo esto en cuenta, es posible obtener el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales:

$$\begin{aligned}\frac{dx_{Am}}{dt} &= A_{Am}\tilde{Q}_{Am}x_{Am} + A_{Ak}(1 - \tilde{Q}_{Ak})x_{Ak} - \phi_0x_{Am} \\ \frac{dx_{Ak}}{dt} &= A_{Am}(1 - \tilde{Q}_{Am})x_{Am} + A_{Ak}\tilde{Q}_{Ak}x_{Ak} - \phi_0x_{Ak} \\ \frac{dx_{Bm}}{dt} &= A_{Bm}\tilde{Q}_{Bm}x_{Bm} + A_{Bk}(1 - \tilde{Q}_{Bk})x_{Bk} - \phi_0x_{Bm} \\ \frac{dx_{Bk}}{dt} &= A_{Bm}(1 - \tilde{Q}_{Bm})x_{Bm} + A_{Bk}\tilde{Q}_{Bk}x_{Bk} - \phi_0x_{Bk}\end{aligned}\tag{3.11}$$

Donde, en este caso, el término del flujo de salida del reactor ϕ_0 viene determinado por:

$$\phi_0 = \frac{A_{Am}x_{Am} + A_{Ak}x_{Ak} + A_{Bm}x_{Bm} + A_{Bk}x_{Bk}}{x_{Am} + x_{Ak} + x_{Bm} + x_{Bk}}\tag{3.12}$$

La figura 3.5 muestra la solución del modelo en el estado estacionario, en ausencia de *back-mutation* desde el fenotipo mutante al maestro en ambas cuasiespecies ($a_{Ak} = 0$; $a_{Bk} = 0$). En esta figura pueden observarse claramente tres regímenes distintos separados por dos transiciones. La cuasiespecie A es la cuasiespecie dominante en el primer y en el tercer régimen, mientras que la cuasiespecie B es la que ha sido seleccionada en el segundo. Entre estos dos regímenes tienen lugar dos transiciones tipo supervivencia del más robusto. La primera tiene lugar a $Q_{Am} = 0.6561$ y la segunda tiene lugar a $Q_{Am} = 0.5398$ (en la figura 3.5, se corresponden con las líneas roja y azul, respectivamente). Por supuesto, en cada régimen la distribución poblacional de la cuasiespecie cambia al disminuir el factor de calidad. De hecho, es precisamente el cambio en las distribuciones poblacionales de las cuasiespecies A y B lo que modifica el resultado de la competición entre ambas. Aunque las cuasiespecies A y B compiten entre sí, las dinámicas internas de dichas cuasiespecies no se ven afectadas por dicha competición. Un análisis de las cuasiespecies A y B por separado permite calcular los umbrales de error para ambas cuasiespecies. Para las condiciones concretas estudiadas en la figura 3.5, el umbral de error de la cuasiespecie A es $Q_{cA} = 0.6$, mientras que el umbral de error de la cuasiespecie B es $Q_{cB} = 0.5$, de forma que la cuasiespecie A entra en catástrofe de error a un valor de q que se encuentra entre los valores de q a los que se producen las transiciones de tipo supervivencia del más robusto. De hecho, si la cuasiespecie A es capaz de desplazar a la cuasiespecie B a $Q_{Am} = 0.5398$ (fig. 3.5, línea azul) es precisamente porque la cuasiespecie A se encuentra

en un régimen de catástrofe de error, de forma que su robustez es mayor y por tanto, se produce un fenómeno de supervivencia del más robusto, que desplaza a la cuasiespecie B . Dicho de otra forma, la entrada en catástrofe de error de una cuasiespecie permite que ésta se vea beneficiada por la selección natural hasta el punto de ser seleccionada por haber aumentado su robustez mutacional.

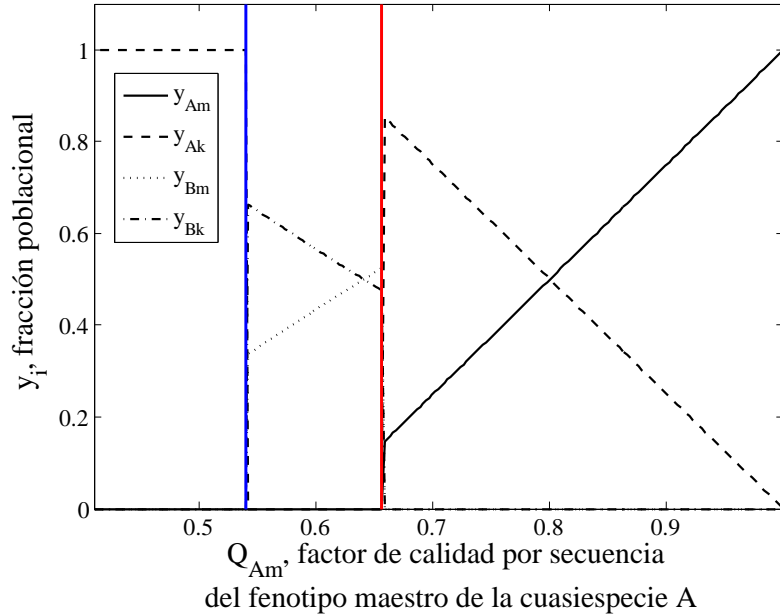


Figura 3.5: Fracción poblacional de los fenotipos de dos cuasiespecies que compiten, en función del factor de calidad por secuencia del fenotipo maestro de la cuasiespecie A , Q_{Am} . La figura muestra la fracción poblacional obtenida a partir del sistema de EDO 3.11 en el estado estacionario, en función del factor de calidad por dígito. Las líneas coloreadas muestran las fronteras entre las tres fases en las que dominan alternadamente cada una de las cuasiespecies. En las fases I y III, la cuasiespecie A es la que se selecciona, mientras que en la fase II, es la cuasiespecie B la que es seleccionada. Los factores de amplificación de la cuasiespecie A son $A_{Am} = 10$ y $A_{Ak} = 6$. Los de la cuasiespecie B son $A_{Bm} = 8$ y $A_{Bk} = 5$. Los valores de a_i , que determina el efecto de la tasa de mutación genotípica en la tasa de mutación fenotípica, son $a_{Am} = 15$, $a_{Ak} = 0$, $a_{Bm} = 7$, y $a_{Bk} = 0$. La fracción poblacional y_i viene definida por $y_i = \frac{x_{ij}}{N}$, siendo N el tamaño de la población.

Por supuesto, la cuasiespecie B entra en catástrofe de error para $q^\nu < Q_{cB}$, pero puesto que la robustez del fenotipo mutante de ambas cuasiespecies es la misma ($a_{Ak} = a_{Bk} = 0$), el fenotipo mutante de la cuasiespecie B no puede competir con el de la cuasiespecie A , ya que el factor de amplificación de éste es mayor.

Capítulo 4

Letalidad y extinción en modelos de cuasiespecies

En la sección II del apéndice A se vio que, cuando se estudia el modelo de cuasiespecies en condiciones de población variable utilizando un paisaje de eficacia biológica tipo *Single-Peak*, aparece un umbral de extinción que viene definido por la inversa de la eficacia biológica absoluta del fenotipo maestro $Q_{ex} = \frac{1}{R_m}$, donde $R_m = \frac{A_m}{D}$. También se vio que, en el paisaje *Single-Peak*, la entrada en catástrofe de error y la extinción son fenómenos mutuamente excluyentes, lo que se expresa en que la condición para que la población se extinga es que el fenotipo mutante no sea estable demográficamente ($A_k < D$). En este capítulo se estudiará el efecto de la letalidad sobre el umbral de extinción, el umbral de error y sobre la relación entre ambos. La consideración de la presencia de letalidad en el modelo de cuasiespecies tiene un doble interés. En primer lugar, tal y como se comentó en la introducción, diferentes autores han sugerido que el umbral de error desaparece en presencia de mutaciones letales (Wagner y Krall, 1993; Wilke, 2005; Summers y Litwin, 2006). Sin embargo, tanto Bonnaz y Koch (1998) como Takeuchi y Hogeweg (2007) mostraron que, en presencia de letalidad, sí puede producirse un umbral de error, y que este disminuye, es decir, tiene lugar a mayores tasas de mutación. Ahora bien, al utilizar un modelo en el que se suponía población constante, estos autores no pudieron estudiar la relación entre la letalidad, el umbral de error y la extinción. Por otro lado, ambos autores utilizaron un esquema de letalidad, es decir, dos distribuciones del fenotipo letal por el espacio de secuencias, muy particular, que supone la distribución uniforme de la misma por el espacio de secuencias.

En esta sección se estudiarán dos fenómenos: por un lado, cómo afecta la letalidad a los procesos de selección-mutación entre fenotipos con diferente capacidad replicativa y robustez mutacional y, en particular, cómo se alteran el umbral de error y la distribución poblacional del fenotipo mutante más allá del mismo. Por otro lado, se estudiará cómo afecta la letalidad al proceso de extinción de la cuasiespecie, particularmente en su relación con el umbral de error. Para ello se utilizará una versión del modelo simplificado de cuasiespecies que incluye un fenotipo letal. Dicho modelo se estudiará considerando dos esquemas de letalidad distintos: en primer lugar considerando que la letalidad está uniformemente distribuida por el espacio de secuencias y, después, considerando que existen l posiciones en la secuencia cuya mutación hace que aquella no pueda replicarse, por lo que se las denominarán *posiciones letales*.

4.1. Modelo simplificado de cuasiespecies en presencia de letalidad

A lo largo de esta sección se va a utilizar una variación del modelo simplificado de cuasiespecies presentado en el apéndice A. Para ello, junto con los fenotipos maestro y mutante se considerará un tercer fenotipo, denominado fenotipo letal, cuyo factor de amplificación es igual a cero, $A_l = 0$. Teniendo esto en cuenta, y aplicando la restricción logística vista en la sección 2 del apéndice A, el sistema de ecuaciones diferenciales que se obtiene es el siguiente:

$$\begin{aligned}\frac{dx_m}{dt} &= (N - x_m - x_k - x_l) A_m Q_{mm} x_m - D x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= (N - x_m - x_k - x_l) (A_m Q_{km} x_m + A_k Q_{kk} x_k) - D x_k \\ \frac{dx_l}{dt} &= (N - x_m - x_k - x_l) (A_m Q_{lm} x_m + A_k Q_{lk} x_k) - D x_l\end{aligned}\quad (4.1)$$

Donde x_m , x_k y x_l son las concentraciones de los fenotipos maestro, mutante y letal respectivamente, A_m y A_k son los factores de amplificación de los fenotipos mutante y maestro, y D es el factor de degradación, considerado igual para todos los fenotipos. Los valores Q_{ij} representan la probabilidad de obtener el fenotipo i a partir del fenotipo j debido a mutaciones o, si $i = j$, el factor de calidad por secuencia de dicho fenotipo. De esta forma, Q_{mm} y Q_{kk} son los factores de calidad de los fenotipos maestro y mutante, Q_{km} es la probabilidad de obtener el fenotipo mutante a partir del fenotipo maestro y Q_{lm} y Q_{lk} las probabilidades de obtener el fenotipo letal a partir de los fenotipos maestro y mutante, respectivamente. Al igual que en los casos estudiados anteriormente, la probabilidad de generar una copia maestra a partir del fenotipo mutante se desestima, es decir, se estudiará el sistema en ausencia de *back-mutation*.

4.2. Letalidad uniformemente distribuida

En el sistema de EDO 4.1, las probabilidades de mutación entre los fenotipos maestro, mutante y letal se expresan de forma genérica. Para obtener expresiones concretas de dichas probabilidades es necesario definir un determinado esquema de letalidad, es decir, una determinada distribución en el espacio de secuencias de aquellos mutantes que componen el fenotipo letal. El esquema de letalidad más simple consiste en suponer que existe una fracción total de mutantes letales $(1 - p)$ uniformemente distribuidos por el espacio de secuencias, de forma que existe una probabilidad $(1 - p)$, de que la especie que se replica dé lugar a un mutante letal. Este esquema de letalidad es el que fue utilizado por Bonnaz (1999) y Takeuchi y Hogeweg (2007) en los trabajos citados anteriormente. Con esta suposición, las probabilidades de obtener un determinado fenotipo a partir de otro serían:

$$\begin{aligned}Q_{mm} &= Q_m \\ Q_{km} &= (1 - Q_m)p \\ Q_{kk} &= p \\ Q_{lm} &= (1 - Q_m)(1 - p) \\ Q_{lk} &= (1 - p)\end{aligned}\quad (4.2)$$

De forma que el sistema de ecuaciones diferenciales 4.1 quedaría

$$\begin{aligned}
\frac{dx_m}{dt} &= (N - x_m - x_k - x_l) A_m Q_m x_m - D x_m \\
\frac{dx_k}{dt} &= (N - x_m - x_k - x_l) (A_m p (1 - Q_m) x_m + A_k p x_k) - D x_k \\
\frac{dx_l}{dt} &= (N - x_m - x_k - x_l) (A_m (1 - Q_m) (1 - p) x_m + A_k (1 - p) x_k) - D x_l
\end{aligned} \tag{4.3}$$

Los resultados obtenidos del análisis de los estados estacionarios del sistema 4.3 pueden encontrarse en la tabla 4.1.

Al igual que en el caso en ausencia de letalidad, ver apéndice A, ecu. A.32, el modelo presenta tres estados estacionarios. El primero se corresponde con el equilibrio de mutación-selección o distribución de cuasiespecies, el segundo está compuesto exclusivamente por los fenotipos mutante y letal, y se corresponde con lo que clásicamente se ha denominado catástrofe de error. Por último, está el estado estacionario de extinción, en el que no está presente ninguna especie. En la tabla 4.1 se observa que, para cada estado estacionario, se obtienen dos condiciones para que aquel sea asintóticamente estable. Como en el caso anterior, exceptuando el estado estacionario III, los otros dos estados estacionarios presentan una condición de estabilidad genética y otra demográfica. A partir de estas condiciones es posible derivar, respectivamente, los umbrales de error y de extinción que se obtienen para cada estado estacionario.

A partir de las condiciones de estabilidad genética es posible comprobar que la distribución en forma de cuasiespecie será estable si $A_m Q_m > A_k p$, mientras que si $A_m Q_m < A_k p$, el estado estacionario estable será el número II (sólo fenotipos mutante y letal). A partir de esta condición de estabilidad es posible definir el umbral de error que, en este caso, viene definido por:

$$Q_c = \frac{A_k p}{A_m} \tag{4.4}$$

Tal y como demostraron Bonnaz y Koch (1998), Bonnaz (1999) y Takeuchi y Hogeweg (2007), esta expresión implica que un aumento de la letalidad disminuye el umbral de error, es decir, al aumentar la letalidad, la cuasiespecie puede tolerar tasas de mutación más altas antes de cruzar el umbral de error. Como se comentó en la introducción, desde la perspectiva de que la catástrofe de error sería una especie de “fusión” de la información genética que llevaría al colapso de la cuasiespecie, este resultado es, cuanto menos, completamente contraintuitivo. Sin embargo, desde el punto de vista de que la llamada transición a catástrofe de error es el resultado de un proceso de selección natural, este resultado tiene mucho más sentido. En el apartado 3.1 se vio que el umbral de error dependía de la relación entre las eficacias biológicas efectivas de los fenotipos maestro y mutante. En el caso concreto del fenotipo mutante se observó que su eficacia biológica efectiva, $A_k \tilde{Q}_k$, se reducía a A_k puesto que dicho fenotipo abarcaba la práctica totalidad del espacio de secuencias, de forma que su robustez era infinita y, por tanto, su factor de calidad fenotípico era esencialmente igual a uno, $\tilde{Q}_k = 1$. La introducción de una determinada fracción de mutantes letales en el espacio de secuencias disminuye la robustez mutacional del fenotipo maestro, ya que ahora $\tilde{Q}_k = p < 1$. Esto tiene como resultado una disminución de la eficacia biológica efectiva del fenotipo mutante, $A_k p$, por lo que el desplazamiento del fenotipo maestro se producirá a tasas de mutación más altas, disminuyendo el umbral de error.

Al igual que en el apartado 3.1, es posible obtener un coeficiente de selección en presencia de letalidad uniformemente distribuida, que viene definido por la relación entre las eficacias biológicas efectivas de ambos fenotipos menos uno:

$$s(Q_m, p) = \frac{A_k p}{A_m Q_m} - 1 \tag{4.5}$$

Estado Estacionario	Propiedades	
Estado estacionario I. Coexistencia. Equilibrio selección-mutación (Cuasiespecies)	Población	$x_m = \frac{(A_m Q_m - A_k p)(A_m Q_m N - D)}{A_m Q_m (A_m - A_k p)}$ $x_k = \frac{p(1 - Q_m)(A_m Q_m N - D)}{Q_m (A_m - A_k)}$ $x_l = \frac{(1 - p)(1 - Q_m)(A_m N Q_m - D)}{Q_m (A_m - A_k p)}$
	Fracción poblacional	$y_m = \frac{(A_m Q_m - A_k p)}{(A_m - A_k p)}$ $y_k = \frac{A_m p (1 - Q_m)}{(A_m - A_k p)}$ $y_l = \frac{A_m (1 - p) (1 - Q_m)}{(A_m - A_k p)}$
	Estabilidad	$A_m N Q_m > D \quad A_m Q_m > A_k p$
	Lastre mutacional	$L_A = 1 - Q_m$
Estado estacionario II. ("Catástrofe de error")	Población	$x_m = 0$ $x_k = Np - \frac{D}{A_k}$ $x_l = \frac{(A_k p N - D)(1 - p)}{A_k p}$
	Fracción poblacional	$y_m = 0 \quad y_k = p \quad y_l = 1 - p$
	Estabilidad	$A_k N p > D \quad A_k p > A_m Q_m$
	Lastre mutacional	$L_A = 1 - \frac{A_k p}{A_m}$
Estado estacionario III. Extinción	Población	$x_m = 0 \quad x_k = 0 \quad x_l = 0$
	Estabilidad	$A_k N p < D \quad A_m Q_m N < D$
	Lastre mutacional	$L_A = 1$

Tabla 4.1: Estados estacionarios del modelo logístico en presencia de letalidad uniformemente distribuida. Los valores se han obtenido hallando la solución de estado estacionario del sistema 4.3. La fila llamada "Estabilidad" muestra las condiciones necesarias para que dicho estado estacionario sea asintóticamente estable. Las condiciones se han hallado sustituyendo los valores del estado estacionario en el Jacobiano que se obtiene a partir del sistema 4.3.

Por supuesto, el coeficiente de selección 4.5 se hace cero en el umbral de error 4.4. A partir de ese valor de Q_m , la selección natural actúa a favor del fenotipo mutante, tal y como se discutió en el apartado 3.1, y, por tanto, $s(Q_m, p) > 0$

Al igual que en el caso sin letalidad, para estudiar la extinción hay que centrar la atención en las condiciones de estabilidad demográfica de los estados estacionarios I (coexistencia) y II (“catástrofe de error”). En el caso del estado estacionario I, el umbral de extinción que se deriva a partir de dicha condición viene definido por:

$$Q_{ex}^{SSI} = \frac{D}{A_m N} = \frac{1}{R_m N} \quad (4.6)$$

Para que la población pueda extinguirse mientras presenta una distribución poblacional tipo cuasiespecie es necesario que el umbral de extinción sea superior al umbral de error, $Q_{ex}^{SSI} > Q_c$, para lo cual debe cumplirse que

$$(1 - p) > 1 - \frac{D}{A_k N} \quad (4.7)$$

Es decir, existe un determinado valor crítico:

$$(1 - p)_c = 1 - \frac{D}{A_k N} = 1 - \frac{1}{R_k N} \quad (4.8)$$

tal que si la fracción de mutantes letales, $1 - p$, es inferior a dicho valor, la población cruza el umbral de error antes de extinguirse. Sin embargo, si la fracción de mutantes letales es superior a dicho umbral, la población se extingue antes de cruzar el umbral de error. Ahora bien, el umbral expresado en la ecu. 4.8 es, precisamente, el valor máximo de fracción de letalidad que se obtiene para el estado estacionario II sea demográficamente estable.

$$\frac{A_k}{D} N p > 1 \quad (4.9)$$

o

$$R_k N p > 1 \quad (4.10)$$

De donde se deriva

$$(1 - p)_{ex} = 1 - \frac{D}{A_k N} = 1 - \frac{1}{R_k N} \quad (4.11)$$

Es decir, como ya se observaba en el caso en ausencia de letalidad, la condición que determina si al aumentar la tasa de mutación la población se extingue o si el fenotipo mutante se impone al fenotipo maestro es, simplemente, la viabilidad del fenotipo mutante. En este caso, en el que la letalidad está uniformemente repartida por el espacio de secuencias, esta viabilidad depende de la fracción de mutantes letales, $1 - p$.

Teniendo en cuenta estos resultados, es posible resumir cómo se comporta el sistema mediante el diagrama de fases representado en la figura 3.1. En dicho diagrama se observa como todo el comportamiento depende de la viabilidad del fenotipo mutante, que depende, a su vez, de la fracción de secuencias letales $1 - p$. Si ésta es menor que el valor crítico $(1 - p)_{ex}$, el sistema no puede extinguirse por un aumento de la tasa de mutación, ya que disminuir el factor de calidad sólo consigue que se cruce el umbral de error, de forma que el fenotipo mutante se impone al fenotipo maestro y, siendo el estado estacionario II demográficamente estable, aquel es capaz de mantenerse en el tiempo. Si, por

el contrario, la fracción de secuencias letales es mayor que el valor crítico $(1 - p)_{ex}$, el umbral de error desaparece, y la cuasiespecie se extingue antes de que el fenotipo mutante pueda imponerse al fenotipo maestro. Puesto que cuando $1 - p > (1 - p)_{c,ex}$ el umbral de error desaparece, este valor de la fracción de secuencias letales se denominará *letalidad crítica*. La letalidad crítica es el valor de letalidad más allá del cual el umbral de error desaparece, y da una idea aproximada de la “extensión” de los diferentes estados estacionarios en un diagrama de fases. Este resultado implica que, al igual que en el caso en ausencia de letalidad, al considerar una letalidad uniformemente distribuida por el espacio de secuencias, extinción y catástrofe de error son fenómenos mutuamente excluyentes.

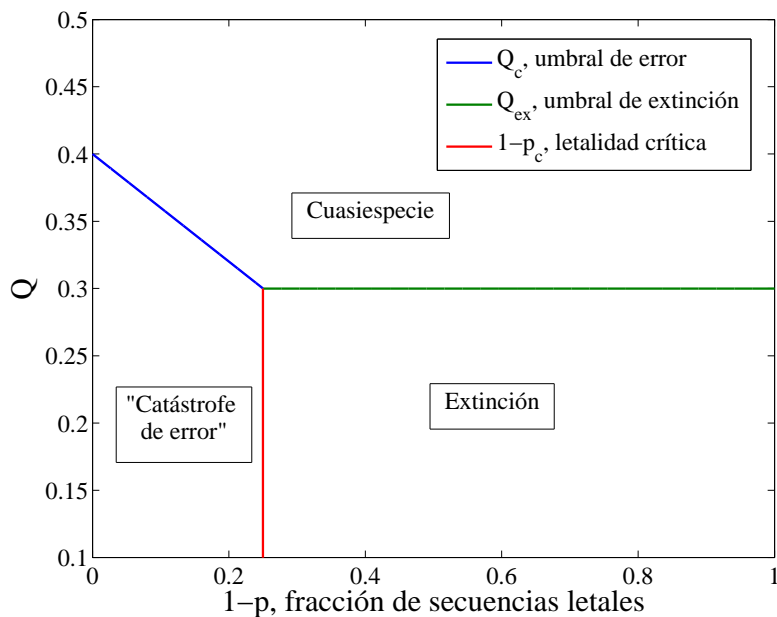


Figura 4.1: Diagrama de fases para el modelo de cuasiespecies con letalidad uniformemente distribuida en función de la fracción de secuencias letales, $1 - p$. En la figura se observa que más allá de la letalidad crítica, línea roja, el umbral de error es menor que el umbral de extinción y, por tanto, aquel desaparece. $A_m = 10$; $A_k = 4$; $D = 3$; $N = 1$. ($R_m = 10/3$, $R_k = 4/3$)

4.3. Paisaje de letalidad basado en “posiciones letales”

Una letalidad uniformemente distribuida por el espacio de secuencias es, claramente, una suposición muy alejada de la realidad biológica. Una posibilidad un poco más cercana a la realidad de los sistemas biológicos es considerar que la mutación de determinadas posiciones de la secuencia hace que la especie sea incapaz de autorreplicarse, de forma que su factor de amplificación es $A_l = 0$, es decir existe un conjunto de mutaciones letales. Aunque el término no sea del todo correcto, por simplificar la nomenclatura se denominará a estas posiciones de la secuencia *posiciones letales*. En este esquema de letalidad, se supone que la longitud de la secuencia es ν y que existen l posiciones letales, de tal forma que la mutación de al menos una ellas hace que la especie pertenezca al fenotipo letal. A partir de este esquema se obtienen las siguientes probabilidades de obtener un fenotipo a partir de otro:

$$\begin{aligned}
Q_{mm} &= q^\nu \\
Q_{km} &= q^n(1 - q^{\nu-l}) \\
Q_{kk} &= q^l \\
Q_{lm} &= 1 - q^l \\
Q_{lk} &= 1 - q^l
\end{aligned} \tag{4.12}$$

Donde q es el factor de calidad por dígito. Introduciendo estos valores en el sistema 4.1 se obtiene el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias que representa en comportamiento del sistema.

$$\begin{aligned}
\frac{dx_m}{dt} &= (N - x_m - x_k - x_l) A_m q^\nu x_m - D x_m \\
\frac{dx_k}{dt} &= (N - x_m - x_k - x_l) \left(A_m q^l (1 - q^{\nu-l}) x_m + A_k q^l x_k \right) - D x_k \\
\frac{dx_l}{dt} &= (N - x_m - x_k - x_l) \left(A_m (1 - q^l) x_m + A_k (1 - q^l) x_k \right) - D x_l
\end{aligned} \tag{4.13}$$

La tabla 4.2 muestra los resultados obtenidos al hallar los estados estacionarios del sistema 4.13.

Al igual que en el caso en ausencia de letalidad y con letalidad uniformemente distribuida, el modelo presenta los tres mismos estados estacionarios: el equilibrio de selección-mutación, la distribución donde domina el fenotipo mutante y la extinción.

Tal y como se vio en el apartado anterior, las condiciones de estabilidad genética de los estados estacionarios I y II, que, en realidad, es la misma condición invertida, permite obtener el umbral de error del sistema. En este caso puesto que las condiciones son $A_m q^\nu > A_k q^l$, y $A_m q^\nu < A_k q^l$, el umbral de error que se obtiene es:

$$q_c = \left(\frac{A_k}{A_m} \right)^{\frac{1}{\nu-l}} \tag{4.14}$$

Que, al igual que en el caso en el que la letalidad está uniformemente distribuida, muestra que la letalidad disminuye el umbral de error, es decir, al aumentar la letalidad, la cuasiespecie puede tolerar tasas de mutación más altas antes de cruzar el umbral de error. La causa es la misma que en el apartado 4.2. En este esquema de letalidad, en el que se considera que existen l posiciones en la secuencia cuya mutación es letal, la letalidad sólo afecta al fenotipo mutante, lo que disminuye su robustez mutacional y, por consiguiente, su eficacia biológica efectiva. Esto se traduce en una mayor ventaja selectiva del fenotipo maestro sobre el mutante y, por tanto, en que el umbral de error se desplaza a tasas de mutación mayores. Al igual que en el apartado 3.1, es posible obtener un coeficiente de selección en presencia de letalidad:

$$s(q, n) = \frac{A_k q^l}{A_m q^\nu} - 1 \tag{4.15}$$

que se hace cero en el umbral de error, lo que indica que, a partir de ese valor de q , la selección natural actúa a favor del fenotipo mutante, tal y como se discutió en el apartado 2.1.

Como se comentó en la introducción, buena parte de la importancia de los conceptos de “entrada en catástrofe de error” y de “umbral de error” es que predecían una secuencia máxima permitida a

Estado Estacionario	Propiedades	
Estado estacionario I. Coexistencia. Equilibrio selección-mutación (Cuasiespecies)	Población	$x_m = \frac{(A_m - A_k q^{\nu-l})(A_m q^\nu N - D)}{A_m(A_m - A_k)}$ $x_k = \frac{(1 - q^{\nu-l})(D - A_m q^\nu N)}{A_m - A_k}$ $x_l = \frac{(1 - q^l)(D - A_m N q^\nu)}{A_m}$
	Fracción poblacional	$y_m = \frac{(A_m q^\nu - A_k q^l)}{(A_m - A_k)}$ $y_k = \frac{A_m (q^l - q^\nu)}{(A_m - A_k)}$ $y_l = 1 - q^l$
	Estabilidad	$A_m N q^\nu > D \quad A_m q^\nu > A_k q^l$
	Lastre mutacional	$L_A = 1 - q^\nu$
Estado estacionario II. (“Catástrofe de error”)	Población	$x_m = 0$ $x_k = Np - \frac{D}{A_k}$ $x_l = \frac{(A_k q^l N - D) \left(\frac{1}{q^l} - 1 \right)}{A_k}$
	Fracción poblacional	$y_m = 0 \quad y_k = q^l \quad y_l = 1 - q^l$
	Estabilidad	$A_k N q^l > D \quad A_k q^l > A_m q^\nu$
	Lastre mutacional	$L_A = 1 - \frac{A_k q^l}{A_m}$
Estado estacionario III. Extinción	Población	$x_m = 0 \quad x_k = 0 \quad x_l = 0$
	Estabilidad	$A_k q^l N < D \quad A_m q^\nu N < D$
	Lastre mutacional	$L_A = 1$

Tabla 4.2: Estados estacionarios del modelo logístico en presencia de l posiciones letales en la secuencia. Los valores se han obtenido hallando la solución de estado estacionario del sistema 4.13. La fila llamada “Estabilidad” muestra las condiciones necesarias para que dicho estado estacionario sea asintóticamente estable. Las condiciones se han hallado sustituyendo los valores del estado estacionario en el Jacobiano que se obtiene a partir del sistema 4.13.

cada tasa de mutación. De esta forma la idea de un “umbral de error” podría explicar, en principio, tanto el aumento progresivo de la longitud de los genomas a lo largo de la evolución como la correlación existente entre tamaño de genoma y tasa de mutación. La ecu. 4.14 permite una interpretación del efecto de la letalidad desde esta perspectiva. Básicamente, la expresión del umbral de error en presencia de l posiciones letales muestra que la población se comporta como si tuviese una longitud efectiva, ν_{ef}

$$\nu_{ef} = \nu - l \quad (4.16)$$

que se corresponde con el número de posiciones no letales en la secuencia. Es decir, el número de secuencias no letales en el espacio de secuencias es $2^{\nu_{ef}}$.

Para obtener el umbral de extinción de ambos estados estacionarios es necesario estudiar las condiciones de estabilidad demográfica de los estados estacionarios I y II. Así, para la distribución poblacional tipo cuasiespecie, el umbral de error que se obtiene es

$$q_{ex}^{SSI} = \left(\frac{D}{A_m N} \right)^{\frac{1}{\nu}} \quad (4.17)$$

que es el mismo que se obtenía tanto en ausencia de letalidad como en presencia de letalidad uniforme. El motivo es que ninguno de los dos esquemas de letalidad afecta a la productividad media definida por el estado estacionario I, puesto que la ausencia de *back-mutation* hace que aquella dependa exclusivamente del fenotipo maestro, que no se ve afectado por la letalidad.

Ahora bien, el resultado es diferente para el segundo estado estacionario. Tanto en el caso en el que no se considera letalidad como en el caso en el que la letalidad está distribuida de manera uniforme por el espacio de secuencias, la estabilidad demográfica del fenotipo mutante no depende de la tasa de mutación. En el primer caso depende de la relación entre A_k , D y N , y en el segundo de la relación entre A_k , D , N y, además, $1 - p$, la fracción de mutantes letales. Por tanto, en dichos casos no se puede obtener un umbral de extinción, para la tasa de mutación, en el estado estacionario II. Por el contrario, en este esquema de letalidad sí es posible obtener un umbral de extinción que, obviamente, depende del número de posiciones letales en la secuencia, l y que viene definido por:

$$q_{ex}^{SII} = \left(\frac{D}{A_k N} \right)^{\frac{1}{l}} \quad (4.18)$$

Como es lógico, el umbral de extinción aumenta al aumentar el número de posiciones en la secuencia cuya mutación es letal.

Al igual que en el caso estudiados anteriormente, parte de los cambios que va a sufrir la población al aumentar la tasa de mutación dependerán de la relación entre el umbral de error y el umbral de extinción definido por el estado estacionario I. Si el umbral de extinción definido por el estado estacionario I es mayor que el umbral de error, la población se extinguirá antes de que el fenotipo mutante se imponga al fenotipo maestro. Si, por el contrario, el umbral de error es superior al umbral de extinción, el fenotipo mutante se impondrá al fenotipo maestro, con la diferencia fundamental de que ahora el fenotipo mutante presenta a su vez un umbral de extinción que puede alcanzarse si se aumenta lo suficiente la tasa de mutación.

Al igual que en los casos anteriores, la condición $q_{ex}^{SSI} = q_c$ es lo que determina el comportamiento del sistema. Es fácil verificar que cuando

$$A_k q^l N < D \quad (4.19)$$

es decir, cuando el fenotipo mutante deja de ser viable demográficamente, se cumple que

$$q_{ex}^{SSI} = q_c \quad (4.20)$$

que es lo mismo que ocurría en los dos casos anteriores: en ausencia de letalidad o con una letalidad uniformemente distribuida. La figura 4.2 muestra un diagrama de fases en el que puede observarse el comportamiento del sistema. En él se representa cómo varían el umbral de error y los umbrales de extinción definidos por ambos estados estacionarios, con l , el número de “posiciones letales” en la secuencia. En el diagrama se observa que cuando se aumenta la tasa de mutación, el que la población entre en catástrofe de error o se extinga antes de cruzar el umbral de error depende de si l es mayor o menor que un determinado valor de l en el que las ambas curvas se cruzan. Por analogía con lo observado en el apartado 4.2, a este valor de l se le denominará *letalidad crítica*. Al igual que en el caso anterior, la letalidad crítica, l_c , es el valor de l por encima del cual no tiene lugar una catástrofe de error puesto que el fenotipo maestro se extingue antes de ésta tenga lugar. Es decir, cuando $l > l_c$ el umbral de error desaparece.

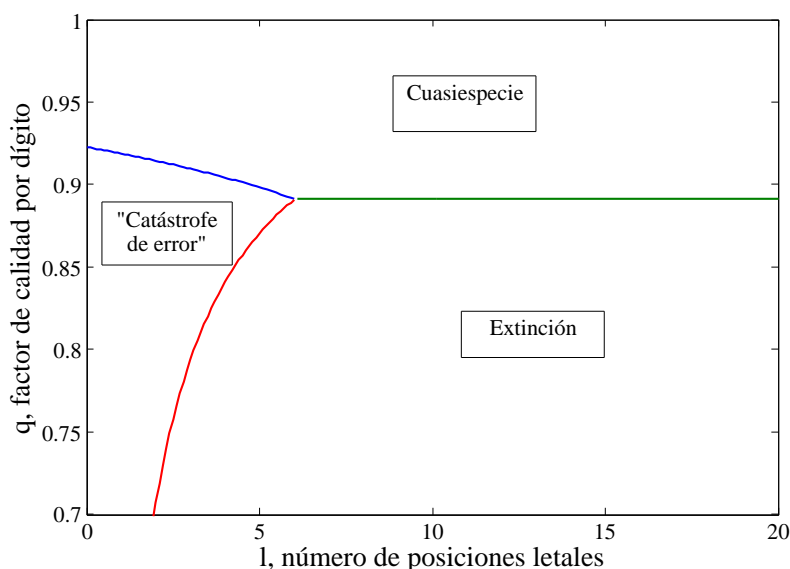


Figura 4.2: Diagrama de fases para el modelo de cuasiespecies en función del número de posiciones letales en la secuencia, l , y el factor de calidad por dígito, q . En la figura se observan los tres posibles estados estacionarios: la cuasiespecie, la extinción y la “catástrofe de error”. En este esquema de letalidad, a diferencia del que considera letalidad uniforme (ver Figura 4.1), la cuasiespecie puede extinguirse más allá del umbral de error. $A_m = 10$, $A_k = 2$, $D = 1$, $N = 1$. ($R_m = 10$, $R_k = 2$)

Más allá de la letalidad crítica, el umbral de extinción definido por el estado estacionario I es mayor que el umbral de error, por lo que su valor puede obtenerse igualando ambos valores. De esta forma se obtiene que:

$$l_\alpha = \nu \frac{\ln(A_k N/D)}{\ln(A_m N/D)} = \nu \frac{\ln(R_k N)}{\ln(R_m N)} \quad (4.21)$$

Puesto que en este esquema de letalidad l debe ser un valor entero, la letalidad crítica l_c es el entero más cercano superior a l_α . Como puede observarse en la ecu. 4.21, el valor de la letalidad crítica depende de la longitud de secuencia ν , y de la relación entre los logaritmos de las eficacias biológicas absolutas de los fenotipos mutante y maestro, cada una de ellas multiplicada por la concentración total, N , del sistema.

Como se ha mencionado anteriormente, existe una diferencia clave entre este caso y aquellos en los que se considera letalidad uniforme o que no hay letalidad. Más allá de la letalidad crítica, la población se extingue antes de entrar en catástrofe de error, pero para valores de l menores que l_c , la población puede primero cruzar el umbral de error y después cruzar el umbral de extinción definido para el estado estacionario II, ecu. 4.18. Es decir, a diferencia de los casos anteriores, ahora la extinción y la catástrofe de error no son sucesos mutuamente excluyentes. Eso sí, tal y como puede observarse en la figura 4.2, la imposición del fenotipo mutante sobre el fenotipo maestro que tiene lugar después del umbral de error hace que la extinción por acumulación de mutaciones tenga lugar a tasas de mutación mayores de las que tendría en caso de que la población no entrase en catástrofe de error.

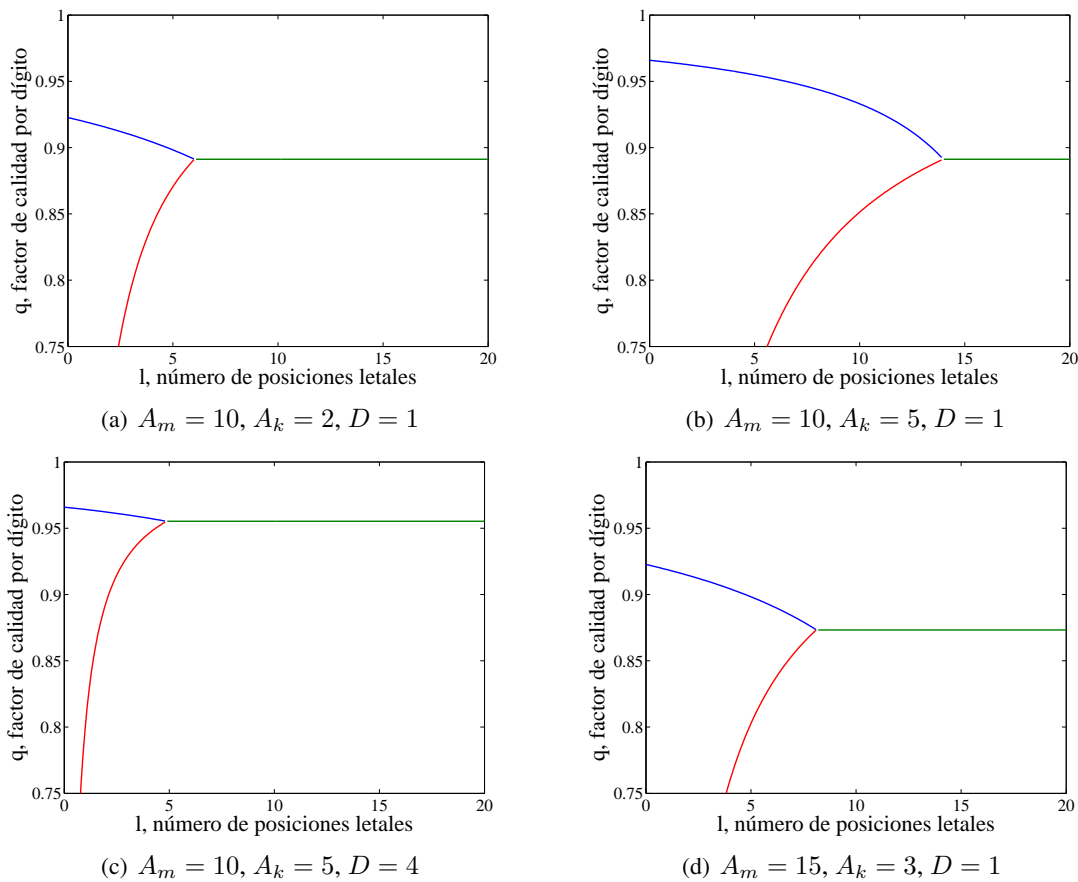


Figura 4.3: Diagramas de fase para diferentes paisajes tipo Single-peak en función del número de posiciones letales l , y el factor de calidad por dígito, q . La longitud de secuencia es $\nu = 20$. Tal y como puede verse en la figura, en todos los casos aparecen tres regímenes diferentes: la cuasiespecie, el umbral de error y la extinción (ver texto para una discusión detallada)

La figura 4.3 muestra varios diagramas de fases para diferentes valores de los factores de amplificación de los fenotipos maestro y mutante, A_m y A_k , y del factor de degradación, D . En los tres casos aparecen tres regímenes que se corresponden con los tres estados estacionarios obtenidos del sistema 4.13: la distribución en cuasiespecies, la “catástrofe de error” y la extinción. Las fronteras entre dichos regímenes son los umbrales de error (líneas azules) y de extinción (líneas rojas y verdes). Cuando se aumenta el factor de amplificación de la clase mutante de $A_k = 2$ (fig. 4.3a) a $A_k = 5$ (fig. 4.3b), el régimen en el que se impone el fenotipo maestro se expande a costa de los regímenes de cuasiespecies y de la extinción, aumentando la letalidad crítica. Sin embargo, más allá de la letalidad crítica el umbral de extinción no varía, ya que sólo depende de las propiedades del fenotipo maestro ($R_m = \frac{A_m}{D}$). Un aumento del factor de degradación desde $D = 1$ (fig. 4.3a y 4.3b) a $D = 4$ (fig.

4.3c) aumenta la extensión del régimen de extinción, aumentando el umbral de extinción para todo valor de l . Sin embargo, el umbral de error no varía ya que éste sólo depende de la superioridad, que, en este caso, es independiente del factor de degradación. Por último, un aumento del factor de ampliación de los fenotipos mutante y maestro que mantiene constante la superioridad (fig. 4.3a y 4.3d) no produce ningún cambio en el umbral de error, pero sí que disminuye la extensión del régimen de extinción.

4.4. Efectos de la letalidad en la distribución poblacional más allá del umbral de error

En las secciones anteriores se estudiaron dos esquemas de letalidad diferentes utilizando un modelo simplificado que permitía un análisis detallado de los estados estacionarios y de su estabilidad, pudiendo obtener expresiones explícitas de los umbrales de error y extinción en presencia de letalidad. En dicho modelo las secuencias se clasificaban en tres fenotipos: maestro, mutantes letales y mutantes no letales. Ahora bien, si lo que se quiere es estudiar los cambios que introduce la letalidad en el llamado régimen de catástrofe de error, este modelo es claramente insuficiente, siendo necesario aplicar otro tipo de clasificación. En esta sección se aplicará la clasificación en clases de Hamming o clases de error, ver sección 1. del apéndice A. Al utilizar esta clasificación, se deja de suponer que no existe *back-mutation*, lo que, como se mostrará, no tiene ningún efecto cualitativo.

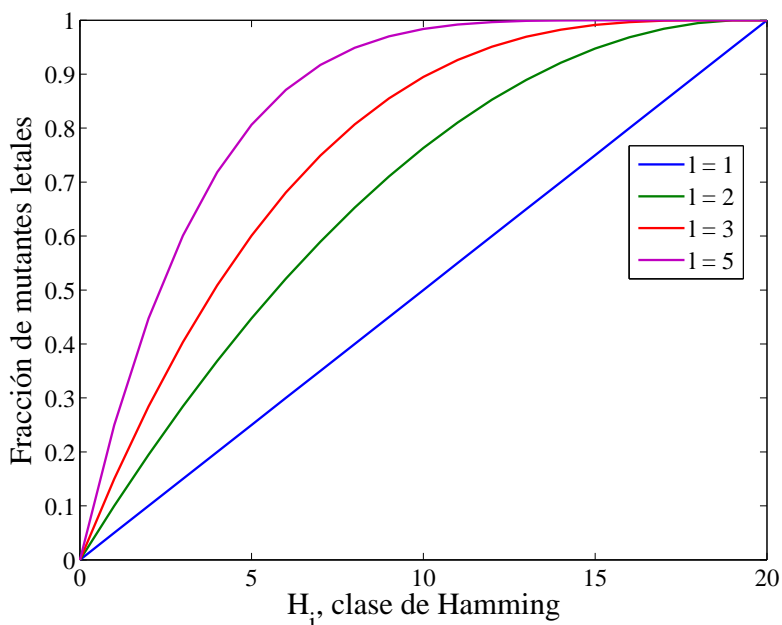


Figura 4.4: Variación de la fracción de mutantes letales con la clase de Hamming para diferentes valores de l . $\nu = 20$. La figura muestra cómo la fracción de mutantes letales es mayor cuanto mayor es la distancia de Hamming respecto a la secuencia maestra. Por supuesto, al aumentar l , la fracción de mutantes letales es mayor a cualquier clase de Hamming.

La Figura fig3-4 muestra cómo se distribuye la letalidad en función de las clases de Hamming. Puesto que en este esquema se considera letal a cualquier secuencia que tenga al menos una mutación en cualquiera de las l posiciones denominadas letales, la fracción de secuencias letales por clase de Hamming aumenta, tal y como se observa en la figura 3.4 para diferentes valores de l .

Al introducir la letalidad en este modelo que clasifica las secuencias por clases de Hamming, hay que dividir cada clase de error en dos subpoblaciones de mutantes letales y no letales. Puesto que

la secuencia maestra es siempre no letal y la secuencia complementaria a la maestra, aquella con ν mutaciones, es siempre letal, se obtienen 2ν I_k subpoblaciones mutantes, en las que el subíndice k hace referencia a las subpoblaciones no letales de la clase de Hamming H_k cuando $k \leq \nu$, y hace referencia a la subpoblación letal de la clase de Hamming $H_{k-(\nu+1)}$ cuando $k > \nu$.

Puesto que en este caso sólo se pretende estudiar los efectos de la letalidad en la catástrofe de error, es posible utilizar el modelo de cuasiespecies suponiendo población constante, de forma que se obtiene un sistema de $2\nu+2$ ecuaciones diferenciales ordinarias que se corresponden con la secuencia maestra, las 2ν subpoblaciones mutantes y la secuencia con ν mutaciones. La forma general de dicho sistema es la siguiente:

$$\frac{dx_i}{dt} = A_i Q_{ii} x_i - D x_i - \phi_0 x_i + \sum_{j \neq i} A_j Q_{ij} x_j \quad (4.22)$$

donde A_i son los factores de amplificación (que son cero para las subpoblaciones letales), D es el factor de degradación, que se supone es el mismo para todas las secuencias, ϕ_0 es el flujo de salida del reactor (ver apéndice A) y por último las Q_{ij} son las probabilidades de pasar de la subpoblación j a la subpoblación i . Para hallar las probabilidades de mutación de las secuencias no letales, es decir aquellas representadas por elementos Q_{ij} con $j \leq \nu + 1$, se ha partido de la expresión para Q_{ij} en ausencia de letalidad (Nowak y Schuster, 1989) teniendo en cuenta las siguientes condiciones:

1. La probabilidad de que la especie maestra se replique sin error es

$$Q_{0,0} = q^\nu \quad (4.23)$$

2. La probabilidad de pasar de una clase j a la subpoblación no letal de la clase i más la probabilidad de pasar de una clase j a la subpoblación letal de la clase i , es igual a la probabilidad de pasar de una clase j a una clase i en ausencia de letalidad.

$$Q_{k=i,j}(q, \nu) + Q_{k=i+\nu,j}(q, \nu) = Q_{i,j}(q, \nu) \quad (4.24)$$

3. Para pasar de una clase j a la subpoblación no letal de la clase i hay que copiar correctamente las l posiciones letales y luego introducir las mutaciones necesarias en las $\nu - l$ posiciones restantes. Es decir:

$$Q_{k=i,j}(q, \nu) = q^l Q_{k=i,j}(q, \nu - l) \quad (4.25)$$

4. De esto puede deducirse, sustituyendo 4.25 en 4.24 y despejando:

$$Q_{k=i+\nu,j}(q, \nu) = Q_{i,j}(q, \nu) - Q_{k=i,j}(q, \nu) = Q_{i,j}(q, \nu) - q^l Q_{i,j}(q, \nu - l) \quad (4.26)$$

De esta forma es posible obtener la matriz de mutaciones $[Q_{ij}]$ para cualquier número de posiciones letales, l , longitud de secuencia, ν , y factor de calidad q . Con esta matriz se puede integrar numéricamente el sistema 4.22 para obtener las soluciones en el estado estacionario. Para ello se utilizó un método Runge-Kutta proporcionado por el paquete de software matemático MATLAB®.

En lo referente al umbral de error, los resultados obtenidos numéricamente son idénticos a los predichos por las expresiones explícitas obtenidas a partir del modelo sencillo de la sección 4.3 lo que valida las aproximaciones en las que se basa: la agrupación de las secuencias en tres clases: maestra, letales y no letales, y la hipótesis de ausencia de *back-mutation*.

En ausencia de letalidad, más allá del umbral de error, la población se deslocaliza por todo fenotipo mutante, iniciando una deriva neutral por el mismo, ya que no existen diferencias de eficacia

biológica efectiva entre los individuos que lo componen. Como se dijo en la introducción, la aproximación determinista no es apropiada para estudiar el régimen de catástrofe de error. Esta aproximación predice que todas las secuencias están equipobladas, algo materialmente imposible. Sin embargo, es posible utilizar la aproximación determinista si se interpreta este resultado como la distribución, no de la población, sino de la probabilidad de que la población se encuentre en una determinada región del fenotipo mutante. De esta forma, se puede estudiar cómo afecta la letalidad a la deslocalización de la población en el fenotipo mutante.

Tal y como se hizo en el apartado 2.2, la forma más sencilla de estudiar los cambios en la distribución de población, entendida como distribución de probabilidad, es estudiando cómo afecta la letalidad a la distancia promedio de Hamming. La figura 4.5 muestra la variación de este parámetro con la tasa de mutación por dígito, para distinto número de posiciones letales en la secuencia, l . Por un lado puede observarse que el umbral de error disminuye al aumentar la letalidad, tal y como predice el modelo sencillo. Por otro lado, se observa una disminución del valor de la distancia media de Hamming en el umbral de error. Más allá del umbral de error, la distancia media de Hamming aumenta linealmente al aumentar la tasa de mutación. Como muestra la figura 4.4, la fracción de mutantes letales es mayor en las clases de Hamming más alejadas de la secuencia maestra. Esto se debe a que, más allá del umbral de error, la población se deslocaliza por el fenotipo mutante, ya que se encuentra mayoritariamente en las regiones más cercanas a la secuencia maestra, en las que la proporción de fenotipo letal, en este esquema de letalidad, es menor.

La figura 4.6 muestra que, en lo que respecta al umbral de error, el efecto de introducir l posiciones letales en la secuencia es equivalente a considerar que la población tiene una longitud de secuencia efectiva igual a $\nu_{ef} = \nu - l$, tal y como se vio en la sección 4.3.

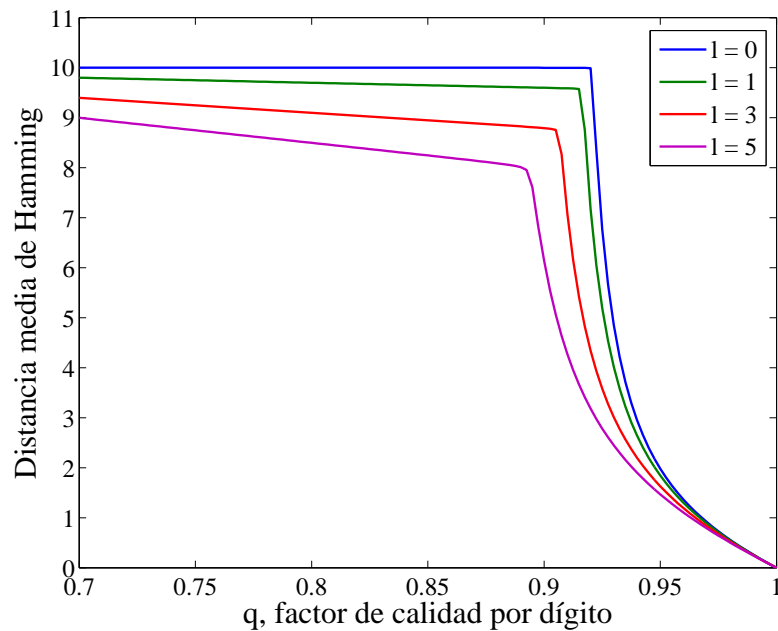


Figura 4.5: Variación de la distancia media de Hamming con el factor de calidad por dígito, q , para diferente número de posiciones letales en la secuencia, l . La figura muestra cómo disminuye el umbral de error al aumentar la letalidad y cómo, cuanto mayor es el número de posiciones letales en la secuencia, la entrada en catástrofe de error ocurre a distancia de Hamming menores. $A_m = 10$, $A_k = 2$, $\nu = 20$.

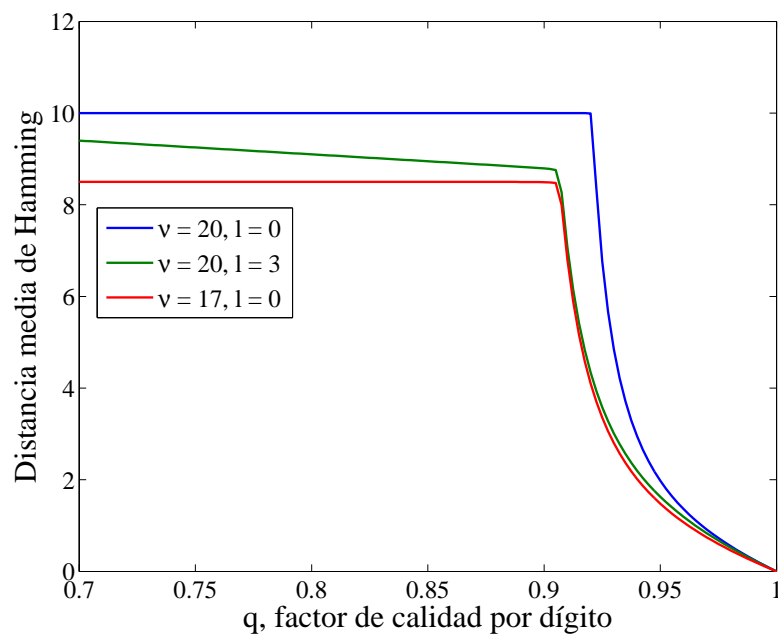


Figura 4.6: Variación de la distancia media de Hamming con el factor de calidad por dígito, q , para diferentes valores de longitud de secuencia, ν , y número de posiciones letales, l La variación de la distancia media de Hamming antes del umbral de error cuando $\nu = 20$ y $l = 3$ coincide prácticamente con la variación de la distancia media de Hamming antes del umbral de error para $\nu = 17$. $A_m = 10$, $A_k = 2$.

Capítulo 5

Cuasiespecies y juegos de bienes públicos

5.1. Modelo general

Las dinámicas de defección y cooperación requieren que las eficacias biológicas de los individuos sean dependientes de frecuencia (Nowak, 2006b). En el modelo clásico de cuasiespecies, la eficacia biológica de los individuos es constante e independiente de la composición de la población. Por este motivo, el modelo clásico de cuasiespecies no puede ser aplicado al estudio de las dinámicas de defección-cooperación. Para tener en cuenta las interacciones en *trans* en el seno del espectro de mutantes y, especialmente, las interacciones tipo defección-cooperación, se ha desarrollado una extensión del modelo de cuasiespecies en el que la capacidad replicativa de un individuo viene parcialmente determinada por el resultado de un juego de bienes públicos entre los miembros de la cuasiespecie.

El modelo supone que cada fenotipo i de la población codifica y expresa una determinada cantidad de recurso B_i , a partir del cual se forma un bien público. Cada individuo contribuye a la formación del bien público aportando una fracción $(1 - c_i)B_i$ del recurso, mientras que la fracción restante del recurso c_iB_i no se comparte y solo contribuye a la replicación del individuo i ¹. El factor c_i es, por tanto, el grado de interacción en *cis* del individuo i y, en consecuencia, $1 - c_i$ es su grado de interacción en *trans*. El bien público resultante se reparte equitativamente entre los individuos que forman la cuasiespecie, de manera que la capacidad replicativa de cada individuo de la cuasiespecie es proporcional a la parte del recurso que no comparte más la parte que le corresponde del bien público,

es decir a $c_iB_i + \frac{\sum_i (1 - c_i)B_i x_i}{\sum_i x_i}$ donde x_i es la concentración de cada fenotipo i en la población.

Como se ha visto en la introducción, en la Teoría de Juegos Evolutiva se suele considerar que la cooperación tiene un “coste” en términos de eficacia biológica. Conceptualmente, esto es lo mismo que suponer que la defección presenta una ventaja selectiva. A lo largo de este trabajo siempre se supondrá que los individuos defectores presentan una ventaja (o, como se verá, una desventaja) selectiva respecto a los individuos no defectores, ya que se considera que, al menos en el campo de la virología, biológicamente tiene más sentido hablar de una ventaja o desventaja selectiva de aquellos individuos que aportan menos recursos para completar el ciclo infeccioso, que hablar de un coste de aquellos individuos viables o “cooperadores”. Considerar que la defección tiene una desventaja selectiva puede parecer sorprendente desde el punto de vista de la TJE, sin embargo biológicamente es perfectamente plausible. La cuestión es que si la defección está asociada a una desventaja selectiva nunca podrá ser

¹En los juegos de bienes públicos lo habitual es suponer que los individuos ponen una cierta cantidad de un recurso en un *pool* común que luego se multiplica por un factor r . En este caso, se considera que el recurso que aporta cada individuo ya viene multiplicado por dicho factor r .

evolutivamente estable y dichos individuos simplemente son desplazados por los cooperadores, no dando lugar a ningún tipo de dilema social. Sin embargo, en presencia de mutaciones recurrentes, los defectores, aún con desventajas selectivas, pueden estar presentes en el sistema. En cualquier caso, esta ventaja o desventaja selectiva actúa exclusivamente en *cis*.

En general, existen dos maneras de considerar esta ventaja: aditiva o multiplicativamente (Cavalli-Sforza y Feldman, 1978; Smith, 1980; Michod, 1982). El modelo aditivo, sin duda el más utilizado por su mayor simplicidad, supone que el coste de cooperación o, en este caso, la ventaja de la defección, β_i , son términos que se suman al “beneficio” que genera el acceso al recurso B_i , tanto al compartido como al no compartido. De esta forma, el factor de amplificación de la especie i resultaría:

$$A_i = c_i B_i + \frac{\sum_i (1 - c_i) B_i x_i}{\sum_i x_i} + \beta_i \quad (5.1)$$

Por el contrario, el modelo multiplicativo considera que la ventaja es un término α_i que multiplica a la contribución del recurso B_i a la eficacia replicativa. Así, la capacidad replicativa de cada individuo viene determinada por el producto de ambos términos según:

$$A_i = \alpha_i \left[c_i B_i + \frac{\sum_i (1 - c_i) B_i x_i}{\sum_i x_i} \right] \quad (5.2)$$

La primera aproximación que se va a suponer a lo largo de todo este trabajo es que todos los individuos tienen el mismo c . A pesar de que el grado de interacciones en *trans* es un parámetro que puede estar sujeto a variabilidad y evolucionar, se considerará que las diferencias en dicho factor de interacción en *cis* son relativamente pequeñas. Por otro lado, en la escala temporal que considera este trabajo, también parece coherente suponer que dicho parámetro no está sujeto a evolución². De esta forma, las expresiones 5.1 y 5.2 resultan ser, respectivamente:

$$A_i = c B_i + (1 - c) \bar{B} + \beta_i \quad (5.3)$$

y

$$A_i = \alpha_i [c B_i + (1 - c) \bar{B}] \quad (5.4)$$

Donde $\bar{B} = \frac{\sum_i B_i x_i}{\sum_i x_i}$ es el promedio de la cantidad de recurso total de la población. De esta

forma se considera que la eficacia replicativa depende tanto del recurso que se comparte B_i como de la ventaja o desventaja selectiva, sea esta multiplicativa o aditiva, por lo que el modelo considera dos caracteres cuyo valor viene determinado por dos paisajes fenotípicos³ distintos. El paisaje de eficacias biológicas será por tanto una combinación de ambos paisajes fenotípicos.

De esta forma, suponiendo que la replicación de las especies tiene lugar en un reactor de flujo como el considerado en el apéndice A, el sistema de ecuaciones diferenciales (EDO) que determina el comportamiento del modelo general es:

²Aun así, es posible estudiar el modelo en el caso del paisaje de eficacias biológicas tipo Single-peak, con $c_m \neq c_k$, aunque dicho estudio no ha sido presentado en esta Tesis.

³Por analogía con el término paisaje de eficacias biológicas, se denominará paisaje fenotípico a la función que relaciona cada secuencia de uno o más *loci* con el fenotipo que codifica.

$$\frac{dx_i}{dt} = \mu_a \sum_{j \neq i} \alpha_j [cB_j + (1-c)\bar{B}] Q_{ij}x_j - D_i x_i - \phi_0 x_i \quad (5.5)$$

en el caso multiplicativo y

$$\frac{dx_i}{dt} = \mu_a \sum_{j \neq i} [cB_j + (1-c)\bar{B} + \beta_i] Q_{ij}x_j - D_i x_i - \phi_0 x_i \quad (5.6)$$

en el caso aditivo. En ambos casos, los valores del flujo de salida del reactor ϕ_0 y de la concentración de monómero μ_a dependerán de la restricción al crecimiento que se imponga al modelo (población constante, restricción logística, etc.).

Cuando $c = 1$ las ecuaciones 5.5 y 5.6 se convierten en variantes del modelo clásico de cuasiespecies con $A_i = \alpha_i B_i$ o $A_i = B_i + \beta_i$, respectivamente. Por otro lado, cuando $c = 0$, los factores de amplificación de los modelos multiplicativo o aditivo son $A_i = \alpha_i \bar{B}$ y $A_i = \bar{B} + \beta_i$, respectivamente, por lo que la dinámica selectiva del sistema sólo depende de α_i o β_i .

5.2. Paisaje de eficacias biológicas tipo *Single-Peak*

Aunque el modelo considere que la replicación de un individuo depende de su acceso al recurso B_i , tanto en *cis* como en *trans*, como de su ventaja selectiva, por simplicidad se ha considerado el caso en el que ambos caracteres vienen determinados por un mismo *locus* y, por tanto, se puede trabajar sólo con dos fenotipos. De esta forma es posible aplicar un paisaje tipo *Single-Peak*. Por tanto, se considerarán dos fenotipos, uno maestro y otro mutante, cuyas contribuciones al bien público son, respectivamente, B_m y B_k , con $B_m > B_k$. El modelo va a depender del tipo de ventaja selectiva en *cis* que se utilice.

En primer lugar se tendrá se considerará el modelo multiplicativo. En este caso, asociadas a las contribuciones B_m y B_k están las ventajas o desventajas selectivas α_m y α_k ⁴. Como es habitual, se supone que no hay *back-mutation* del fenotipo mutante al maestro, y que ambos tienen el mismo factor de degradación, D , de forma que el sistema EDO resultante es:

$$\begin{aligned} \frac{dx_m}{dt} &= \mu_a \alpha_m [cB_m + (1-c)\bar{B}] Q_m x_m - D x_m - \phi_0 x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= \mu_a \alpha_m [cB_m + (1-c)\bar{B}] (1-Q_m) x_m + \mu_a \alpha_k [cB_k + (1-c)\bar{B}] x_k \\ &\quad - D x_k - \phi_0 x_k \end{aligned} \quad (5.7)$$

Donde el valor medio del recurso \bar{B} viene determinado por $\bar{B} = \frac{B_m x_m + B_k x_k}{x_m + x_k}$.

Si se divide α_m y α_k por el valor para el fenotipo maestro α_m obtenemos:

$$\begin{aligned} \frac{dx_m}{dt} &= \mu_a [cB_m + (1-c)\bar{B}] Q_m x_m - D x_m - \phi_0 x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= \mu_a [cB_m + (1-c)\bar{B}] (1-Q_m) x_m + \mu_a (1+v) [cB_k + (1-c)\bar{B}] x_k \\ &\quad - D x_k - \phi_0 x_k \end{aligned} \quad (5.8)$$

⁴Por supuesto, este modelo, y también el que supone una ventaja aditiva, puede ser extendido al caso en el que cada carácter viene codificado por un *locus* diferente, de forma que se trabajaría con cuatro posibles fenotipos

Donde $v = \frac{\alpha_k}{\alpha_m} - 1$ adquiere la forma de un coeficiente de selección y por tanto puede considerarse como, o bien una ventaja selectiva en *cis*, cuando $v > 0$, o bien como una desventaja selectiva en *cis*, cuando $v < 0$, del fenotipo mutante sobre el fenotipo maestro. El caso más sencillo posible es considerar que $v = 0$. En este caso, el fenotipo mutante no tendría una ventaja o desventaja en *cis* sobre el fenotipo maestro por lo que la capacidad replicativa de cada fenotipo vendría determinada exclusivamente por su acceso, en *cis* y en *trans*, al recurso B_i .

En el caso que se suponga una ventaja o desventaja de tipo aditivo, a las contribuciones B_m y B_k están asociadas las ventajas o desventajas selectivas β_m y β_k . El sistema de EDO viene determinado en este caso por:

$$\begin{aligned}\frac{dx_m}{dt} &= \mu_a [cB_m + (1-c)\bar{B} + \beta_m] Q_m x_m - Dx_m - \phi_0 x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= \mu_a [cB_m + (1-c)\bar{B} + \beta_m] (1 - Q_m) x_m + \mu_a [cB_k + (1-c)\bar{B} + \beta_k] x_k \\ &\quad - Dx_k - \phi_0 x_k\end{aligned}\quad (5.9)$$

En este caso, en vez de considerar la ventaja como un coeficiente de selección v , se considerará que la ventaja o desventaja selectiva aditiva es $w = \beta_k - \beta_m$, de forma que el sistema de EDO resultante sería:

$$\begin{aligned}\frac{dx_m}{dt} &= \mu_a [cB_m + (1-c)\bar{B}] Q_m x_m - Dx_m - \phi_0 x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= \mu_a [cB_m + (1-c)\bar{B}] (1 - Q_m) x_m + \mu_a [cB_k + (1-c)\bar{B} + w] x_k \\ &\quad - Dx_k - \phi_0 x_k\end{aligned}\quad (5.10)$$

Donde un $w > 0$ implica una ventaja selectiva en *cis* del fenotipo mutante sobre el maestro y, al contrario, un $w < 0$ implica una desventaja selectiva. En este caso hay que tener cuidado puesto que, si $w < 0$, si el valor absoluto de w es suficientemente grande, el término $A_k = cB_k + (1-c)\bar{B} + w$, podría resultar negativo, lo que carecería de sentido biológico. Para asegurar que esta situación no tiene lugar, en las integraciones numéricas de dicho modelo, cuando el valor resultante de A_k ha sido menor que cero, éste se ha igualado automáticamente a cero.

En los próximos capítulos se estudiarán ambos modelos utilizando los dos tipos de restricciones utilizadas en capítulos anteriores durante el estudio del modelo clásico de cuasiespecies: población constante y población variable con una restricción al crecimiento de tipo logística.

5.3. Interpretación molecular

5.3.1. Cantidad de recurso común constante

Para terminar, es interesante estudiar la interpretación molecular del modelo cuando se tiene en cuenta población variable. En primer lugar, es posible suponer un modelo en el que los genomas (con concentración x_i) se traducen con una tasa k_t , por simplicidad igual para ambos genomas, para dar lugar a enzimas con actividad replicasa (con concentración e_i). Si, por simplicidad, se supone que la tasa de mutación es cero, se obtiene.

$$\begin{aligned}
\frac{dx_m}{dt} &= (N - x_m - x_k) (k_{mm}e_m + k_{mk}e_k) x_m - Dx_m \\
\frac{dx_k}{dt} &= (N - x_m - x_k) (k_{km}e_m + k_{kk}e_k) x_k - Dx_k \\
\frac{de_m}{dt} &= k_t x_m - de_m - \phi_0 e_m \\
\frac{de_k}{dt} &= k_t x_k - de_k - \phi_0 e_k
\end{aligned} \tag{5.11}$$

donde d es la tasa de degradación de las enzimas y k_{ij} es la constante de replicación de la enzima j actuando sobre el genoma i . Si no se impusiera ninguna restricción al crecimiento de la concentración de las proteínas ($\phi_0 = 0$), y se aplicase la suposición de estadio cuasiestacionario a la concentración de las mismas (suponiendo que la escala temporal de la producción y degradación de proteínas es más rápida que la de los genomas) se obtendría una cinética tipo hiperciclo que es formalmente equivalente a la ecuación del replicador utilizada en TJE:

$$\begin{aligned}
\frac{dx_m}{dt} &= (N - x_m - x_k) \left(k_{mm} \frac{k_t}{d} x_m + k_{mk} \frac{k_t}{d} x_k \right) x_m - Dx_m \\
\frac{dx_k}{dt} &= (N - x_m - x_k) \left(k_{km} \frac{k_t}{d} x_m + k_{kk} \frac{k_t}{d} x_k \right) x_k - Dx_k \\
e_m &= \frac{k_t x_m}{d} \\
e_k &= \frac{k_t x_k}{d}
\end{aligned} \tag{5.12}$$

Sin embargo, también es posible suponer que la concentración de proteína total es constante $e_k + e_m = N_e$. En ese caso, el sistema 5.11 puede expresarse como:

$$\begin{aligned}
\frac{dx_m}{dt} &= (N - x_m - x_k) (k_{mm}e_m + k_{mk}e_k) x_m - Dx_m \\
\frac{dx_k}{dt} &= (N - x_m - x_k) (k_{km}e_m + k_{kk}e_k) x_k - Dx_k \\
\frac{de_m}{dt} &= k_t x_m - de_m - \left(\frac{k_t (x_m + x_k)}{e_m + e_k} - d \right) e_m \\
\frac{de_k}{dt} &= k_t x_k - de_k - \left(\frac{k_t (x_m + x_k)}{e_m + e_k} - d \right) e_k
\end{aligned} \tag{5.13}$$

De donde es posible obtener que $e_m = N_e \frac{x_m}{x_m + x_k} = N_e y_m$ y $e_k = N_e \frac{x_k}{x_m + x_k} = N_e y_k$. Es decir, que la concentración de cada proteína es directamente proporcional a la fracción molar de cada fenotipo $y_i = \frac{x_i}{x_m + x_k}$. Teniendo esto en cuenta, el sistema de EDO 5.13 puede resumirse en:

$$\begin{aligned}
\frac{dx_m}{dt} &= (N - x_m - x_k) (k_{mm}N_e y_m + k_{mk}N_e y_k) x_m - Dx_m \\
\frac{dx_k}{dt} &= (N - x_m - x_k) (k_{km}N_e y_m + k_{kk}N_e y_k) x_k - Dx_k
\end{aligned} \tag{5.14}$$

El sistema 5.14 es formalmente equivalente al modelo de cuasiespecies y juegos públicos 5.8 en el caso $c = 0$ y en ausencia de mutación ($Q_m = 1$), cuando la población es variable:

$$\begin{aligned}\frac{dx_m}{dt} &= (N - x_m - x_k) [B_m y_m + B_k y_k] x_m - D x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= (N - x_m - x_k) ([B_m y_m + B_k y_k] (1 + v) x_k) - D x_k\end{aligned}\tag{5.15}$$

Es decir, las contribuciones B_m y B_k al recurso común pueden considerarse como el producto de la capacidad replicativa asociada al recurso común multiplicada por la concentración total, constante, de dicho recurso. Por supuesto, considerar que la concentración de enzimas es constante es tan poco realista como considerar que la escala temporal de la producción de enzimas es mucho más rápida que la replicación de los genomas. Aun así, una concentración de enzima constante podría considerarse una aproximación al caso en el que la escala temporal de la producción de proteínas es mucho más lenta que la replicación de los genomas. La idea detrás de esta suposición es que la infección viral llega a una fase en la que la concentración de enzima viral está saturada, así que lo único que cambia es la fracción molar de cada enzima, pero no su concentración total. Por supuesto, parece que lo más adecuado sería considerar que la producción de enzimas virales y la replicación de los genomas virales tienen una escala temporal parecida, lo que, obviamente, hace que los modelos sean mucho más complicados.

5.3.2. Interacciones en *cis*

El modelo de cuasiespecies que interactúan en *trans* a través de un juego de bienes públicos mantiene la cinética exponencial porque no considera una interacción directa entre los diferentes individuos que componen la misma, sino que considera que la capacidad autorreplicativa de las cuasiespecies depende del bien público, al cual todas las especies pueden acceder igualmente y cuya concentración es constante, independiente de la concentración de los genomas. Es posible suponer que dicho recurso se reparte en el sistema como si formase un “campo medio”, del que depende el factor de amplificación de los individuos. De esta forma, el factor c , que determina el grado de interacciones *cis-trans* de los individuos en el espectro de mutantes, puede ser entendido como la tendencia a interactuar con el recurso que produce el propio individuo frente al “campo medio” que experimenta. En este sentido puede ser considerado como una primera aproximación a la presencia de una estructura y/o difusión espacial en el sistema, de forma que los individuos tienen una cierta tendencia, c , a interactuar con el recurso que ellos mismos han producido antes que con el bien público producido colectivamente. Algunos modelos que consideran dinámicas de cooperación-defección en la producción de enzimas extracelulares por organismos unicelulares han utilizado una aproximación parecida para tener en cuenta el fenómeno de la difusión (Schuster et al., 2010), que da lugar a lo que en dicho artículo se denomina “*privileged share*”, es decir, el hecho de que, en cuanto se considera una cierta estructura espacial o una limitación en la difusión, los individuos cooperadores generalmente presentan una ventaja en el acceso al beneficio que ellos mismos producen. Otra forma de entender el significado de c es como una probabilidad de asociación preferencial entre los individuos que tengan el mismo fenotipo. Es decir, como si los individuos de cada fenotipo tuviesen una mayor tendencia a interactuar con individuos de su mismo fenotipo (Foster, 2004). Como se vio en la introducción, este es uno de los mecanismos por los cuales se favorece la cooperación frente a la defección.

5.3.3. Ventaja selectiva: modelos aditivo y multiplicativo

La consideración de un modelo aditivo o multiplicativo implica considerar dos relaciones completamente diferentes entre las capacidades replicativas en *cis* y en *trans*. En el caso aditivo, se estaría considerando dos componentes a la capacidad replicativa que actúan de forma completamente independientemente (aunque puedan estar correlacionadas). Una de esas componentes actúa exclusivamente en *cis*, la que depende de w , y la otra actuar tanto en *cis* como en *trans*, la que depende

de B_i . Al actuar de forma independiente, la ausencia de una componente no afecta a la acción de la otra componente. Si $c = 1$ y $B_k = 0$, el individuo puede replicarse (sin tener acceso al bien público) siempre que su $w > 0$. Sin embargo, en el caso multiplicativo, la eficacia biológica resulta de la interacción entre ambos componentes, en *cis* o en *cis-trans*, de forma que, en ausencia acceso al bien público, el individuo no podría replicarse independientemente del valor de v .

A nivel molecular, un modelo aditivo supondría que el individuo presenta dos mecanismos de replicación independientes, uno en *cis*, y otro en *cis-trans*. Por ejemplo, una proteína que no se “comparte” y otra que sí lo hace. A nivel multiplicativo, sin embargo, se estaría considerando un único mecanismo de replicación, y las diferentes contribuciones en *cis* y en *cis-trans* podrían suponer el efecto de dos proteínas necesarias para la replicación, que al igual que en el caso aditivo, una que se comparte y otra que no, pero que actúan en serie, siendo ambas necesarias para la replicación. También podría representar una situación en la que el bien público que actúa tanto en *cis* como en *trans* representa una enzima replicasa, y la componente de la replicación que sólo actúa en *cis*, v , representaría la afinidad de un determinado genoma por dicho recurso. Desde este punto de vista, parece que, al menos en el caso de los virus RNA o de especies autorreplicativas de tipo prebiótico, el modelo multiplicativo se ajusta mucho más a lo que se espera encontrar a nivel molecular.

5.4. Resumen de Investigación

En los siguientes 4 capítulos se estudiará el modelo de cuasiespecies que interaccionan a través de un juego de bienes públicos en diferentes escenarios. En primer lugar, en el capítulo 6 se estudiará el comportamiento evolutivo del sistema en condiciones de población constante. Aunque en este caso no puede tener lugar la extinción, el sistema es más sencillo y puede estudiarse fácilmente la dinámica de la población en presencia de mutación y selección. A lo largo de este capítulo se estudiará el modelo en ausencia de una ventaja o desventaja selectiva en *cis* ($v = 0$, sección 6.2), o bien en presencia de una ventaja selectiva de tipo aditivo (sección 6.3) o multiplicativo (sección 6.4). En los tres casos el sistema se estudiará primero en ausencia de mutación, para ver el efecto de la selección natural en el comportamiento de la población en el estado estacionario. Posteriormente, para las tres condiciones se estudiará el sistema en presencia de mutación. En este caso, el estudio se centrará en el umbral de error y el efecto de la tasa de mutación sobre la eficacia biológica media de la población, para lo cual se utilizará el lastre mutacional (ver apéndice A).

Mientras que en el capítulo 6 se considera que todos los individuos interaccionan con todos, en el capítulo 7 se estudiará el efecto que tiene en el modelo considerar que la interacción entre los diferentes individuos de la población tiene lugar en grupos de tamaño fijo n .

En el capítulo 8 se estudiará el sistema en condiciones de población variable con objeto de estudiar la dinámica demográfica del mismo y, en concreto, de hallar el umbral de extinción del mismo. Posteriormente, en el capítulo 9 se estudiará el efecto de considerar que la secuencia presenta una determinada cantidad, l , de “posiciones letales”, tal y como se hizo en el capítulo 4. Finalmente, en los capítulos 10, 11 y 12 se estudiará el efecto del *feedback* eco-evolutivo, es decir considerando cómo afectan los cambios demográficos en el proceso de extinción debida a mutación letal. Para ello, en el capítulo 10 se supondrá que el factor de interacción en *cis*, c , depende del tamaño poblacional. En el capítulo 11 se supondrá que, con un factor de interacción en *cis* constante, los individuos interaccionan en grupos cuyo tamaño depende del tamaño poblacional. Finalmente, en el capítulo 12 se estudiará un modelo anidado que acopla una dinámica de formación de grupos de tamaño variable similar a la del capítulo 11, que representa una dinámica “extracelular”, con un modelo de cuasiespecies y juegos de bienes públicos con población variable que representa una dinámica “intracelular”.

Capítulo 6

Dinámica evolutiva del modelo de cuasiespecies y juegos de bienes públicos en condiciones de población constante

6.1. Modelo general en condiciones de población constante

Debido a su mayor sencillez, la suposición de que la población se replica en condiciones de población constante es, sin duda, la restricción al crecimiento poblacional más utilizada en los modelos de cuasiespecies desde el trabajo original de Eigen (1971). Esta suposición descarta completamente la dinámica demográfica de la población, por lo que no puede utilizarse para estudiar fenómenos como la extinción (Wilke, 2005). Sin embargo, sí que permite estudiar los cambios evolutivos de la población, por lo que resulta muy útil como primera aproximación. Aplicar la restricción de población constante implica suponer que $\sum_i x_i = N$, que, en el caso concreto del paisaje tipo *Single-Peak*, se reduce a $x_m + x_k = N$. Siguiendo lo visto en el apéndice A, el sistema de EDO que determina el comportamiento del sistema viene definido por:

$$\begin{aligned}\frac{dx_m}{dt} &= A_m(x_m, x_k, c, v)Q_m x_m - D x_m - \bar{E} x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= A_m(x_m, x_k, c, v)(1 - Q_m)x_m + A_k(x_m, x_k, c, v)x_k - D x_k - \bar{E} x_k\end{aligned}\tag{6.1}$$

con

$$\bar{E} = \frac{A_m(x_m, x_k)x_m + A_k(x_m, x_k)x_k}{x_m + x_k} - D\tag{6.2}$$

Donde el valor de $A_m(x_m, x_k, c, v)$ y $A_k(x_m, x_k, c, v)$ va a depender de cómo se supone que actúa, si es que actúa, la ventaja selectiva en *cis*. En este capítulo se estudiará, en primer lugar, el caso en el que el fenotipo mutante no presenta una ventaja o desventaja selectiva en *cis*, ni aditiva ni multiplicativa, ($v = 0$, $w = 0$). Posteriormente se estudiará el caso en el que se supone una ventaja de tipo aditivo, w , y, finalmente, una ventaja de tipo multiplicativo, v .

6.2. El fenotipo mutante no tiene una ventaja o desventaja selectiva,

$$v = 0, w = 0$$

En primer lugar se considerará el caso más sencillo, suponiendo que los fenotipos sólo se distinguen en la diferente contribución, B_i , que hace cada uno de ellos al bien público. Esto significa suponer que el fenotipo mutante no tiene ninguna ventaja o desventaja selectiva en *cis* sobre el fenotipo maestro, es decir, que $v = 0$ y $w = 0$. En este caso, los factores de amplificación de los fenotipos maestro y mutante vienen definidos por:

$$A_m = cB_m + (1 - c) \frac{B_m x_x + B_k x_k}{x_m + x_k} = cB_m + (1 - c) \frac{B_m x_x + B_k (N - x_m)}{N} \quad (6.3)$$

$$A_k = cB_k + (1 - c) \frac{B_m x_x + B_k x_k}{x_m + x_k} = cB_k + (1 - c) \frac{B_m x_x + B_k (N - x_m)}{N} \quad (6.4)$$

Puesto que la población es constante, el sistema de EDO que determina la dinámica viene definido por:

$$\begin{aligned} \frac{dx_m}{dt} &= [cB_m + (1 - c)\bar{B}] Q_m x_m - D x_m - \bar{E} x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= [cB_m + (1 - c)\bar{B}] (1 - Q_m) x_m + [cB_k + (1 - c)\bar{B}] x_k - D x_k - \bar{E} x_k \end{aligned} \quad (6.5)$$

Donde la productividad media del sistema, \bar{E} , es igual a

$$\bar{E} = \frac{B_m x_m + B_k x_k}{x_m + x_k} - D = B_k + \frac{(B_m - B_k)}{N} x_m - D \quad (6.6)$$

El sistema 6.5 puede reducirse a una única ecuación diferencial teniendo en cuenta que $x_k = N - x_m$:

$$\frac{dx_m}{dt} = \left[cB_m + (1 - c) \left(B_k + \frac{(B_m - B_k)}{N} x_m \right) \right] Q_m x_m - D x_m - \bar{E} x_m \quad (6.7)$$

Donde \bar{B} se ha sustituido por su valor en condiciones de población constante. Puesto que \bar{E} viene determinada por la ecuación 6.6, el sistema 6.7 puede reducirse a:

$$\frac{dx_m}{dt} = \left[cB_m + (1 - c) \left(B_k + \frac{(B_m - B_k)}{N} x_m \right) \right] Q_m x_m - \left(B_k + \frac{(B_m - B_k)}{N} x_m \right) x_m \quad (6.8)$$

6.2.1. Dinámica evolutiva en ausencia de mutación, $Q_m = 1$

En ausencia de mutación, $Q_m = 1$, es decir, si sólo actúa la selección natural, la ecuación 6.8 se reduce a:

$$\frac{dx_m}{dt} = c(B_m - B_k) x_m (1 - x_m) \quad (6.9)$$

En principio, en este escenario no tendría sentido hablar, por tanto, de fenotipo mutante. Sin embargo a lo largo de la Tesis se mantendrá esta nomenclatura incluso en ausencia de mutación por

varios motivos. En primer lugar, por claridad y para mantener la coherencia a lo largo de toda la Tesis. En segundo lugar, porque el caso de ausencia de mutación puede representar una aproximación a una situación en la que la tasa de mutación es baja y, por tanto, el fenotipo mutante no es producido continuamente a partir del fenotipo maestro, sino sólo puntualmente. Entre dos eventos en los que tiene lugar una mutación improbable que da lugar a un individuo del fenotipo mutante, puede considerarse que la tasa de mutación en el sistema es nula. Por último, es necesario remarcar que el estudio de los sistemas sin mutación, aunque en ciertos casos puede ser interesante por sí mismo, se lleva a cabo en este trabajo como una primera aproximación al estudio de los equilibrios de selección-mutación.

En la tabla 6.1. se muestran los estados estacionarios obtenidos al resolver esta ecuación:

Estado Estacionario	Propiedades	
Estado estacionario I. Sólo fenotipo maestro	Población	$x_m = N$ $x_k = 0$
	Estabilidad	$B_m > B_k$
Estado estacionario II. Sólo fenotipo “mutante”	Población	$x_m = 0$ $x_k = N$
	Estabilidad	$B_m < B_k$

Tabla 6.1: Resumen de resultados del modelo de cuasiespecies que interactúan en *trans* bajo la restricción de población constante. Los valores se han obtenido hallando la solución de estado estacionario del sistema 6.9. La fila llamada “Estabilidad” muestra las condiciones necesarias para que dicho estado estacionario sea asintóticamente estable. Las condiciones se han hallado sustituyendo los valores del estado estacionario en el Jacobiano que se obtiene a partir del sistema 6.9

Como se observa en la tabla 6.1, el comportamiento de dicho sistema es trivial, imponiéndose el fenotipo que tenga una mayor eficacia biológica relativa, que en este caso viene definida exclusivamente por B_i . Puesto que $B_m > B_k$, el estado estacionario I siempre es estable y el estado estacionario II siempre es inestable.

6.2.2. Dinámica evolutiva en presencia de mutación, $Q_m < 1$

Cuando se considera mutación, el comportamiento del sistema viene determinado por la ecuación 6.8. Los estados estacionarios de esta ecuación se presentan resumidos en la tabla 6.2.

Como muestra la tabla 6.2, el sistema presenta dos estados estacionarios. El primero se corresponde con una situación de coexistencia, en la que la población se encuentra en el equilibrio de mutación-selección que caracteriza a las cuasiespecies. El segundo estado estacionario está compuesto exclusivamente por el fenotipo mutante y se corresponde con la llamada catástrofe de error, que ya se estudió en los capítulos 3 y 4. Como se mostró en el apéndice A, los estados estacionarios I y II tienen la misma condición de estabilidad pero de signo inverso, obteniéndose una bifurcación transcítica cuando:

$$B_m Q_m c = B_k (1 - Q_m + Q_m c) \quad (6.10)$$

Estado Estacionario	Propiedades	
Estado estacionario I. Coexistencia. Equilibrio selección-mutación (Cuasiespecies)	Población	$x_m = \frac{N(B_m Q_m c - B_k(1 - Q_m + Q_m c))}{(B_m - B_k)(1 - Q_m + Q_m c)}$ $x_k = \frac{N B_m(1 - Q_m)}{(B_m - B_k)(1 - Q_m + Q_m c)}$
	Estabilidad	$B_m Q_m c > B_k(1 - Q_m + Q_m c)$
	Lastre mutacional	$L_A = \frac{1 - Q_m}{1 - Q_m + Q_m c}$
Estado estacionario II. ("Catástrofe de error")	Población	$x_m = 0$ $x_k = N$
	Estabilidad	$B_m Q_m c < B_k(1 - Q_m + Q_m c)$
	Lastre mutacional	$L_A = 1 - \frac{B_k}{B_m}$

Tabla 6.2: Resumen de resultados del modelo de cuasiespecies que interactúan en *trans* bajo la restricción de población constante en presencia de mutación Los valores se han obtenido hallando la solución de estado estacionario del sistema 6.8. La fila llamada "Estabilidad" muestra las condiciones necesarias para que dicho estado estacionario sea asintóticamente estable. Las condiciones se han hallado sustituyendo los valores del estado estacionario en el Jacobiano que se obtiene a partir del sistema 6.8

A partir de esta relación es posible obtener el umbral de error:

$$Q_c = \frac{B_k}{B_k(1 - c) + B_m c} \quad (6.11)$$

El estado estacionario I es estable si $Q_m > Q_c$, mientras que el estado estacionario II lo es para $Q_m < Q_c$. De forma análoga, es posible obtener un valor crítico del factor de interacción en *cis*, c , para el que tiene lugar la misma bifurcación transcítica:

$$c_c = \frac{B_k(1 - Q_m)}{(B_m - B_k)Q_m} \quad (6.12)$$

En el capítulo 3 se vio que la aparición de un umbral de error se debía a la acción de la selección natural actuando bajo la forma de la supervivencia del más robusto. Se vio también que el umbral de error podía definirse como el valor para el cual el coeficiente de selección efectivo entre el fenotipo maestro y mutante se hacía igual a cero. Dicho coeficiente de selección viene definido por:

$$s = \frac{A_k(Q_m, c)}{A_m(Q_m, c)Q_m} - 1 \quad (6.13)$$

Puesto que ahora, los valores de A_m y A_k dependen de la composición población, el valor del coeficiente de selección puede obtenerse una vez que se alcanza el estado estacionario I. Sustituyendo los valores de x_m y x_k para dicho estado estacionario I se obtiene:

$$s = \frac{B_k(1 - Q_m + Q_m c)}{B_m Q_m} - c \quad (6.14)$$

Cuando el estado estacionario I es estable, antes del umbral de error, s es negativo. Igualando este valor a cero y despejando Q_m o c , se obtienen los valores críticos de Q_m y c para los que se produce la bifurcación transcítica, cambia la estabilidad de los estados estacionarios, y el coeficiente de selección se vuelve positivo.

Puesto que

$$\frac{dQ_c}{dc} = \frac{B_k(B_k - B_m)}{(B_m c + B_k(1 - c))^2} < 0 \quad (6.15)$$

El umbral de error aumenta al disminuir c , es decir, al aumentar las interacciones en *trans*. Dicho de otra forma, cuando existen interacciones en *trans*, el umbral de error se produce a tasas de mutación más bajas. Esto puede explicarse teniendo en cuenta que,

$$\left(\frac{ds}{dc}\right) = \frac{B_k}{B_m} - 1 < 0 \quad (6.16)$$

Es decir, cuanto mayor es c menor es el coeficiente de selección. Como para $Q_m > Q_c$ el coeficiente de selección es negativo, al aumentar las interacciones en *trans* el coeficiente de selección antes del umbral de error se hace menos negativo, es decir, la intensidad de la selección natural disminuye. Esto se debe a que, debido a las interacciones en *trans* que se establecen a través del bien público, el fenotipo mutante se aprovecha de parte de los recursos que aporta el fenotipo maestro, aumentando su eficacia biológica, mientras que el fenotipo maestro utiliza parcialmente recursos aportados por el fenotipo mutante, lo que disminuye su eficacia biológica. El resultado es que la eficacia biológica relativa entre ambos disminuye al aumentar las interacciones en *trans*. Puesto que la intensidad de la selección natural disminuye, la tasa de mutación a la que la mayor robustez del fenotipo mutante compensa la diferencia de eficacias biológicas entre ambos fenotipos, se hace menor, de manera que el umbral de error aumenta.

Analizando en detalle el valor de Q_c se observa que cuando $c = 1$, el umbral de error es igual al obtenido en el modelo de cuasiespecies clásico $Q_c = \frac{B_k}{B_m}$, mientras que si $c = 0$, el umbral de error es $Q_c = 1$, lo que indica que el fenotipo mutante se impone a cualquier valor de la tasa de mutación mayor que cero. Esto se debe a que cuando $c = 0$, en ausencia de una ventaja selectiva en *cis* del fenotipo mutante, ambos fenotipos reciben la misma contribución del bien público $A_m = A_k = \bar{B}$, pero sólo el fenotipo maestro sufre una pérdida de eficacia biológica debido a la mutación.

La figura 6.1 muestra la relación entre los valores críticos de c y Q_m para tres valores de superioridad¹, $\sigma_B = \frac{B_k}{B_m}$, diferentes. Esta figura puede interpretarse como un diagrama de fases: cuando los parámetros del sistema se encuentran por encima de una curva, el estado estacionario I es estable, mientras que cuando se encuentran por debajo de la curva es estable el estado estacionario II.

En la tabla 6.2 también se observa el valor del lastre mutacional en el equilibrio de selección-mutación:

$$L_A = \frac{A_0 - \bar{A}}{A_0} = \frac{1 - Q_m}{1 - Q_m + Q_m c} \quad (6.17)$$

¹Aunque en el apéndice A y en los capítulos 3 y 4, la superioridad se definía como la relación entre los factores de amplificación A_i , en este capítulo y los siguientes es más conveniente redefinirla como la relación entre las contribuciones al bien público, B_i . Debido a esto, se le denominará σ_B

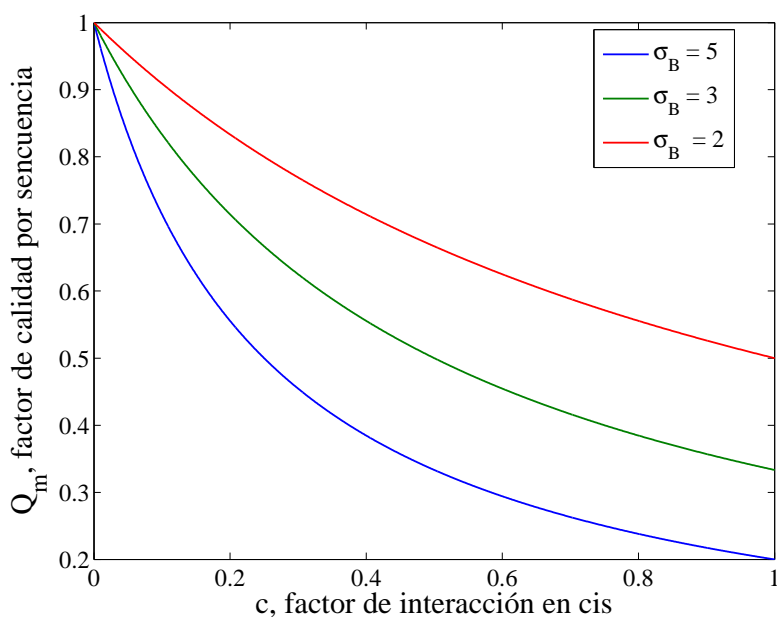


Figura 6.1: Relación entre el valor crítico del factor de interacción en *cis*, c , y el factor de calidad por secuencia, Q_m , para diferentes valores de σ_B . En la figura se observa como el umbral de error, Q_c , disminuye cuando disminuyen las interacciones en *trans*, cuando c aumenta. Para $c = 1$, el umbral de error es $Q_m = 1$, independientemente de σ_B .

En ausencia de mutación, $Q_m = 1$, se obtiene, lógicamente, que el lastre mutacional es $L_A(Q_m = 1) = 0$. Mientras que en el caso $c = 1$, en ausencia de interacción, el lastre mutacional coincide con el modelo clásico de cuasiespecies, $L_A(c = 1) = 1 - Q_m$. El lastre mutacional en el estado estacionario I viene determinado por el factor de calidad por secuencia, Q_m y por el factor de interacción en *cis*, c , pero no por las contribuciones a la eficacia replicativa B_m y B_k . Esto contrasta con la fracción poblacional del fenotipo mutante que sí depende de la diferencia $B_m - B_k$.

Sin embargo, en el estado estacionario II, donde sólo está presente el fenotipo mutante, el lastre mutacional sólo depende de la relación entre dichas contribuciones, de forma que más allá del Q_c , el lastre mutacional es constante. Ambos fenómenos son una particularidad del paisaje de eficacia biológica tipo *Single-Peak* en ausencia de *back-mutation*.

Al estudiar cómo depende el lastre mutacional en el equilibrio selección-mutación con las interacciones en *trans* se obtiene:

$$\left(\frac{dL_A}{dc}\right) = -\frac{Q_m(1-Q_m)}{(1-Q_m+Q_m c)} < 0 \quad (6.18)$$

Es decir, cuando la población se encuentra en un equilibrio de selección-mutación tipo cuasiespecie, cuanto mayores sean las interacciones en *trans* mayor es el lastre mutacional de la población, y menor, por tanto, su eficacia biológica promedio, para cada valor de la tasa de mutación. El motivo es el mismo por el cual aumenta el umbral de error con las interacciones en *trans*. Las interacciones en *trans* disminuyen la diferencia de eficacia biológica entre los fenotipos maestro y mutante, disminuyendo la presión de selección. De esta manera, el equilibrio de selección-mutación se desplaza haciendo que el efecto deletéreo de las mutaciones sobre la eficacia biológica media poblacional sea mayor cuanto mayores son las interacciones en *trans*. En la figura 6.2 se muestra la variación del lastre mutacional con el factor de calidad y la superioridad del fenotipo maestro sobre el mutante para dos factores de interacción en *cis* diferentes. En ambos casos se observa que antes del umbral de error (que es el valor de Q_m a partir del cual el lastre mutacional no varía con el factor de calidad) el lastre

mutacional no depende de la superioridad, σ_B , que, sin embargo, sí determina el valor de Q_c y el valor del lastre mutacional más allá de Q_c .

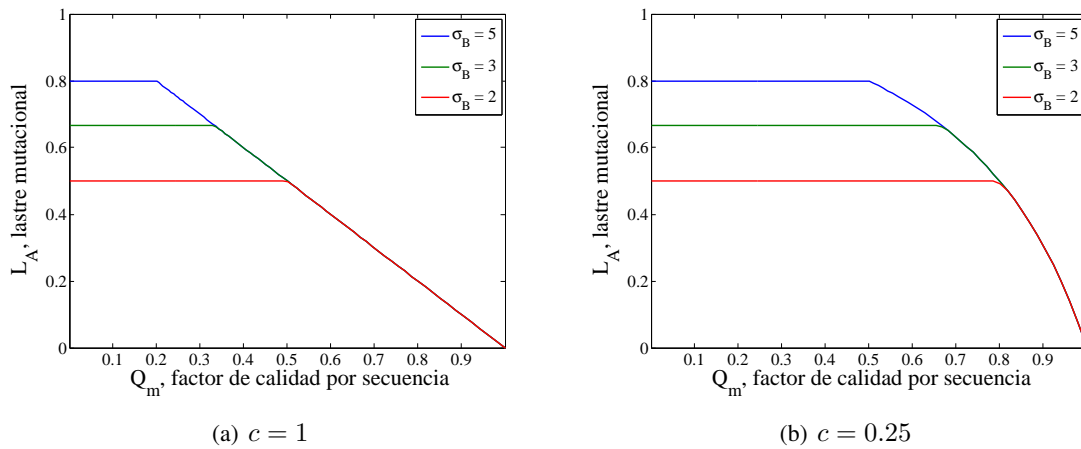


Figura 6.2: Variación del lastre mutacional con el factor el factor de calidad por secuencia para diferentes valores de superioridad. La figura muestra cómo, antes del umbral de error, el lastre mutacional es independiente de σ_B . Comparando a y b se observa que, al disminuir c , tanto el umbral de error como el lastre mutacional antes de éste aumentan.

La figura 6.3 muestra la variación del lastre mutacional respecto al factor de calidad por secuencia, Q_m para diferentes valores del factor de interacción en *cis*, c . En ella se observa cómo al disminuir c , es decir, al aumentar las interacciones en *trans*, aumenta tanto el lastre mutacional a cada valor de Q_m como el valor del umbral de error.

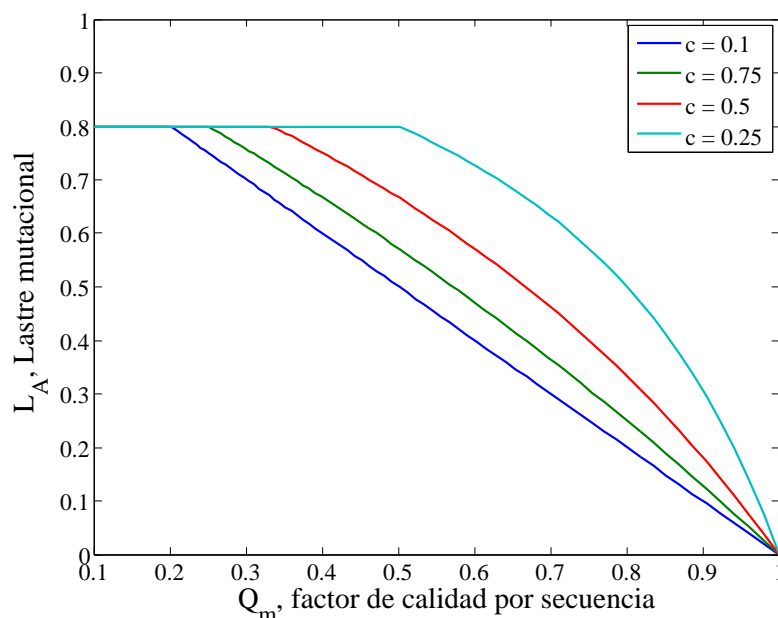


Figura 6.3: Variación del lastre mutacional con el factor de calidad por dígito para diferentes valores de c . El lastre mutacional y el umbral son mayores cuanto menor es c , es decir, cuanto mayores son las interacciones en *trans*. $B_m = 10$; $B_k = 2$; $D = 1$; $v = 0$; $N = 1$.

El efecto del factor de interacción en *cis*, c , sobre el lastre mutacional depende del factor de calidad, tal y como puede apreciarse por la expresión del lastre mutacional, ecu. 6.17 y las figuras 6.2 y 6.3. Es decir, la tasa de mutación y el factor de interacción c , no actúan de forma independiente. A

partir de dicha expresión es posible preguntarse para qué valor de la tasa de mutación se maximiza el efecto de c sobre el lastre mutacional antes del umbral de error. Para hallar este valor basta con igualar a cero la derivada de la diferencia entre los lastres mutacionales para dos valores de c diferentes, que viene definida por:

$$\Delta L_A = L_{A,2} - L_{A,1} = L_A(c_2) - L_A(c_1) \quad (6.19)$$

Igualando a cero la derivada de esta expresión con respecto a Q_m se obtiene el valor de Q_m al cual la diferencia de lastres mutacionales es máxima

$$Q_m(\text{máx } \Delta L_A) = \frac{1}{1 + \sqrt{c_1 c_2}} \quad (6.20)$$

así como el valor de dicho máximo:

$$\Delta L_A(Q_m(\text{máx } \Delta L_A)) = \frac{c_1 + c_2 - 2\sqrt{c_1 c_2}}{c_2 - c_1} \quad (6.21)$$

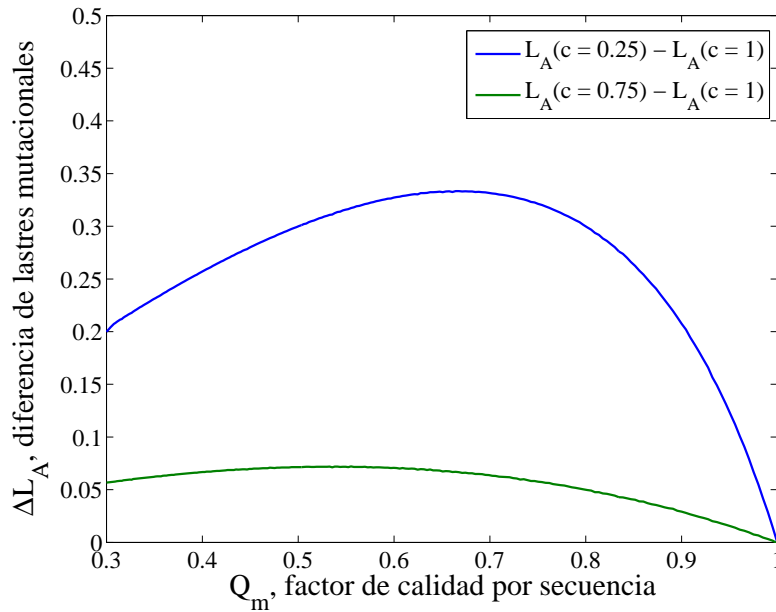


Figura 6.4: Diferencia de lastre mutacional para dos factores de interacción c en función del factor de calidad por secuencia Q_m . El efecto de c sobre el lastre mutacional presenta un máximo para valores de Q_m intermedios. $B_m = 10$; $B_k = 0$; $D = 1$; $v = 0$; $N = 1$

Como se observa en la figura 6.4 la diferencia entre los lastres mutacionales para dos valores de c alcanza un máximo para factores de calidad por secuencia intermedios.

6.3. El fenotipo mutante presenta una ventaja o desventaja selectiva, w . Modelo aditivo

Una vez considerado el caso en el que los fenotipos mutante y maestro sólo se diferencian en su contribución al bien público, B_i , se estudiará el caso en el que el fenotipo mutante presenta una ventaja o desventaja selectiva en cis respecto al fenotipo maestro, empezado por el modelo aditivo.

Al considerar que esta ventaja o desventaja actúa de forma aditiva, los factores de amplificación de ambos fenotipos resultan ser:

$$A_m(x_m, x_k) = cB_m + (1 - c)\bar{B} = cB_m + (1 - c)\frac{B_mx_m + B_kx_k}{N} \quad (6.22)$$

$$A_k(x_m, x_k) = cB_k + (1 - c)\bar{B} + v = cB_k + (1 - c)\frac{B_mx_m + B_kx_k}{N} + w \quad (6.23)$$

Puesto que la población es constante, el sistema de EDO que determina la dinámica viene definido por:

$$\begin{aligned} \frac{dx_m}{dt} &= [cB_m + (1 - c)\bar{B}] Q_mx_m - Dx_m - \bar{E}x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= [cB_m + (1 - c)\bar{B}] (1 - Q_m)x_m + [cB_k + (1 - c)\bar{B} + w] x_k - Dx_k - \bar{E}x_k \end{aligned} \quad (6.24)$$

Donde la productividad media del sistema, \bar{E} , viene definida por

$$\bar{E} = \frac{B_mx_m + (B_k + w)x_k}{x_m + x_k} = B_k + w + \frac{(B_m - B_k - w)x_m}{N} \quad (6.25)$$

Reduciendo el sistema 6.24 a una única ecuación diferencial teniendo en cuenta que $x_m = N - x_k$, y sustituyendo el valor de \bar{E} , la ecuación diferencial resultante que determina la dinámica de la población es:

$$\begin{aligned} \frac{dx_m}{dt} &= \left[cB_m + (1 - c) \left(B_k + w + \frac{(B_m - B_k - w)x_m}{N} \right) \right] Q_mx_m \\ &\quad - \left(B_k + w + \frac{(B_m - B_k - w)x_m}{N} \right) x_m \end{aligned} \quad (6.26)$$

6.3.1. Dinámica evolutiva en ausencia de mutación, $Q_m = 1$

Al igual que en la sección 6.2, en primer lugar se estudiará la dinámica evolutiva del sistema en ausencia de mutación, es decir, cuando sólo actúa la selección natural. Como se comentó anteriormente, a pesar de que en ausencia de mutaciones no tenga sentido hablar de fenotipo mutante se mantendrá esta nomenclatura por los motivos anteriormente mencionados. En ausencia de mutación, el sistema de ecuaciones diferenciales 6.24 resulta:

$$\begin{aligned} \frac{dx_m}{dt} &= [cB_m + (1 - c)\frac{B_mx_m + B_kx_k}{N}]x_m - \bar{A}x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= [cB_k + (1 - c)\frac{B_mx_m + B_kx_k}{N} + w]x_k - \bar{A}x_k \end{aligned} \quad (6.27)$$

La tabla 6.3 muestra los resultados obtenidos al hallar los estados estacionarios del sistema de ecuaciones diferenciales 6.27.

Al igual que en el caso en el que se consideraba que $w = 0$, sección 5.2, el sistema presenta dos estados estacionarios. Uno formado exclusivamente por el fenotipo maestro y otro formado exclusivamente por el fenotipo “mutante”. Ahora bien, a diferencia del caso $w = 0$, ahora el fenotipo

Estado Estacionario	Propiedades	
Estado estacionario I. Sólo fenotipo maestro	Población	$x_m = N$ $x_k = 0$
	Estabilidad	$w < (B_m - B_k) c$
Estado estacionario II. Sólo fenotipo mutante	Población	$x_m = 0$ $x_k = N$
	Estabilidad	$w > (B_m - B_k) c$

Tabla 6.3: Resumen de resultados del modelo de cuasiespecies que interactúan en *trans* bajo la restricción de población constante, en presencia de una ventaja aditiva en *cis*, w . Los valores se han obtenido hallando la solución de estado estacionario del sistema 6.27. La fila llamada “Estabilidad” muestra las condiciones necesarias para que dicho estado estacionario sea asintóticamente estable. Las condiciones se han hallado substituyendo los valores del estado estacionario en el Jacobiano que se obtiene a partir del sistema 6.27.

“mutante” puede imponerse en la población siempre y cuando su ventaja selectiva en *cis*, w , sea mayor que la diferencia entre las aportaciones de cada fenotipo, multiplicada por el factor de interacción en *cis*².

En este caso, existe un dilema social porque, cuando se cumple que $w > (B_m - B_k) c$ y se impone el fenotipo mutante o defector, puede ocurrir que la eficacia biológica media de la población resultante ($\bar{E} = B_k + w - D$) sea menor que la que tendría una población completamente compuesta por individuos del fenotipo maestro o cooperador ($\bar{E} = B_m - D$), tal y como se observa en la figura 6.5. En ella se observa que, para $w = 2$, se produce la transición del estado estacionario I al estado estacionario II con la consiguiente pérdida de eficacia biológica media en la población. Dicho de otro modo, la acción de la selección natural conlleva una pérdida de la eficacia biológica media de la población. Posteriormente, una vez que se impone el fenotipo mutante, aumentar w supone un aumento de la productividad media del sistema.

Por último, en este caso merece la pena señalar que la condición para que se imponga el fenotipo “mutante” o el maestro $w = (B_m - B_k) * c$, es formalmente equivalente a la conocida “regla de Hamilton” (Hamilton, 1964b,a), que viene expresada por $rb = c$, donde, esta ecuación, c es el “coste” de cooperación, b es el beneficio de la cooperación y r es el coeficiente de parentesco. En este caso w , al actuar de forma aditiva, se comporta como una ventaja de la defeción, pero el comportamiento del sistema sería completamente equivalente si en vez de sumar una ventaja al individuo defector, se le restase un coste al fenotipo “altruista” (en este caso, el maestro). La diferencia $B_m - B_k$, es el beneficio que produce la cooperación frente a la defeción. Lo más interesante de esta equivalencia es que muestra que, en este caso, el factor de interacción en *cis* se comporta de manera equivalente al coeficiente de parentesco r de la regla de Hamilton, y puede representar una tendencia de asociación

²Como se vio en el apéndice B, el comportamiento en el estado estacionario del sistema 6.27 es equivalente al de una ecuación del replicador cuya matriz de pagos fuese:

$$M = \begin{bmatrix} B_m & B_k + (B_m - B_k) c \\ B_m - (B_m - B_k) c + w & B_k + w \end{bmatrix}$$

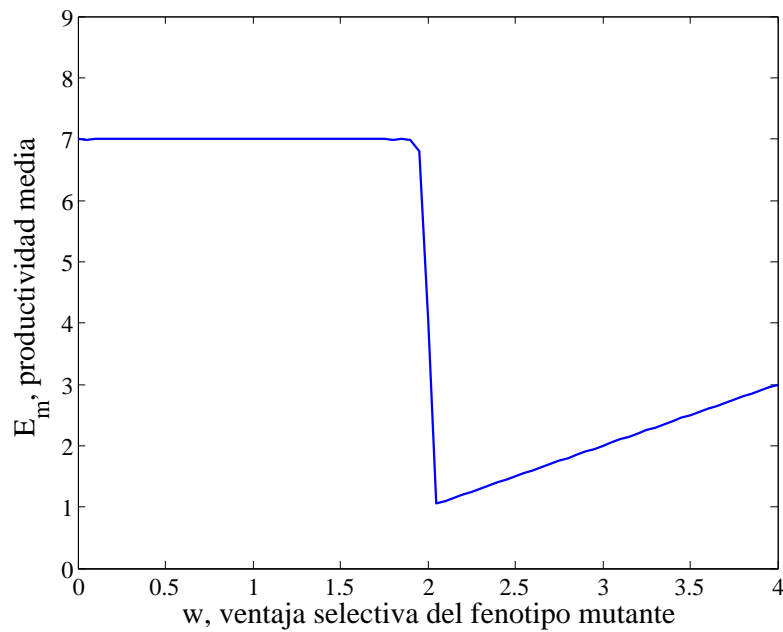


Figura 6.5: Variación de la productividad media de la población con la ventaja del fenotipo mutante, w . El aumento de la ventaja selectiva por encima de $w = 2$ hace que se imponga el fenotipo “mutante” sobre el fenotipo maestro, causando una brusca caída de la productividad media. Una vez que se impone el fenotipo “mutante”, el aumento de w aumenta la productividad media de la población. $B_m = 10$; $B_k = 2$; $D = 3$; $c = 0.25$

preferencial con individuos del mismo fenotipo, como se consideró en la sección 5.3.

6.3.2. Dinámica evolutiva en presencia de mutación, $Q_m < 1$

La tabla 6.4 muestra los resultados obtenidos al hallar los estados estacionarios del sistema de ecuaciones diferenciales 6.26.

Como puede observarse en la tabla 6.4, la condición para que el estado estacionario II sea estable es equivalente a la obtenida en la sección anterior. De dicha condición puede obtenerse el valor del umbral de error que vendría definido por:

$$Q_{m,crit} = \frac{B_k + w}{B_k(1 - c) + B_m c} \quad (6.28)$$

Por tanto, el umbral de error es siempre mayor cuanto mayor es el valor de w , lo que concuerda con la interpretación de la entrada en catástrofe de error como un proceso determinado por la selección natural. De hecho, al igual que en apartados anteriores, el valor del umbral de error puede obtenerse igualando a cero el coeficiente de selección en el estado estacionario:

$$s = \frac{(B_k + w)}{B_m Q_m} - \frac{(B_m c + B_k - B_k c)}{B_m} \quad (6.29)$$

A diferencia del caso en el que el fenotipo mutante no presenta una ventaja o desventaja selectiva respecto al fenotipo maestro, ahora el lastre mutacional en el estado estacionario de coexistencia no es sólo una función de la tasa de mutación y del factor de interacción en *cis*, sino que depende de w y de las contribuciones de los fenotipos mutante y maestro, B_k y B_m . Si se estudian las dependencias

Estado Estacionario	Propiedades	
Estado estacionario I. Coexistencia. Equilibrio selección-mutación (Cuasiespecies)	Población	$x_m = \frac{N(B_m Q_m c - B_k(1 - Q_m + Q_m c) + w)}{B_m - B_k(1 - Q_m + Q_m c) - w}$ $x_k = \frac{NB_m(1 - Q_m)}{B_m - B_k(1 - Q_m + Q_m c) - w}$
	Estabilidad	$B_m Q_m c > B_k(1 - Q_m + Q_m c) + w$
	Lastre mutacional	$L_A = \frac{(1 - Q_m)(B_m - B_k - w)}{(B_m - B_k)(1 - Q_m + Q_m c) - w}$
Estado estacionario II. ("Catástrofe de error")	Población	$x_m = 0$ $x_k = N$
	Estabilidad	$B_k(1 - Q_m + Q_m c) + w > B_m Q_m c$
	Lastre mutacional	$L_A = 1 - \frac{B_k + w}{B_m}$

Tabla 6.4: Resumen de resultados del modelo de cuasiespecies que interactúan en *trans* bajo la restricción de población constante cuando el fenotipo mutante presenta una ventaja o desventaja aditiva en *cis*, w . Los valores se han obtenido hallando la solución de estado estacionario del sistema 6.26. La fila llamada "Estabilidad" muestra las condiciones necesarias para que dicho estado estacionario sea asintóticamente estable. Las condiciones se han hallado sustituyendo los valores del estado estacionario en el Jacobiano que se obtiene a partir del sistema 6.26.

del lastre mutacional en el equilibrio selección-mutación con los diferentes parámetros se observa lo que a continuación se detalla.

En primer lugar, el lastre mutacional sigue siendo mayor cuanto menores sean el factor de calidad por secuencia Q_m y el factor de interacción en *cis*, c .

$$\left(\frac{dL}{dQ_m}\right) = -\frac{(B_m - B_k - w)(B_m c - B_k c - w)}{((B_m - B_k)(1 - Q_m + Q_m c) - w)^2} < 0 \quad (6.30)$$

$$\left(\frac{dL}{dc}\right) = -\frac{(B_m - B_k - w)(B_m - B_k)Q_m(1 - Q_m)}{((B_m - B_k)(1 - Q_m + Q_m c) - w)^2} < 0 \quad (6.31)$$

Puesto que la ventaja w aumenta la eficacia biológica relativa del fenotipo mutante, su aumento produce, lógicamente, un aumento del lastre mutacional.

$$\left(\frac{dL}{dw}\right) = \frac{(1 - c)(1 - Q_m)(B_m - B_k)Q_m}{((B_m - B_k)(1 - Q_m + Q_m c) - w)^2} > 0 \quad (6.32)$$

La figura 6.6 muestra el efecto de w tanto sobre el umbral de error, que aumenta al aumentar w , como sobre el lastre mutacional, que es mayor cuanto mayor es w para cualquier valor del factor de calidad mayor que el umbral de error.

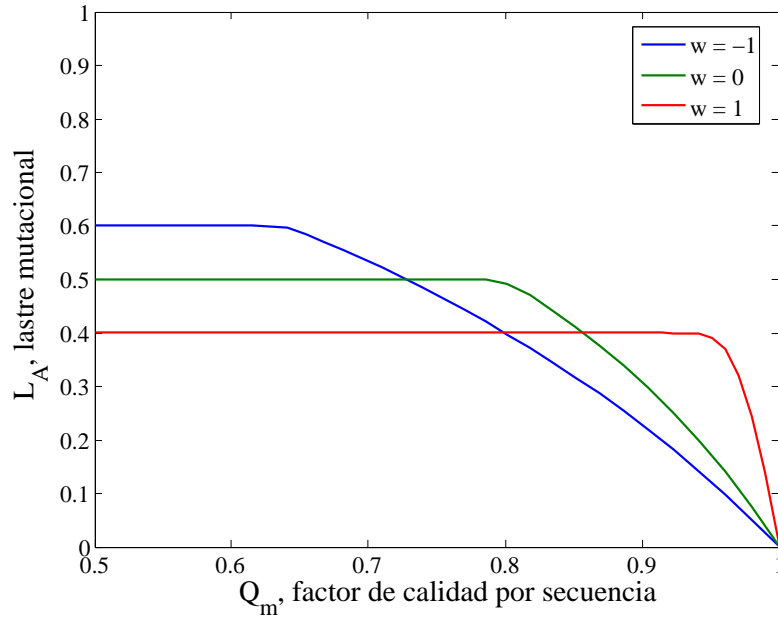


Figura 6.6: Variación del lastre mutacional en función del factor de calidad por secuencia, Q_m para diferentes valores de w , actuando según un modelo aditivo. Una ventaja selectiva en *cis* ($w > 0$) del fenotipo mutante aumenta el lastre mutacional antes del umbral de error respecto al caso ($w = 0$). Por el contrario, una desventaja selectiva ($w < 0$) disminuye el lastre mutacional respecto a dicha situación. El umbral de error aumenta al aumentar w . $B_m = 10$; $B_k = 5$; $D = 1$; $c = 0.25$

Para estudiar la dependencia del lastre mutacional con respecto a B_m y B_k , es interesante expresar el lastre mutacional en función de la superioridad $\sigma_B = \frac{B_m}{B_k}$, obteniéndose:

$$L_A = \frac{(1 - Q_m)(1 - \sigma_B^{-1} - w)}{(1 - \sigma_B^{-1})(1 - Q_m + Q_m c) - w} \quad (6.33)$$

La derivada respecto de la superioridad es

$$\frac{dL}{d\sigma_B} = -\frac{wQ_m(1-c)(1-Q_m)}{(\sigma_B(Q_m + w - Q_m c - 1) - Q_m + Q_m c + 1)^2} \quad (6.34)$$

Lo que implica que el signo de la derivada del lastre mutacional con respecto a la superioridad depende de si w es mayor o menor que cero, es decir, de si es una ventaja o una desventaja selectiva en *cis*. Si $w > 0$, $\frac{dL}{d\sigma_B} < 0$, lo que implica que cuanto mayor sea la superioridad menor es el lastre mutacional. Por el contrario, si $w < 0$, $\frac{dL}{d\sigma_B} > 0$, de forma que cuanto mayor sea la superioridad, menor es el lastre mutacional. Ahora bien, aunque para $w < 0$ se obtenga que $\frac{dL}{d\sigma_B} > 0$, numéricamente puede comprobarse que el valor absoluto de dicha variación es muy pequeño y, por tanto, apenas afecta a el lastre mutacional.

6.4. El fenotipo mutante presenta una ventaja o desventaja selectiva, v . Modelo multiplicativo

Cuando se considera que la ventaja o desventaja del fenotipo mutante actúa de forma multiplicativa, los factores de amplificación de los fenotipos maestro y mutante vienen definidos por:

$$\begin{aligned} A_m(x_m, x_k) &= cB_m + (1-c)\bar{B} = cB_m + (1-c)\frac{B_mx_m + B_kx_k}{x_m + x_k} \\ A_k(x_m, x_k) &= (cB_k + (1-c)\bar{B})(1+v) = \left[cB_k + (1-c)\frac{B_mx_m + B_kx_k}{x_m + x_k} \right] (1+v) \end{aligned} \quad (6.35)$$

Teniendo en cuenta que la población es constante, el sistema de EDO que determina la dinámica viene definido por:

$$\begin{aligned} \frac{dx_m}{dt} &= [cB_m + (1-c)\bar{B}] Q_m x_m - Dx_m - \bar{E}x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= [cB_m + (1-c)\bar{B}] (1-Q_m)x_m + (1+v) [cB_k + (1-c)\bar{B}] x_k - Dx_k - \bar{E}x_k \end{aligned} \quad (6.36)$$

que puede reducirse a una única ecuación diferencial teniendo en cuenta que $x_k = N - x_m$

$$\frac{dx_m}{dt} = \left[cB_m + (1-c) \left(B_k + \frac{(B_m - B_k)}{N} x_m \right) \right] Q_m x_m - Dx_m - \bar{E}x_m \quad (6.37)$$

Donde el valor de \bar{E} viene definido por:

$$\bar{E} = \frac{((N - x_m)(1+v) + x_m)((B_m - B_k)(1-c)x_m + N(B_m c + B_k(1-c)))}{N^2} - D \quad (6.38)$$

Sustituyendo la ecuación 6.38 en el sistema 6.37 se obtiene:

$$\frac{dx_m}{dt} = \left[cB_m + (1-c) \left(B_k + \frac{(B_m - B_k)}{N} x_m \right) \right] Q_m x_m - \bar{A}x_m \quad (6.39)$$

donde

$$\bar{A} = \frac{((N - x_m)(1+v) + x_m)((B_m - B_k)(1-c)x_m + N(B_m c + B_k(1-c)))}{N^2} \quad (6.40)$$

Como se verá a lo largo de este trabajo, al considerar una ventaja o desventaja selectiva de tipo multiplicativo, las expresiones explícitas de los estados estacionarios se vuelven bastante complicadas, siendo difícil interpretarlas. Por este motivo, en la siguiente sección se estudiará analíticamente el sistema en ausencia de mutación y, posteriormente, el sistema en presencia de mutaciones será estudiado utilizando, fundamentalmente, una aproximación numérica.

6.4.1. Dinámica selectiva en ausencia de mutación, $Q_m = 1$

Dada la mayor complicación del sistema en presencia de mutaciones, es interesante empezar estudiándolo en el caso particular en el que la tasa de mutación es nula. Al igual que en las secciones 6.2.1 y 6.3.1, se mantendrá la nomenclatura de fenotipo mutante y maestro, aun cuando no se esté considerando la mutación, por los mismos motivos detallados en la sección 6.2.1. En ausencia de mutaciones, el sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias 6.36 se reduce, en el caso particular $N = 1$, a:

$$\begin{aligned}\frac{dx_m}{dt} &= cB_mx_m + (1 - c) \left(\frac{B_mx_m - B_kx_k}{x_m + x_k} \right) x_m - \bar{A}x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= cB_k(1 + v)x_k + (1 - c)(1 + v) \left(\frac{B_mx_m - B_kx_k}{x_m + x_k} \right) x_k - \bar{A}x_m\end{aligned}\quad (6.41)$$

La tabla 6.5 muestra los resultados obtenidos al resolver los estados estacionarios del sistema sistema de EDO 6.41.

La tabla 6.5 muestra que, en ausencia de mutación, existen tres posibles estados estacionarios. Los estados estacionarios I y II representan la imposición del fenotipo maestro o mutante, respectivamente. El estado estacionario III representa un estado estacionario de coexistencia entre ambos fenotipos, sin que se produzca mutación de uno a otro. En la tabla 6.5 pueden encontrarse las condiciones que hacen que sea estable cada estado estacionario, tanto de forma general, como en particular para el valor de v .

El estado estacionario de coexistencia, que no aparecía en la sección anterior cuando se consideraba una ventaja o desventaja de tipo aditivo, si aparece al considerar una ventaja selectiva de tipo multiplicativo, que enriquece la dinámica del sistema³. Este resultado muestra cómo el considerar que la ventaja actúa de forma aditiva o multiplicativa puede cambiar sustancialmente la dinámica del sistema, por lo que no deberían hacerse extrapolaciones de tipo general a partir de los resultados obtenidos considerando exclusivamente uno de dichos modelos.

En este caso, puesto que $Q_m = 1$, no es posible hablar de un lastre mutacional, pero sí de un lastre interferente. El lastre interferente surge de aplicar el concepto de lastre genético a aquellas situaciones en las que se produce una disminución en la eficacia biológica promedio de una población debido a la defección. Estudiando sistemas de cooperación-defección en bacterias esporulantes, otros autores han descrito un *cheating load* (literalmente, lastre de “tramposos”) (Velicer, 2003; Travisano y Velicer, 2004)) completamente equivalente al lastre interferente aquí presentado.

El lastre interferente en el estado estacionario I es, obviamente, cero, mientras que en el estado estacionario II, alcanza el valor máximo posible $L_A = 1 - \frac{B_k(1 + v)}{B_m}$. En el estado estacionario de coexistencia, el lastre interferente resulta ser:

$$L_A = 1 - \frac{(B_m - B_k)(1 + v)c}{B_mv} = 1 - \frac{c(1 + v)}{v} + \frac{cB_k(1 + v)}{B_mv}\quad (6.42)$$

que, en el caso particular en el que $B_k = 0$, se convierte en:

³El comportamiento en el estado estacionario del sistema 6.41 es equivalente al de una ecuación del replicador cuya matriz de pagos fuese:

$$\mathbf{M} = \begin{bmatrix} B_m & B_k + (B_m - B_k)c \\ (B_m - (B_m - B_k)c)(1 + v) & B_k(1 + v) \end{bmatrix}$$

Estado Estacionario	Propiedades	
Estado estacionario I. Sólo fenotipo maestro	Población	$x_m = N$ $x_k = 0$
	Estabilidad	$B_m > (B_m - (B_m - B_k)c)(1 + v)$
		$v < \frac{(B_m - B_k)c}{B_m(1-c) + B_k c}$
Lastre Interferente	$L_A = 1 - Q_m$	
Estado estacionario II. Sólo fenotipo mutante	Población	$x_m = 0$ $x_k = N$
	Estabilidad	$B_k(1 + v) > B_k + (B_m - B_k)c$
		$v > \frac{(B_m - B_k)c}{B_k}$
Lastre Interferente	$L_A = 1 - \frac{B_k(1+v)}{B_m}$	
Estado estacionario III. Coexistencia	Población	$x_m = \frac{N(B_m c - B_k(c + v))}{v(B_m - B_k)(1 - c)}$ $x_k = N \left(1 - \frac{(B_m c - B_k(c + v))}{v(B_m - B_k)(1 - c)}\right)$
	Estabilidad	$B_k(1 + v) < B_k + (B_m - B_k)c$
		$B_m < (B_m - (B_m - B_k)c)(1 + v)$ $\frac{(B_m - B_k)c}{B_k} > v > \frac{(B_m - B_k)c}{B_m(1 - c) + B_k c}$
Lastre Interferente	$L_A = 1 - \frac{(B_m - B_k)(1+v)c}{B_m v}$	

Tabla 6.5: Resumen de resultados del modelo de cuasiespecies que interactúan en *trans* bajo la restricción de población constante, cuando el fenotipo mutante tiene una ventaja o desventaja selectiva de tipo multiplicativo, v , en ausencia de mutación ($Q_m = 1$) Los valores se han obtenido hallando la solución de estado estacionario del sistema 6.41. La fila llamada “Estabilidad” muestra las condiciones necesarias para que dicho estado estacionario sea asintóticamente estable. Las condiciones se han hallado sustituyendo los valores del estado estacionario en el Jacobiano que se obtiene a partir del sistema 6.41 En esta tabla se utiliza el *lastre interferente o defectivo* en vez del lastre mutacional. El lastre interferente es un tipo de lastre genético que ocurre cuando sólo se tienen en cuenta relaciones tipo defector-cooperador en ausencia de mutación.

$$L_A = 1 - \frac{(B_m - B_k)(1 + v)c}{B_m v} = 1 - \frac{c(1 + v)}{v} \quad (6.43)$$

Las derivadas del lastre mutacional proporcionan las dependencias respecto a los parámetros.

$$\left(\frac{dL_A}{dc}\right) = -\frac{(B_m - B_k)(1 + v)}{B_m v} < 0 \quad (6.44)$$

$$\left(\frac{dL_A}{dv}\right) = \frac{(B_m - B_k)c}{B_m v^2} > 0 \quad (6.45)$$

La carga interferente disminuye al disminuir las interacciones en *trans*, y aumenta al aumentar la ventaja o desventaja selectiva en *cis* del fenotipo mutante. El lastre mutacional también puede expresarse en función de σ_B como $L_A = 1 - \frac{c(1 + v)}{v} + \frac{c(1 + v)}{\sigma_B}$, de donde se obtiene que:

$$\left(\frac{dL_A}{d\sigma_B}\right) = -\frac{c(v + 1)}{\sigma_B^2 v} < 0 \quad (6.46)$$

de manera que la variación de la carga interferente con la superioridad σ_B depende del signo de v , es decir, de si representa una ventaja o una desventaja selectiva. Si $v > 0$, $\frac{dL}{d\sigma_B} < 0$, lo que implica que cuanto mayor sea la superioridad menor es el lastre interferente. Por el contrario, si $v < 0$, $\frac{dL}{d\sigma_B} > 0$, de forma que cuanto mayor sea la superioridad, menor es el lastre interferente.

6.4.2. Dinámica evolutiva en presencia de mutación, $Q_m < 1$.

En presencia de mutación, el sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias tiene la forma:

$$\begin{aligned} \frac{dx_m}{dt} &= [cB_m + (1 - c)\frac{B_m x_m + B_k x_k}{N}]Q_m x_m - \bar{A}x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= [cB_m + (1 - c)\frac{B_m x_m + B_k x_k}{N}](1 - Q_m)x_m \\ &\quad + \left[cB_k + (1 - c)\frac{B_m x_m + B_k x_k}{N} \right] (1 + v)x_k - \bar{A}x_k \end{aligned} \quad (6.47)$$

donde

$$\bar{A} = \frac{\left[cB_m + (1 - c)\frac{B_m x_m + B_k x_k}{N} \right] x_m + \left[cB_k + (1 - c)\frac{B_m x_m + B_k x_k}{N} \right] (1 + v)x_k}{N} \quad (6.48)$$

Al igual que en los casos anteriores, considerando que $x_k = N - x_m$, el sistema de ecuaciones 6.47 puede reducirse a una única ecuación diferencial:

$$\begin{aligned} \frac{dx_m}{dt} &= [cB_m + (1 - c)\left(B_k + \frac{(B_m - B_k)}{N}x_m\right)]Q_m x_m \\ &\quad - \frac{\left[cB_m + (1 - c)\left(B_k + \frac{(B_m - B_k)}{N}x_m\right) \right] x_m}{N} \\ &\quad + \frac{\left[cB_k + \left(B_k + \frac{(B_m - B_k)}{N}x_m\right) \right] (1 + v)(N - x_m)}{N} x_m \end{aligned} \quad (6.49)$$

Al resolver los estados estacionarios de la ecuación diferencial 6.49 aparecen dos estados estacionarios. El primero se corresponde con el equilibrio de selección-mutación, en el que coexisten ambos fenotipos. En el segundo estado estacionario sólo está presente el fenotipo mutante y se corresponde con la llamada catástrofe de error. El problema es que las expresiones explícitas para las concentraciones poblacionales del estado estacionario I son muy complicadas, (ver Tabla 6.6), lo que impide obtener explícitamente las condiciones de estabilidad de dicho estado estacionario a partir del Jacobiano. Igualmente, las expresiones del lastre mutacional, productividad media, etc. son suficientemente complicadas como para que no puedan ser fácilmente interpretadas.

Estado Estacionario	Propiedades		
Estado estacionario I. Coexistencia. Equilibrio selección-mutación (Cuasiespecies)	Población	$x_m = \frac{-b - \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a}$ $x_k = N - x_m$ <p style="text-align: center;">donde</p> $a = (1 - c)(B_m - B_k)v$ $b = B_k(1 + 2v - Q_m + Q_m c - cv)$ $-B_m(1 + v - Q_m + Q_m c - cv)$ $c = (B_m c + B_k(1 - c))Q_m - B_k(1 + v)$	
		Población	$x_m = 0$ $x_k = N$
		Estabilidad	$B_k(1 + v) > (B_m c + B_k(1 - c))Q_m$
Estado estacionario II. (“Catástrofe de error”)	Lastre mutacional	$L_A = 1 - \frac{B_k(1 + v)}{B_m}$	

Tabla 6.6: Resumen de resultados del modelo de cuasiespecies que interactúan en *trans* bajo la restricción de población constante, cuando el fenotipo mutante tiene una ventaja o desventaja selectiva de tipo multiplicativo, en presencia de mutación $Q_m < 1$. Los valores se han obtenido hallando la solución de estado estacionario del sistema 6.49. La fila llamada “Estabilidad” muestra las condiciones necesarias para que dicho estado estacionario sea asintóticamente estable. Las condiciones se han hallado sustituyendo los valores del estado estacionario en el Jacobiano que se obtiene a partir del sistema 6.49.

Sin embargo, esto no ocurre con el estado estacionario II, para el cual, debido a su simplicidad pueden hallarse tanto las concentraciones del fenotipo mutante y maestro, como el resto de variables (ver tabla 6.6), e incluso pueden estudiarse las condiciones de estabilidad en detalle. Numéricamente es posible comprobar que cuando el estado estacionario II se hace estable, el estado estacionario I se vuelve inestable y, por tanto, el estudio de la estabilidad del estado estacionario II permite comprender la dinámica global del sistema.

La condición para que el estado estacionario II sea asintóticamente estable es $B_k(1 + v) > (B_m c + B_k(1 - c))Q_m$. Cuando esto se cumple, el fenotipo mutante se impone al fenotipo maestro. Esta

condición de estabilidad define tres valores umbral para el factor de calidad por secuencia, Q_m , para el factor de interacción en *cis*, c , y para el valor de la ventaja o desventaja selectiva del fenotipo mutante, v . Los tres valores umbral son:

$$Q_c = \frac{B_k(1+v)}{B_k(1-c) + B_m c} \quad (6.50)$$

$$c_c = \frac{B_k(1+v) - B_k Q_m}{(B_m - B_k) Q_m} \quad (6.51)$$

$$v_c = \frac{B_m Q_m c - B_k(1 - Q_m + Q_m c)}{B_k} \quad (6.52)$$

Esto implica que el fenotipo mutante puede imponerse al fenotipo maestro siempre que $Q_m < Q_c$, $c < c_c$ o que $v > v_c$. Para el caso particular $Q_m = 1$ se obtienen valores umbrales tanto para c

$$c_c = \frac{B_k v}{(B_m - B_k)} \quad (6.53)$$

como para v

$$v_c = \frac{(B_m - B_k)c}{B_k} \quad (6.54)$$

lo que muestra, de nuevo, que el umbral de error es un caso particular de transición selectiva entre dos fenotipos, en particular debido a la diferente robustez mutacional y eficacia replicativa de los mismos. La existencia de un umbral equivalente para v y c cuando $Q_m = 1$ es la consecuencia de que, en este caso, la selección natural no sólo depende de las diferencias entre eficacia replicativa y robustez mutacional, sino también de las interacciones en *trans* y la ventaja o desventaja selectiva en *cis* del fenotipo mutante respecto al fenotipo maestro, v .

Por otro lado, a partir de la ecuación 6.52 es posible obtener que, puesto que

$$\frac{dv_c}{dQ_m} = 1 - c + \frac{B_m c}{B_k} > 0 \quad (6.55)$$

cuanto mayor sea el factor de calidad Q_m (menor tasa de mutación) mayor es la ventaja selectiva necesaria para que el fenotipo mutante se imponga en la población. Es decir, que, en este caso, la mutación favorece la acción de la defeción.

La figura 6.7 muestra la variación del lastre mutacional con el factor de calidad por secuencia para diferentes valores de v . Por un lado, como era de esperar, se observa que a cualquier valor del factor de calidad, el lastre mutacional es mayor cuanto mayor es el valor de v . Por otro lado, se observa que el umbral de error aumenta al aumentar v , debido al aumento de la eficacia biológica del fenotipo mutante. El análisis numérico muestra que el lastre mutacional aumenta al disminuir c o el factor de calidad, Q_m , y que su dependencia con la superioridad σ_B es equivalente a lo que se observa en ausencia de mutación, aumentando o disminuyendo al aumentar σ_B , dependiendo de si v es menor o mayor que cero.

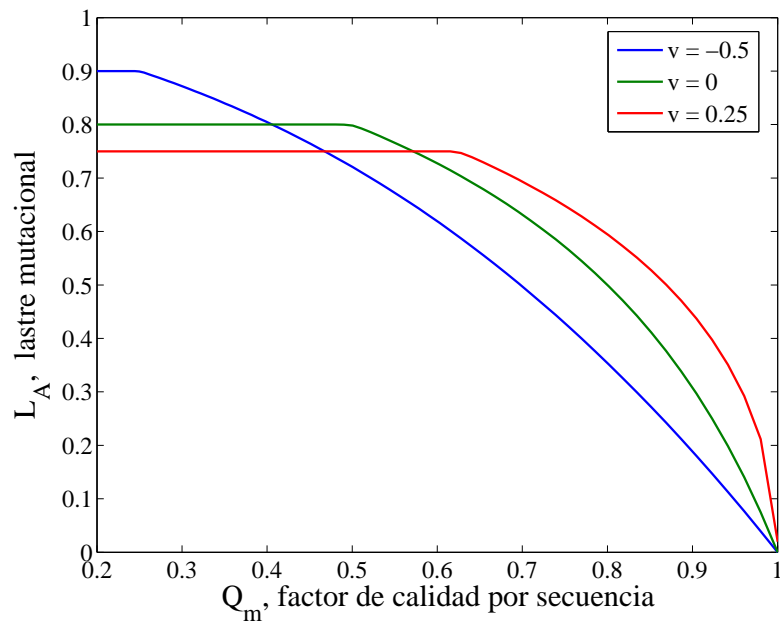


Figura 6.7: Variación del lastre mutacional con el factor de calidad para diferentes valores de v , actuando según un modelo multiplicativo. Una ventaja selectiva en *cis* ($v > 0$) del fenotipo mutante aumenta el lastre mutacional antes del umbral de error respecto al caso $v = 0$. Por el contrario, una desventaja selectiva ($v < 0$) disminuye el lastre mutacional respecto a dicha situación. El umbral de error aumenta al aumentar v . $B_m = 10$; $B_k = 2$; $D = 1$; $c = 0.25$

Capítulo 7

Interacciones en grupos de tamaño fijo n

En las secciones anteriores se ha supuesto que todos los individuos interactúan entre sí, es decir, que existe un único bien público al que todos aportan parte de sus recursos y del que todos reciben una parte proporcional. En el caso de especies autorreplicantes, este escenario es equivalente a considerar una situación en la que no existe ningún mecanismo de confinamiento espacial: todas las especies estarían en un mismo reactor de flujo bien agitado, como en el modelo clásico de cuasiespecies. Sin embargo, la replicación de los virus RNA tiene lugar en un entorno celular desarrollado, de forma que los modelos de virus RNA deben tener en cuenta, junto con la dinámica intracelular, la dinámica extracelular. Por otro lado, la teoría de juegos evolutiva (TJE) ha demostrado que el tamaño del grupo en el que los individuos interactúan puede tener gran importancia para las relaciones entre cooperadores y defectores. Por este motivo, en este capítulo se estudiará el efecto que tiene considerar que las interacciones entre los diferentes fenotipos tienen lugar en grupos de tamaño fijo n , cuando el tamaño poblacional es constante. Básicamente, esto significa que, en la parte de la eficacia biológica que depende de las interacciones de los fenotipos a través de la contribución media al bien público, \bar{B} , hay que considerar un promedio sobre todos los posibles grupos de tamaño n que pueden formarse con diferente composición de cada fenotipo. El estudio del efecto de las interacciones en grupos de tamaño constante n ha sido llevado a cabo extensamente en teoría de juegos evolutiva (Archetti y Scheuring, 2012), por lo que en esta sección se utilizarán los métodos desarrollados en dichos trabajos.

7.1. El fenotipo mutante no tiene una ventaja o desventaja selectiva, $v = 0, w = 0$, en presencia de mutación, $Q_m < 1$

En primer lugar se estudiará el caso $v = 0, w = 0$, dada su mayor simplicidad. Por simplicidad también se supondrá que la concentración total es $x_m + x_k = N = 1$. En este caso, los factores de amplificación de las especies mutante y maestra vienen determinados por:

$$\begin{aligned} A_m &= cB_m + (1 - c) \left[(B_m - B_k) \left(\frac{1}{n} + \frac{(n-1)}{n} x_m \right) + B_k \right] \\ A_k &= cB_k + (1 - c) \left[(B_m - B_k) \frac{(n-1)}{n} x_m + B_k \right] \end{aligned} \tag{7.1}$$

En la caja 1 se muestra el desarrollo detallado de cómo se han obtenido estos valores.

Caja 1. Obtención de las eficacias biológicas medias experimentadas por el fenotipo mutante y maestro cuando interactúan en tamaños de grupo n

Puesto que los individuos no comparten una parte de su eficacia biológica, cB_i , la interacción en grupo sólo afectará a la parte compartida $(1 - c)\bar{B}$. Siguiendo a Hauert et al. (2006b), es posible obtener las expresiones que van a determinar el promedio de la eficacia biológica que un individuo mutante y un individuo maestro experimentarán en todos los grupos de tamaño n de diferente composición en los que pueden encontrarse. De esta forma se obtiene que el valor de eficacia biológica media que experimentan los individuos del fenotipo maestro es:

$$(1 - c)\bar{B}_{master} = (1 - c) \sum_{k=0}^{n-1} \binom{n}{k} x_m^k (1 - x_m)^{n-1-k} \left[\frac{B_m(k+1) + B_k(n-k+1)}{n} \right]$$

Donde k es el número de individuos del fenotipo maestro en un grupo de tamaño n y x_m es la frecuencia de estos individuos en la población (puesto que $x_m + x_k = 1$). Por otro lado, el valor de eficacia biológica media que experimentan los individuos del fenotipo mutante es:

$$(1 - c)\bar{B}_{mut} = (1 - c) \sum_{k=0}^{n-1} \binom{n-1}{k} x_m^k (1 - x_m)^{n-1-k} \left[\frac{B_m k + B_k(n-k)}{n} \right]$$

Operando con la primera expresión y teniendo en cuenta que

$$\sum_{k=0}^{n-1} \binom{n-1}{k} x_m^k (1 - x_m)^{n-1-k} k = (n-1)x_m$$

es el primer momento de la distribución binomial y que

$$\sum_{k=0}^{N-1} \binom{N-1}{k} x_m^k (1 - x_m)^{N-1-k} = 1$$

se obtiene que la eficacia biológica media que experimenta el fenotipo maestro viene determinada por:

$$(1 - c)\bar{B}_{master} = (1 - c) \left[(B_m - B_k) \left(\frac{1}{n} + \frac{(n-1)}{n} x_m \right) + B_k \right]$$

Operando de manera análoga sobre la expresión de la eficacia biológica media que experimenta el fenotipo mutante resulta:

$$(1 - c)\bar{B}_{mut} = (1 - c) \left[(B_m - B_k) \frac{(n-1)}{n} x_m + B_k \right]$$

En el límite $n \rightarrow \infty$ se recupera el modelo original puesto que se cumple que:

$$\begin{aligned} (1 - c)\bar{B}_{master}(n \rightarrow \infty) &= (1 - c)\bar{B}_{mut}(n \rightarrow \infty) = (1 - c) [(B_m - B_k)x_m + B_k] \\ &= (1 - c) [B_m x_m + B_k x_k] = (1 - c)\bar{B} \end{aligned} \quad (7.2)$$

Y, por tanto:

$$\begin{aligned} A_m &= cB_m + (1-c)\bar{B} \\ A_k &= cB_k + (1-c)\bar{B} \end{aligned} \quad (7.3)$$

Por otro lado, para $n = 1$ se obtiene, obviamente, el modelo original de cuasiespecies sin interacciones en *trans*:

$$\begin{aligned} (1-c)\bar{B}_{master} &= (1-c)[(B_m - B_k) + B_k] = (1-c)B_m \\ (1-c)\bar{B}_{mut} &= (1-c)B_k \end{aligned} \quad (7.4)$$

El sistema de ecuaciones diferenciales que se obtiene al tener en cuenta la interacción en grupos de tamaño n viene definido por:

$$\begin{aligned} \frac{dx_m}{dt} &= \left[cB_m + (1-c) \left[(B_m - B_k) \left(\frac{1}{n} + \frac{(n-1)}{n}x_m \right) + B_k \right] \right] Q_m x_m \\ &\quad - D_m x_m - \phi_0 x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= \left[cB_m + (1-c) \left[(B_m - B_k) \left(\frac{1}{n} + \frac{(n-1)}{n}x_m \right) + B_k \right] \right] (1-Q_m) x_m \\ &\quad + \left[cB_k + (1-c) \left[(B_m - B_k) \frac{(n-1)}{n}x_m + B_k \right] \right] x_k - D_k x_k - \phi_0 x_k \end{aligned} \quad (7.5)$$

Donde

$$\phi_0 = (B_m - B_k) x_m + B_k - D \quad (7.6)$$

Los resultados obtenidos al hallar los estados estacionarios para este sistema de EDO 7.5 se presentan en la tabla 7.1.

A partir de las concentraciones en el estado estacionario de coexistencia, es posible hallar el valor de los factores de amplificación A_m y A_k de ambos fenotipos en el estado estacionario I y obtener el valor del coeficiente de selección cuando el tamaño de grupo es n :

$$s = \frac{A_k}{A_m Q_m} - 1 = \frac{B_k ((1-n+c(n-1)) Q_m + n)}{B_m Q_m n} - \frac{(1-c+nc)}{n} \quad (7.7)$$

A partir de esta expresión se obtiene que

$$\left(\frac{ds}{dn} \right) = \frac{(1-c)(B_m - B_k)}{B_m n^2} > 0 \quad (7.8)$$

Puesto que antes del umbral de error, el coeficiente de selección es negativo, el aumento del coeficiente de selección con el tamaño de grupo indica que cuanto mayor es n menos negativo es el coeficiente de selección y, por tanto, menor es la intensidad de la selección natural. Es decir, el aumento del tamaño de los grupos en los que se producen las interacciones disminuye la eficacia biológica relativa del fenotipo maestro respecto al fenotipo mutante. Esto implica que la proporción de fenotipo mutante a cualquier tasa de mutación aumenta, lo que se reflejará en un aumento del lastre mutacional con el tamaño de grupo n . Por supuesto, un aumento de la eficacia replicativa del fenotipo mutante se va a traducir en un aumento del umbral de error, ya que el fenotipo mutante será capaz de desplazar al fenotipo maestro a menores tasas de mutación, tal y como se vio en el capítulo 3.

Estado Estacionario	Propiedades	
Estado estacionario I. Coexistencia. Equilibrio selección-mutación (Cuasiespecies)	Población	$x_m = \frac{B_m(Q_m - Q_m c + n Q_m c)}{(B_m - B_k)(n + Q_m(1 - c - n + n c))} - \frac{B_k(n + Q_m - n Q_m - Q_m c + n Q_m c)}{(B_m - B_k)(n + Q_m(1 - c - n + n c))}$ $x_k = 1 - x_m$
	Estabilidad	$B_m Q_m c + \frac{Q_m(B_m - B_k)(1 - c)}{n} > B_k(1 - Q_m + Q_m c)$
	Lastre mutacional	$L_A = \frac{n(1 - Q_m)}{n - (n - 1)Q_m(1 - c)}$
Estado estacionario II. ("Catástrofe de error")	Población	$x_m = 0$ $x_k = 1$
	Estabilidad	$B_m Q_m c + \frac{Q_m(B_m - B_k)(1 - c)}{n} < B_k(1 - Q_m + Q_m c)$
	Lastre mutacional	$L_A = 1 - \frac{B_k}{B_m}$

Tabla 7.1: Resumen de los resultados del modelo de cuasiespecies que interactúan en *trans*, cuando la interacción tiene lugar en grupos de tamaño n , en presencia de mutación, si el fenotipo no tiene una ventaja o desventaja selectiva, $v = 0$. Los valores se han obtenido hallando la solución de estado estacionario del sistema 7.5. La fila llamada "Estabilidad" muestra las condiciones necesarias para que dicho estado estacionario sea asintóticamente estable. Las condiciones se han hallado sustituyendo los valores del estado estacionario en el Jacobiano que se obtiene a partir del sistema 7.5

En el estado estacionario de coexistencia, el lastre mutacional viene determinado por

$$L_A = \frac{n(1 - Q_m)}{n - (n - 1)Q_m(1 - c)} \quad (7.9)$$

De donde se obtiene que la variación del lastre mutacional respecto del tamaño de grupo n viene determinada por:

$$\left(\frac{dL_A}{dn}\right) = \frac{Q_m(1 - c)(1 - Q_m)}{(Q_m + n - Q_m c - Q_m n + Q_m c n)^2} > 0 \quad (7.10)$$

es decir, tal y como era de esperar a partir del resultado obtenido para la variación del coeficiente de selección con n , el lastre mutacional aumenta al aumentar el tamaño de grupo en el que se producen las interacciones. Por supuesto, las interacciones en grupos de tamaño finito no afectan a las dependencias ya estudiadas del lastre mutacional, que sigue disminuyendo al aumentar el factor de calidad por copia o al aumentar el factor de interacción en *cis*.

Al igual que en el capítulo 6, a partir de la condición de estabilidad del estado estacionario I puede obtenerse un valor del umbral de error que depende de n :

$$Q_c = \frac{B_k}{B_m c + (1 - c) \left(\frac{B_m - B_k}{n} + B_k \right)} \quad (7.11)$$

La derivada del umbral de error con respecto a n es:

$$\frac{dQ_c}{dn} = \frac{B_k(B_m - B_k)(1 - c)}{n^2(B_m c + (1 - c)(B_k + \frac{B_m - B_k}{n}))^2} > 0 \quad (7.12)$$

es decir, el umbral de error aumenta con el tamaño de grupo n . Esto implica que cuanto mayor sea el tamaño de grupo, los mutantes se impondrán a menores tasas de mutación, lo que confirma lo esperado al obtener que el coeficiente de selección se haga menos negativo al aumentar el tamaño de grupo n . Obviamente, cuando $n \rightarrow \infty$ tanto el umbral de error como el lastre mutacional tienden a la expresión que se obtiene cuando no se considera interacción en grupos.

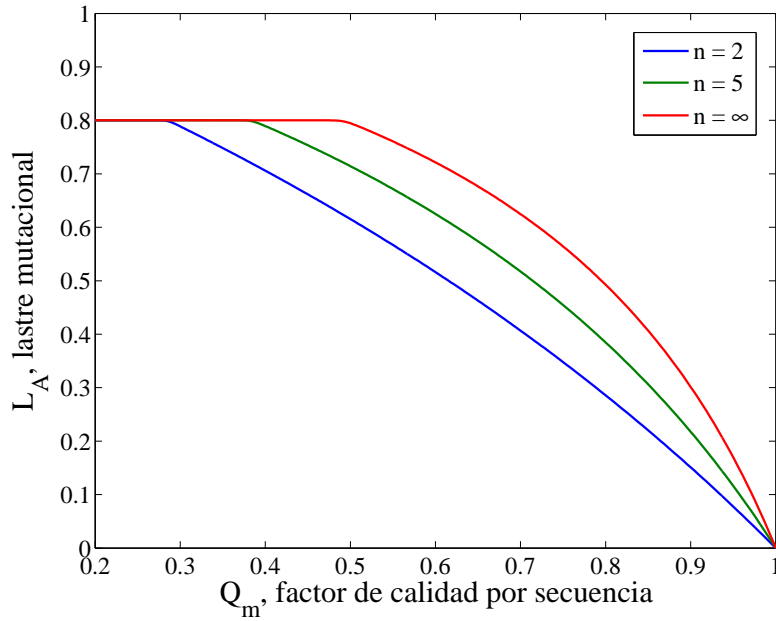


Figura 7.1: Lastre mutacional y umbral de error en función del tamaño de grupo, n . Cuanto mayor es el tamaño de grupo de interacción, menor es el coeficiente de selección del fenotipo maestro sobre el mutante y, por tanto, mayor es el lastre mutacional. $B_m = 10$; $B_k = 2$; $D = 1$; $c = 0.25$

7.2. El fenotipo mutante tiene una ventaja o desventaja selectiva, $v \neq 0$, en ausencia de mutación, $Q_m = 1$.

En esta sección se estudiará qué ocurre cuando el fenotipo mutante presenta una ventaja o una desventaja selectiva de tipo multiplicativo, v , respecto al fenotipo maestro. En primer lugar, se tendrá en cuenta el caso sin mutación, dada su mayor simplicidad.

El sistema de ecuaciones diferenciales en ausencia de mutación viene determinado por:

$$\begin{aligned} \frac{dx_m}{dt} &= \left[cB_m + (1 - c) \left[(B_m - B_k) \left(\frac{1}{n} + \frac{(n-1)}{n} x_m \right) + B_k \right] \right] x_m - D_m x_m - \phi_0 x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= \left[cB_k + (1 - c) \left[(B_m - B_k) \frac{(n-1)}{n} x_m + B_k \right] \right] x_k - D_k x_k - \phi_0 x_k \end{aligned} \quad (7.13)$$

Que también puede expresarse de la siguiente manera

$$\begin{aligned}\frac{dx_m}{dt} &= \left[cB_m + (1-c) \left[B_m x_m + \left(B_k + \frac{(B_m - B_k)}{n} \right) x_k \right] \right] x_m - D_m x_m - \phi_0 x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= \left[cB_k + (1-c) \left[\left(B_m - \frac{(B_m - B_k)}{n} \right) x_m + B_k x_k \right] \right] (1+v) x_k - D_k x_k - \phi_0 x_k\end{aligned}\quad (7.14)$$

Donde

$$\begin{aligned}\phi_0 &= \left[cB_m + (1-c) \left[B_m x_m + \left(B_k + \frac{(B_m - B_k)}{n} \right) x_k \right] \right] x_m \\ &+ \left[cB_k + (1-c) \left[\left(B_m - \frac{(B_m - B_k)}{n} \right) x_m + B_k x_k \right] \right] (1+v) x_k - D\end{aligned}\quad (7.15)$$

La tabla 7.2 presenta un resumen de los resultados obtenidos al resolver los estados estacionarios del sistema 7.14.

El sistema presenta tres posibles estados estacionarios. En el estado estacionario I el único fenotipo presente es el fenotipo maestro. El estado estacionario II está formado exclusivamente por el fenotipo “mutante”, mientras que en el estado estacionario III ambos fenotipos coexisten. El análisis de estabilidad del sistema determina las condiciones en las que cada uno de los estados estacionarios es estable¹. Estas condiciones pueden particularizarse para los diferentes parámetros, n , c y v . Por ejemplo, para el tamaño de grupo n , el estado estacionario I es estable cuando el tamaño de grupo es pequeño,

$$0 < n < 1 + \frac{B_m - B_k(1+v)}{B_m v + c(B_k(1+v) - B_m(1+v))}\quad (7.16)$$

Mientras que el estado estacionario II es estable para tamaños de grupo superiores a un determinado valor umbral:

$$n > \frac{(B_m - B_k)(1-c)}{B_k(c+v) - B_m c}\quad (7.17)$$

Por último, la coexistencia es estable para tamaños de grupo intermedios, cuando se cumple:

$$1 + \frac{B_m - B_k(1+v)}{B_m v + c(B_k(1+v) - B_m(1+v))} < n < \frac{(B_m - B_k)(1-c)}{B_k(c+v) - B_m c}\quad (7.18)$$

En la tabla 7.3 se muestran bajo qué condiciones de los parámetros c y v son estables los diferentes estados estacionarios. De forma similar a lo obtenido para el tamaño de grupo, n , el fenotipo maestro se impone para valores altos de c o pequeños de v . El fenotipo mutante, por el contrario, se impone cuando abundan las interacciones en *trans* o su ventaja selectiva, v , es alta. Para valores intermedios de c o v el estado estacionario es la coexistencia de ambos fenotipos. A partir de la condición de estabilidad del estado estacionario II, se observa que, lógicamente, este estado estacionario no puede ser estable si $B_k = 0$, ya que el fenotipo mutante no podría reproducirse por sí mismo.

¹Aplicando la transformación afín vista en el apéndice B sobre el sistema de ecuaciones 7.13. se obtiene la siguiente matriz de pagos:

$$\begin{bmatrix} B_m & cB_m + (1-c) \left(B_k + \frac{(B_m - B_k)}{n} \right) \\ \left[cB_k + (1-c) \left(B_m - \frac{(B_m - B_k)}{n} \right) \right] (1+v) & B_k(1+v) \end{bmatrix}$$

Estado Estacionario	Propiedades	
Estado estacionario I. Sólo fenotipo maestro	Población	$x_m = 1$ $x_k = 0$
	Estabilidad	$\left[cB_k + (1 - c) \left(B_m - \frac{(B_m - B_k)}{n} \right) \right] (1 + v) < B_m$
	Lastre Interferente	$L_A = 1 - Q_m$
Estado estacionario II. Sólo fenotipo “mutante”	Población	$x_m = 0$ $x_k = 1$
	Estabilidad	$B_m c + \frac{(B_m - B_k)(1 - c)}{n} < B_k(c - v)$
	Lastre Interferente	$L_A = 1 - \frac{B_k(1+v)}{B_m}$
Estado estacionario III. Coexistencia	Población	$x_m = \frac{B_m(1 - c + nc) - B_k(1 - c + nc + nv)}{(1 - c)(B_m - B_k)v(n - 1)}$ $x_k = 1 - x_m$
	Estabilidad	$\left[cB_k + (1 - c) \left(B_m - \frac{(B_m - B_k)}{n} \right) \right] (1 + v) > B_m$ $B_m c + \frac{(B_m - B_k)(1 - c)}{n} > B_k(c - v)$
	Lastre Interferente	$L_A = 1 - \frac{(1 - c + cn)(B_m - B_k)(1 + v)}{B_m nv}$

Tabla 7.2: Resumen de resultados para el modelo de cuasiespecies que interactúan en *trans*, cuando los individuos interactúan en grupos de tamaño n , en ausencia de mutación. El fenotipo mutante tiene una ventaja o desventaja selectiva de tipo multiplicativo, v Los valores se han obtenido hallando la solución de estado estacionario del sistema 7.14. La fila llamada “Estabilidad” muestra las condiciones necesarias para que dicho estado estacionario sea asintóticamente estable. Las condiciones se han hallado sustituyendo los valores del estado estacionario en el Jacobiano que se obtiene a partir del sistema 7.14 En esta tabla se utiliza el *lastre interferente* o *defectivo* en vez del lastre mutacional. El lastre interferente es un tipo de lastre genético que ocurre cuando sólo se tienen en cuenta relaciones tipo defector-cooperador en ausencia de mutación.

Estado estacionario	Es estable si
Estado estacionario I. Sólo fenotipo maestro	$c > \frac{B_k(1+v) - B_m(1+v-nv)}{(B_m - B_k)(n-1)(1+v)}$
	$v < \frac{B_m n}{B_k(1-c+nc) - B_m(1-c-n+nc)} - 1$
Estado estacionario II. Sólo fenotipo mutante	$c < \frac{B_m - B_k(1+nv)}{B_m(n-1) - B_k(n-1)}$ $v > \frac{B_m c - B_k c + \frac{(B_m - B_k)(1-c)}{n}}{B_k}$
Estado estacionario III. Coexistencia	$\frac{B_m - B_k(1+nv)}{B_m(n-1) - B_k(n-1)} < c < \frac{B_k(1+v) - B_m(1+v-nv)}{(B_m - B_k)(n-1)(1+v)}$ $\frac{B_m n}{B_k(1-c+nc) - B_m(1-c-n+nc)} - 1 < v < \frac{B_m c - B_k c + \frac{(B_m - B_k)(1-c)}{n}}{B_k}$

Tabla 7.3: Estabilidad de los estados estacionarios en función de c y v .

7.3. El fenotipo mutante tiene una ventaja o desventaja selectiva de tipo multiplicativo, $v \neq 0$, en presencia de mutación, $Q_m < 1$.

El caso $Q_m < 1$ es más complicado de tratar, siendo difícil obtener analíticamente los estados estacionarios. Sin embargo es posible obtener algunos resultados particulares. La condición de estabilidad del estado estacionario II, compuesto exclusivamente por el fenotipo mutante es:

$$B_m Q_m c + (1-c) Q_m \left(B_k + \frac{B_m - B_k}{n} \right) < B_k(1+v) \quad (7.19)$$

De donde puede obtenerse el umbral de error

$$Q_{m,c} = \frac{B_k(1+v)}{B_m c + (1-c) \left(\frac{B_m - B_k}{n} + B_k \right)} \quad (7.20)$$

cuya única diferencia respecto al valor obtenido para $v = 0$ es la introducción del factor de ventaja selectiva $(1+v)$ en el numerador, por lo que, al igual que en ese caso, el umbral de error aumenta con el tamaño de grupo n . La figura 7.2 muestra el efecto de la ventaja selectiva, v , en el lastre mutacional y en el umbral de error para diferentes valores de n . Tal y como se observa en la figura, el lastre mutacional aumenta al aumentar el valor de v , al igual que el umbral de error. Si se comparan las figuras 7.2a y 7.2b se observa que, como es esperable, el efecto de v , al igual que el propio lastre mutacional, es mayor cuanto mayor sea el tamaño de grupo, n .

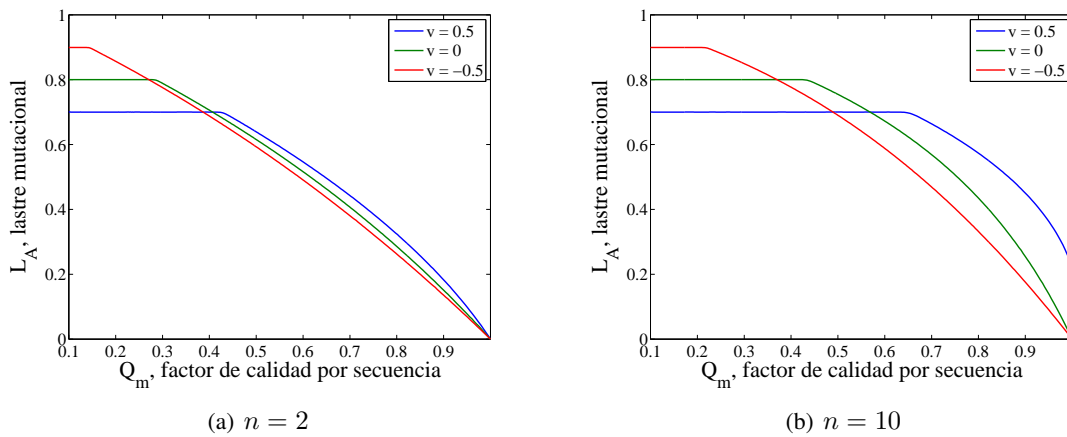


Figura 7.2: Variación del lastre mutacional y el umbral de error con el factor de calidad pro secuencia, Q_m , para diferentes valores de v . El efecto de la ventaja selectiva en *cis*, v , sobre el lastre mutacional es tremendamente dependientes del tamaño del grupo de interacción, n . $B_m = 10$; $B_k = 2$; $D = 1$; $c = 0.25$.

7.4. Aplicación del modelo al fago $\phi 6$: obtención de parámetros a partir de experimentos

Uno de las posibles aplicaciones de los modelos mínimos es la obtención de parámetros a partir de resultados experimentales. Los modelos desarrollados en este trabajo podrían ser utilizados para obtener valores aproximados de los parámetros considerados en los mismos: la relación entre las eficacias biológicas que actúan en *cis-trans*, $\sigma_B = \frac{B_m}{B_k}$, la que sólo actúa en *cis*, v o el factor de interacción en *cis*, c . Como ejemplo de esta posibilidad se utilizarán los resultados experimentales obtenidos por Turner y Chao (1999, 2003) para el fago $\phi 6$ ².

El caso del fago $\phi 6$

El fago $\phi 6$ ha sido estudiado en detalle experimentalmente desde la perspectiva de la teoría de juegos, por Turner y Chao (1999, 2003). En estos trabajos se llegaron a obtener las matrices de pagos para dos poblaciones distintas que habían evolucionado a alta y baja MOI a partir de una población ancestral que sirve como población de referencia para las medidas de eficacia biológica relativa. A continuación se describen brevemente los resultados obtenidos en dichos trabajos.

En primer lugar, Turner y Chao hicieron evolucionar una población a alta MOI ($MOI = 5$) y baja MOI ($MOI = 0.002$) durante unas 250 generaciones (Turner y Chao, 1998) observando que la población evolucionada a alta MOI aumentaba su eficacia biológica gracias a una estrategia tipo defectora al competir con la población ancestral. Para comprobarlo, midieron la dependencia de la eficacia biológica del virus evolucionado a alta MOI respecto a su progenitor respecto a la frecuencia de ambos (Turner y Chao, 1999) obteniendo la siguiente matriz de pagos asociada a su interacción:

$$\begin{bmatrix} 1 & 0.65 \\ 1.99 & 0.83 \end{bmatrix} \quad (7.21)$$

que equivale a un dilema del prisionero, lo que explica porque el virus defector fue capaz de imponerse frente a la variante ancestral. Posteriormente (Turner y Chao, 2003), realizaron los mismos

²Jaime Iranzo fue quien me comentó que era posible aplicar este modelo a los experimentos de Chao y Turner con el fago $\phi 6$ para obtener los parámetros del mismo, por lo que le estoy muy agradecido.

experimentos pero comparando el virus evolucionado a alta MOI (el defector) con el virus evolucionado a baja MOI, que presumiblemente habría evolucionado hacia una estrategia de tipo cooperador. En ese caso, la matriz de pagos obtenida fue:

$$\begin{bmatrix} 1 & 0.56 \\ 1.55 & 0.37 \end{bmatrix} \quad (7.22)$$

Equivalente a un juego de tipo *snowdrift*, lo que predecía que de competir ambas variantes, llegarían a una situación de coexistencia (siendo ambos incapaces de desplazar al otro), hasta que nuevas mutaciones cambiasen la matriz de pagos.

Aplicación del modelo de cuasiespecies que interactúan en *trans*

En la sección anterior se estudió el modelo de cuasiespecies que interactúan en *trans* en condiciones de población constante cuando los individuos interactúan en grupos de tamaño n y el fenotipo mutante presenta una ventaja selectiva en *cis*, v , de tipo multiplicativo en ausencia de mutación. Tal y como se vio en el apéndice B, el sistema de EDO 7.14 planteado en dicha sección podría reducirse a una matriz de pagos de la siguiente forma:

$$\begin{bmatrix} B_m & cB_m + (1-c)\left(B_k + \frac{(B_m - B_k)}{n}\right) \\ \left[cB_k + (1-c)\left(B_m - \frac{(B_m - B_k)}{n}\right)\right] (1+v) & B_k (1+v) \end{bmatrix} \quad (7.23)$$

Esta matriz de pagos puede aplicarse a los resultados obtenidos por Turner y Chao para el fago $\phi 6$, resumidos en las matrices 7.21 y 7.22. Para ello, hay que considerar en primer lugar que los mismos autores obtuvieron un límite máximo para el tamaño de coinfección de entre dos y tres virus por célula (Turner et al., 1999), que posteriormente fue fijado en 2.3 (Dennehy y Turner, 2004). Con este valor de n es posible utilizar la matriz 7.23 para obtener los valores de los parámetros B_m , B_k , v y c asociados a las matrices 7.21 y 7.22.

Para el caso de la matriz de pagos 7.21 que refleja la competición entre el virus evolucionado a alta MOI con su ancestro, se obtiene el siguiente sistema de ecuaciones:

$$\begin{aligned} B_m &= 1 \\ cB_m + (1-c)\left(B_k + \frac{(B_m - B_k)}{n}\right) &= 0.65 \\ \left[cB_k + (1-c)\left(B_m - \frac{(B_m - B_k)}{n}\right)\right] (1+v) &= 1.99 \\ B_k (1+v) &= 0.83 \end{aligned} \quad (7.24)$$

Y, a partir de él, los siguientes valores:

$$\begin{aligned} \sigma_B &= \frac{B_m}{B_k} = 3.99 \\ c &= 0.174 \\ v &= 2.31 \end{aligned} \quad (7.25)$$

Mientras que para el caso de la matriz de pagos 7.22, que refleja el resultado de competir el virus evolucionado a alta MOI con el virus evolucionado a baja MOI se obtiene el siguiente sistema de ecuaciones:

$$\begin{aligned}
B_m &= 1 \\
cB_m + (1 - c) \left(B_k + \frac{(B_m - B_k)}{n} \right) &= 0.56 \\
\left[cB_k + (1 - c) \left(B_m - \frac{(B_m - B_k)}{n} \right) \right] (1 + v) &= 1.55 \\
B_k (1 + v) &= 0.37
\end{aligned} \tag{7.26}$$

Y los siguientes valores:

$$\begin{aligned}
\sigma_B &= \frac{B_m}{B_k} = 7.24 \\
c &= 0.096 \\
v &= 1.681
\end{aligned} \tag{7.27}$$

Antes de comentar los valores obtenidos es interesante destacar que todos los valores excepto c son robustos frente al cambio de valores de n . Así utilizando $n = 3$, se obtiene:

$$\begin{aligned}
\sigma_B &= \frac{B_m}{B_k} = 3.99 \\
c &= 0.299 \\
v &= 2.31
\end{aligned} \tag{7.28}$$

y

$$\begin{aligned}
\sigma_B &= \frac{B_m}{B_k} = 7.24 \\
c &= 0.234 \\
v &= 1.681
\end{aligned} \tag{7.29}$$

respectivamente, en los que, como puede apreciarse, solo se observa cambio en los valores de c . De hecho, aplicando el sistema que no considera confinamiento (equivalente a $n = \infty$) el resultado es $c = 0.53$ y $c = 0.489$ para las matrices 7.21 y 7.22 respectivamente.

Una vez remarcada la dependencia de c respecto de n , se puede discutir los valores obtenidos para v y σ_B . Al comparar el virus defector surgido durante la evolución a alta MOI con su ancestro se observa que el virus defector ha disminuido el valor de la componente de eficacia biológica que puede actuar en *trans* que es 4 veces mayor en su progenitor. Por el contrario, la ventaja selectiva en *cis*, v , ha aumentado considerablemente alcanzado un valor de $v = 2.31$.

Cuando se compara el virus defector con el virus obtenido tras la evolución a baja MOI se observa que la relación entre las componentes de la eficacia biológica que puede compartirse en *trans* es de 7.24, es decir, es 1.81 veces mayor que la que tenía el ancestro sobre el defector. Por otro lado, el valor de v obtenido es $v = 1.681$, que es 1.37 veces menor que el obtenido al comparar el defector con su ancestro. Conjuntamente, estos datos querrían decir que el virus evolucionado a baja MOI ha aumentado su eficacia biológica respecto a su virus progenitor aumentando tanto la componente de la eficacia biológica que sólo actúa en *cis*, representada en v , como la componente que se comparte parcialmente en *trans*, representada en B_i . De hecho, a partir de estos valores es posible obtener que el virus evolucionado a baja MOI tiene un $\sigma_B = \frac{B_m}{B_k} = 1.81$ y un $v = 0.23$ sobre el virus progenitor.

En cuanto al valor de c , independientemente de su valor concreto, la interacción en *trans* es mayor cuando se compara el defector con su ancestro que cuando se compara el defector con el virus evolucionado a baja *MOI*.

7.5. Conclusión

Los resultados obtenidos en este capítulo muestran que el efecto interferente de los mutantes defectores aumenta al aumentar el tamaño de los grupos en los que tiene lugar la interacción. Sin embargo, los resultados obtenidos en este capítulo en lo referente a las relaciones genético-evolutivas entre fenotipo mutante y maestro no se pueden extrapolar con facilidad al caso de población variable. En este caso, un mayor efecto interferente disminuiría la capacidad replicativa media de la población y, con ella, el tamaño de la misma, lo que llevaría a una disminución del tamaño de grupo promedio. Más adelante, en los capítulos 10, 11 y 12 se estudiará, desde diferentes perspectivas, el efecto de la densidad sobre las interacciones entre fenotipos en condiciones de población variable y cómo afecta aquella al proceso de extinción por defeción letal. Antes, en los capítulos 8 y 9 se estudiará el proceso de extinción cuando se considera que todos los individuos interactúan entre sí, sin tener en cuenta el efecto de la densidad sobre sus interacciones.

Capítulo 8

Dinámica evolutiva del modelo de cuasiespecies y juegos de bienes públicos en condiciones de población variable

El estudio del modelo en condiciones de población constante ha permitido estudiar la dinámica evolutiva del sistema en presencia y ausencia de mutación. Sin embargo para estudiar la extinción de una población es necesario tener en cuenta la dinámica demográfica de la población y, por tanto, considerar un escenario de población variable. Como se muestra en el apéndice A, considerar explícitamente la necesidad de un monómero μ para que las especies puedan replicarse, junto con la condición de que la suma de las concentraciones de dicho monómero y de las especies autorreplicantes es constante, $m\mu + x_m + x_k = N$, es equivalente a considerar una restricción de tipo logístico. De esta forma, los sistemas generales 5.8 y 5.9 quedarían de la siguiente forma

$$\frac{dx_i}{dt} = \left(N - \sum_i x_i \right) \sum_{j \neq i} \alpha_j [cB_j + (1-c)\bar{B}] Q_{ij}x_j - D_i x_i \quad (8.1)$$

$$\frac{dx_i}{dt} = \left(N - \sum_i x_i \right) \sum_{j \neq i} [cB_j + (1-c)\bar{B} + \beta_j] Q_{ij}x_j - D_i x_i \quad (8.2)$$

Al considerar población variable, los sistemas 8.1 y 8.2 ya no son equivalentes a un hiperciclo o un modelo de TJE con población variable. El motivo es que el término que representa la interacción en *trans*, el recurso compartido por la población, $(1-c) \frac{B_m x_m + B_k x_k}{x_m + x_k} x_i$, está normalizado por la concentración total de especie autorreplicativa $x_m + x_k$, pudiendo variar entre $(1-c) B_m$ y $(1-c) B_k$ cuando $x_k = 0$ y $x_m = 0$, respectivamente. De esta forma ambos términos son de tipo autorreplicativo y la población crece según una dinámica autorreplicativa tipo cuasiespecie y no autocatalítica tipo hiperciclo. Aun así, el factor de amplificación de los individuos de la población sigue dependiendo de la frecuencia del resto de individuos en la población y esa dependencia es mayor o menor según el factor de interacciones en *cis*, c . La ventaja de este modelo es que al seguir teniendo un sistema con cinética autorreplicativa y no autocatalítica, el tratamiento matemático es ligeramente más sencillo.

8.1. El fenotipo mutante no tiene una ventaja o desventaja selectiva, $v = 0, w = 0$

En primer lugar se estudiará el comportamiento demográfico del sistema cuando se considera que el fenotipo mutante no presenta una ventaja o desventaja selectiva en *cis* frente al fenotipo maestro. En este caso, una vez considerado el paisaje de eficacia biológica *Single-Peak*, se obtiene el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias:

$$\begin{aligned}\frac{dx_m}{dt} &= (N - x_m - x_k)Q_m\left[cB_m + (1 - c)\frac{B_mx_m + B_kx_k}{x_m + x_k}\right]x_m - Dx_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= (N - x_m - x_k)\left([cB_k + (1 - c)\frac{B_mx_m + B_kx_k}{x_m + x_k}]x_k \right. \\ &\quad \left. + (1 - Q_m)[cB_m + (1 - c)\frac{B_mx_m + B_kx_k}{x_m + x_k}]x_m\right) - Dx_k\end{aligned}\quad (8.3)$$

Los resultados obtenidos de resolver este sistema se presentan resumidos en la Tabla 8.1-

Como se observa en la tabla 8.1, se obtienen tres estados estacionarios: la cuasiespecie, o equilibrio selección-mutación, el compuesto exclusivamente por el fenotipo maestro, denominado catástrofe de error, y la extinción. Puesto que en este sistema se considera población variable y, con ella, la posibilidad de que las poblaciones se extingan, la estabilidad de los estados estacionarios I y II depende de una condición de estabilidad demográfica y de una condición de estabilidad genética. Esta segunda condición es la misma que la obtenida en el caso en el que se aplicaba la restricción de población constante, lo que muestra que, en este caso, es posible “desacoplar” la dinámica selectiva de la dinámica demográfica. A partir de esta condición pueden obtenerse los valores críticos para el factor de calidad y el grado de interacciones *cis*, que son iguales a los estudiados en el capítulo 6 (ecu. 6.11 y 6.12)

La condición de estabilidad demográfica del estado estacionario I viene definida por:

$$\frac{NB_mQ_m c}{1 - Q_m + Q_m c} > D \quad (8.4)$$

de donde es posible obtener un umbral de extinción para la tasa de mutación despejando Q_m , obteniendo:

$$Q_{ex} = \frac{D}{D(1 - c) + NB_m c} \quad (8.5)$$

El umbral de extinción también puede expresarse en función de la eficacia biológica absoluta el fenotipo maestro $R_m = \frac{B_m}{D}$:

$$Q_{ex} = \frac{1}{(1 - c) + NR_m c} \quad (8.6)$$

Igualmente, puede obtenerse un valor mínimo del factor de interacción en *cis*, c necesario para que el sistema sea estable demográficamente:

$$c_{ex} = \frac{D(1 - Q_m)}{Q_m(B_m N - D)} = \frac{(1 - Q_m)}{Q_m(R_m N - 1)} \quad (8.7)$$

Centrándonos en el umbral de extinción del sistema, se obtiene que, puesto que:

Estado Estacionario	Propiedades	
Estado estacionario I. Coexistencia. Equilibrio selección-mutación (Cuasiespecies)	Población	$x_m = \frac{(B_k - B_k Q_m + B_k Q_m c - B_m Q_m c)(D Q_m - D - D Q_m c + B_m N Q_m c)}{(B_m Q_m c(1 - Q_m + Q_m c)(B_k - B_m)}$ $x_k = \frac{(D Q_m - D - D Q_m c + B_m N Q_m c)(1 - Q_m)}{(Q_m c(1 - Q_m + Q_m c)(B_m - B_k)}$
	Estabilidad	$\frac{N B_m Q_m c}{1 - Q_m + Q_m c} > D \quad \frac{B_m Q_m c}{1 - Q_m + Q_m c} > B_k$
	Productividad media	$\bar{E} = \frac{B_m Q_m c}{1 - Q_m(1 - c)} N - D$
	Lastre mutacional	$L = \frac{1 - Q_m}{1 - Q_m + Q_m c}$
Estado estacionario II. “Catástrofe de error”	Población	$x_m = 0 \quad x_k = N - \frac{D}{B_k}$
	Estabilidad	$B_k N > D \quad \frac{B_m Q_m c}{1 - Q_m + Q_m c} > B_k$
	Productividad media	$\bar{E} = B_k N - D$
	Lastre mutacional	$L_A = 1 - \frac{B_k}{B_m}$
Estado estacionario III. Extinción.	Población	$x_m = 0 \quad x_k = 0$
	Estabilidad	$D > B_k N \quad D > \frac{N B_m Q_m c}{1 - Q_m + Q_m c}$
	Productividad media	$\bar{E} = 0$
	Lastre mutacional	$L = 1$

Tabla 8.1: Resumen de los resultados para el modelo de cuasiespecies que interactúan en *trans* en condiciones de población variable, cuando el fenotipo mutante no tiene una ventaja o desventaja selectiva en *cis*, $v = 0$ Los valores se han obtenido hallando la solución de estado estacionario del sistema 8.3. La fila llamada “Estabilidad” muestra las condiciones necesarias para que dicho estado estacionario sea asintóticamente estable. Las condiciones se han hallado sustituyendo los valores del estado estacionario en el Jacobiano que se obtiene a partir del sistema 8.3

$$\left(\frac{dQ_{ex}}{dc}\right) = -\frac{(R_m N - 1)}{(1 - c + R_m N c)^2} < 0 \quad (8.8)$$

el umbral de extinción aumenta cuando disminuye c , es decir, un aumento de las interacciones en *trans* disminuye la tasa de mutación a la cual la población se extingue. En la figura 8.1 puede observarse claramente esta dependencia.

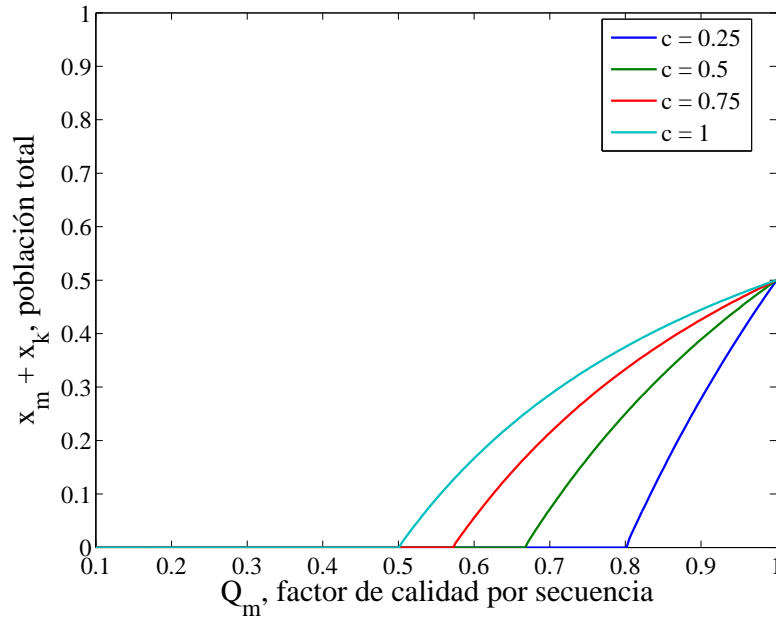


Figura 8.1: Variación de la población total con el factor de calidad por secuencia para diferentes valores de c . Cuanto mayor es el factor de interacción en *cis*, y por tanto, menores son las interacciones en *trans*, menor es el umbral de extinción. $B_m = 10$; $B_k = 2$; $D = 3$; $c = 0.25$; $N = 1$

Por otro lado, puesto que

$$\left(\frac{dQ_{ex}}{dR_m}\right) = \frac{-Nc}{(1 - c + R_m N c)^2} < 0 \quad (8.9)$$

y

$$\left(\frac{dQ_{ex}}{dN}\right) = \frac{-R_m c}{(1 - c + R_m N c)^2} < 0 \quad (8.10)$$

el umbral de extinción disminuye al aumentar la eficacia biológica absoluta del fenotipo maestro, R_m , es decir, cuando disminuye el factor de degradación, D , o aumenta la contribución del fenotipo maestro, B_m . El umbral de extinción también disminuye al aumentar la concentración total de moléculas en el reactor de flujo, N .

Por otro lado, la condición de estabilidad demográfica del estado estacionario II viene determinada por:

$$B_k N > D \quad (8.11)$$

que es equivalente a

$$R_k N > 1 \quad (8.12)$$

y que no depende ni de Q_m ni de c . Al igual que en el caso en el que no se consideran interacciones en *trans*, más allá del umbral de error el sistema es insensible a la tasa de mutación y, por tanto, no puede extinguirse por aumentos en la misma. Por supuesto, para ser asintóticamente estable, el estado estacionario III, la extinción, necesita que se cumplan ambas condiciones a la vez, es decir, es necesario que ni la cuasiespecie ni el fenotipo mutante sean estables demográficamente.

Es interesante detenerse en el caso particular en el que el fenotipo mutante no contribuye al bien público, es decir cuando $B_k = 0$. En este caso, la dinámica del sistema es más simple, lo que se refleja en la existencia de sólo dos estados estacionarios: la cuasiespecie y la extinción. El fenotipo mutante no puede replicarse por sí mismo y, por tanto, ni hay umbral de error, ni tampoco un estado estacionario en el que el fenotipo mutante este presente por sí sólo. Puesto que en el paisaje de eficacias biológicas tipo *Single-Peak*, al menos cuando $v = 0$, la eficacia biológica promedio no depende de la contribución del fenotipo mutante, el umbral de extinción es el mismo que en el caso $B_k \neq 0$.

Mutación, extinción y catástrofe de error en cuasiespecies que interactúan en *trans*

En el apéndice A se muestra que, en el paisaje de eficacia biológica tipo *Single-Peak*, el comportamiento al aumentar la tasa de mutación depende esencialmente de la relación entre el umbral de error y el umbral de extinción. Si el umbral de error es mayor que el umbral de extinción, el fenotipo mutante se impone en la población y, por tanto, la población no puede extinguirse, dado que más allá del umbral de error ésta no es sensible a la tasa de mutación. Por el contrario, si el umbral de extinción es mayor que el umbral de error, el sistema se extingue antes de que el fenotipo mutante se imponga en la población. El que ocurra una cosa o la otra depende de la estabilidad demográfica del fenotipo mutante. Si el fenotipo mutante es estable demográficamente el umbral de error es mayor que el umbral de extinción y, por tanto, el fenotipo mutante se impone antes de que la población se extinga. Por el contrario, si el fenotipo mutante no es demográficamente estable, el umbral de extinción es superior al umbral de error, por lo que la población se extingue antes de que el fenotipo mutante se imponga. Este comportamiento se observaba también en presencia de letalidad (capítulo 4), de donde se podía derivar el concepto de letalidad crítica. Pues bien, a partir de las expresiones del umbral de error y el umbral de extinción obtenidas en presencia de interacciones en *trans* es posible comprobar que la presencia de éstas no cambia este comportamiento del paisaje de eficacia biológica tipo *Single-Peak*. Teniendo en cuenta que $Q_{ex} = \frac{1}{(1-c) + NR_m c}$ y que $Q_c = \frac{B_k}{B_k(1-c) + B_m c}$ Es posible demostrar que, en este paisaje, para que se cumpla que $Q_{ex} > Q_c$ y el sistema pueda extinguirse cuando se aumenta la tasa de mutación, es necesario que $B_k N < D$.

8.2. El fenotipo mutante tiene una ventaja o desventaja selectiva, w . Modelo aditivo

El modelo logístico con población variable puede estudiarse en el caso en el que se supone una ventaja o desventaja de tipo aditivo, w , para el fenotipo mutante. En este caso, el sistema de ecuaciones diferenciales viene definido por:

$$\begin{aligned}
\frac{dx_m}{dt} &= (N - x_m - x_k)Q_m \left[cB_m + (1 - c) \frac{B_m x_m + B_k x_k}{x_m + x_k} \right] x_m - Dx_m \\
\frac{dx_k}{dt} &= (N - x_m - x_k) \left([cB_k + (1 - c) \frac{B_m x_m + B_k x_k}{x_m + x_k} + w] x_k \right. \\
&\quad \left. + (1 - Q_m) \left[cB_m + (1 - c) \frac{B_m x_m + B_k x_k}{x_m + x_k} \right] x_m \right) - Dx_k
\end{aligned} \tag{8.13}$$

La tabla 8.2 muestra los resultados obtenidos al hallar los estados estacionarios del sistema de EDO.

A partir de la productividad media en el estado estacionario I es posible obtener el umbral de extinción en dicho estado estacionario, que es valor es aquel valor de Q_m para el cual, suponiendo $N = 1$, se cumple que $\bar{A} - D < 1$. De esta forma se obtiene:

$$Q_{ex} = \frac{D(B_m - B_k - w)}{B_m((B_m - B_k)c - w) + D(B_m(1 - c) - B_k(1 - c))} \tag{8.14}$$

A partir de esta expresión se puede estudiar su variación respecto a los parámetros del modelo. En primer lugar, como en el caso en ausencia de ventaja del fenotipo mutante, el umbral de error disminuye cuando aumenta c , es decir, cuanto mayores son las interacciones en *trans* menor es la tasa de mutación necesaria para extinguir la población.

$$\left(\frac{dQ_{ex}}{dc} \right) = - \frac{D(B_m - B_k - w)(B_m - D)(B_m - B_k)}{(B_m w - B_m^2 c + B_k D - B_m D + B_k B_m c - B_k D c + B_m D c)^2} < 0 \tag{8.15}$$

Así mismo, el umbral de extinción aumenta al aumentar la ventaja del fenotipo mutante, w :

$$\left(\frac{dQ_{ex}}{dw} \right) = \frac{D(1 - c)(B_m - D)(B_m - B_k)}{(B_m w - B_m^2 c + B_k D - B_m D + B_k B_m c - B_k D c + B_m D c)^2} > 0 \tag{8.16}$$

tal y como se observa en la figura 8.2

Finalmente, el umbral de extinción aumenta o disminuye al aumentar contribución del fenotipo mutante, B_k dependiendo del valor de w , tal y como muestra la ecuación 8.17:

$$\left(\frac{dQ_{ex}}{dB_k} \right) = \frac{Dv(1 - c)(B_m - D)}{(B_m w - B_m^2 c + B_k D - B_m D + B_k B_m c - B_k D c + B_m D c)^2} \tag{8.17}$$

Tal y como se observa en la figura 8.3, en el caso $w < 0$ esa variación es muy pequeña y puede, simplemente, despreciarse. En el caso $w > 0$, la variación es mayor, pero tampoco es excesivamente marcada. Por supuesto, este resultado es la consecuencia, en condiciones de población variable, del efecto que se vio en la sección 6.3.2. en la que la dependencia del lastre mutacional con la superioridad, dependía de si w era una ventaja o una desventaja selectiva.

8.3. El fenotipo mutante tiene una ventaja selectiva, v . Modelo multiplicativo en presencia de mutación, $Q_m < 1$

Cuando se considera que el fenotipo mutante tiene una ventaja selectiva de tipo multiplicativo, v , los factores de amplificación toman la siguiente forma:

Estado Estacionario	Propiedades	
Estado estacionario I. Coexistencia. Equilibrio selección-mutación (Cuasiespecies)	Población	$x_m = \left(N - \frac{D((B_m - B_k)(1 - Q_m + Q_m c) - w)}{B_m Q_m ((B_m - B_k) c - w)} \right)$ $\left(\frac{(B_m Q_m c - B_k(1 - Q_m + Q_m c) + w)}{B_m - B_k(1 - Q_m + Q_m c) - w} \right)$ $x_k = \left(N - \frac{D((B_m - B_k)(1 - Q_m + Q_m c) - w)}{B_m Q_m ((B_m - B_k) c - w)} \right)$ $\left(\frac{B_m(1 - Q_m)}{(B_m - B_k)(1 - Q_m + Q_m c) - w} \right)$
	Estabilidad	$N \frac{B_m Q_m ((B_m - B_k) c - w)}{((B_m - B_k)(1 - Q_m + Q_m c) - w)} > D$ $\frac{B_m Q_m c}{1 - Q_m + Q_m c} > B_k + w$
	Productividad media	$\bar{E} = \frac{B_m Q_m ((B_m - B_k) c - w)}{(B_m - B_k)(1 - Q_m + Q_m c) - w} - D$
	Lastre mutacional	$L = \frac{(1 - Q_m)(B_m - B_k - w)}{(B_m - B_k)(1 - Q_m + Q_m c) - w}$
Estado estacionario II. “Catástrofe de error”	Población	$x_m = 0 \quad x_k = N - \frac{D}{B_k + w}$
	Estabilidad	$(B_k + w) N > D \quad \frac{B_m Q_m c}{1 - Q_m + Q_m c} > B_k + w$
	Productividad media	$\bar{E} = (B_k + w) N - D$
	Lastre mutacional	$L_A = 1 - \frac{B_k + w}{B_m}$
Estado estacionario III. Extinción.	Población	$x_m = 0 \quad x_k = 0$
	Estabilidad	$D > (B_k + w) N \quad D > N (B_m Q_m c + B_k Q_m (1 - c))$
	Productividad media	$\bar{E} = 0$
	Lastre mutacional	$L = 1$

Tabla 8.2: Resumen de resultados del modelo de cuasiespecies que interactúan en *trans* en condiciones de población variable, cuando el fenotipo mutante tiene una ventaja o desventaja selectiva, w , aditiva
 Los valores se han obtenido hallando la solución de estado estacionario del sistema 8.13. La fila llamada “Estabilidad” muestra las condiciones necesarias para que dicho estado estacionario sea asintóticamente estable. Las condiciones se han hallado sustituyendo los valores del estado estacionario en el Jacobiano que se obtiene a partir del sistema 8.13

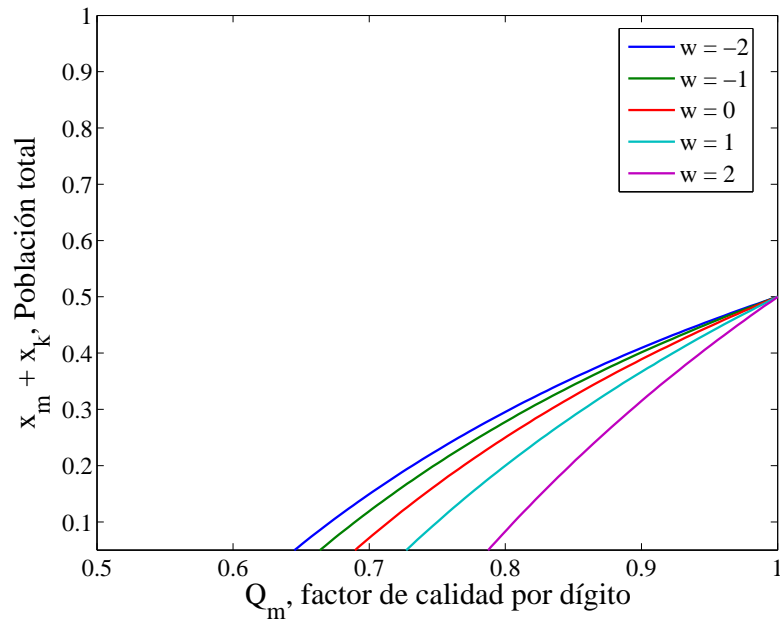


Figura 8.2: Variación de la población total con el factor de calidad por dígito para diferentes valores de w . Cuanto mayor es el valor de la ventaja selectiva en *cis*, w , mayor es el umbral de extinción. $B_m = 10$; $B_k = 2$; $D = 5$; $c = 0.5$; $N = 1$.

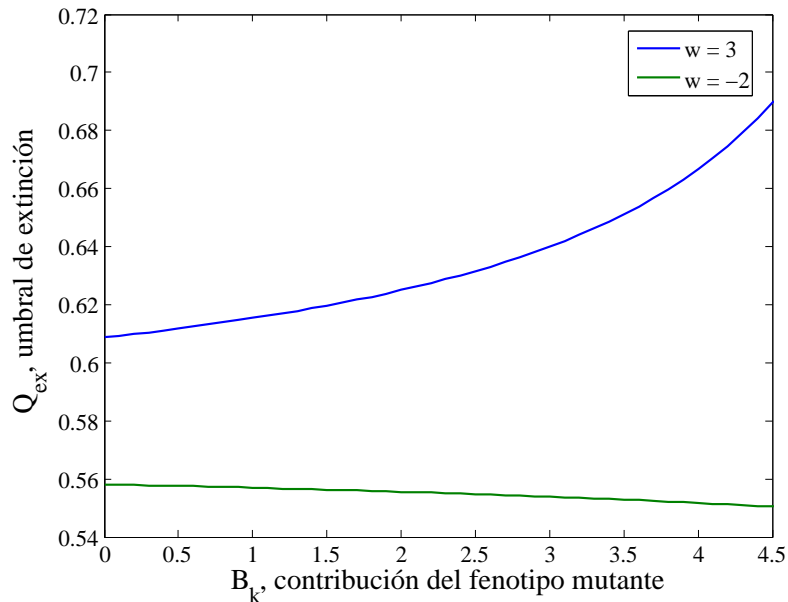


Figura 8.3: Variación del umbral de extinción con la contribución del fenotipo mutante, B_k , para diferentes valores de w . La variación del umbral de extinción con la contribución del fenotipo mutante al bien público, B_k , depende de si w es una ventaja o una desventaja selectiva. $B_m = 10$; $D = 5$; $c = 0.75$; $N = 1$.

$$\begin{aligned}
A_m(x_m, x_k) &= cB_m + (1 - c)\bar{B} = cB_m + (1 - c)\frac{B_mx_m + B_kx_k}{x_m + x_k} \\
A_k(x_m, x_k) &= cB_k + (1 - c)\bar{B}(1 + v) = cB_k + (1 + v)(1 - c)\frac{B_mx_m + B_kx_k}{x_m + x_k}
\end{aligned} \tag{8.18}$$

En presencia de mutación, el sistema de EDO viene definido por:

$$\begin{aligned}
\frac{dx_m}{dt} &= (N - x_m - x_k)Q_m\left[cB_m + (1 - c)\frac{B_mx_m + B_kx_k}{x_m + x_k}\right]x_m - Dx_m \\
\frac{dx_k}{dt} &= (N - x_m - x_k)\left[(1 + v)\left(cB_k + (1 - c)\frac{B_mx_m + B_kx_k}{x_m + x_k}\right)\right]x_k \\
&\quad + (1 - Q_m)\left[cB_m + (1 - c)\frac{B_mx_m + B_kx_k}{x_m + x_k}\right]x_m - Dx_k
\end{aligned} \tag{8.19}$$

Al igual que en el caso en el que se consideraba población constante, la introducción del factor $1 + v$ hace que las expresiones explícitas de los estados estacionarios en presencia de mutación sean bastante complicadas y difíciles de interpretar. Por este motivo, en esta sección se utilizará una aproximación fundamentalmente numérica para el estudio del umbral de extinción y de sus dependencias.

El sistema presenta tres estados estacionarios: un estado estacionario I en el que la distribución de población adopta una distribución tipo cuasiespecie, un estado estacionario II en el que la población está compuesta exclusivamente por el fenotipo mutante y, por último, un estado estacionario III que se corresponde con la extinción de la población. Las condiciones que determinan la estabilidad genética del estado estacionario II son idénticas a las descritas en la sección 6.4., obteniéndose un valor umbral para la tasas de mutación, Q_m , la ventaja selectiva del mutante, v , y el factor de interacción en *cis*, c . En cuanto al estado estacionario de extinción, es estable cuando $B_kN(1 + v) < D$ y $(B_k(1 - c) + B_mc)Q_mN < D$.

En primer lugar se estudiará cómo afecta la ventaja o desventaja selectiva del fenotipo mutante al umbral de extinción. La expresión del umbral de extinción en este caso es muy complicada y aporta poca información. Sin embargo si se tiene en cuenta que el umbral de extinción se deriva de la expresión $\bar{A}N - D = 0$, es posible estudiar el comportamiento del factor de amplificación medio en determinados casos extremos. Por ejemplo, en primer lugar se puede estudiar el caso $v = -1$. Estos mutantes son incapaces de replicarse ya que $A_k = 0$ (son, por tanto, mutantes letales) pero sí que contribuyen al recurso común de la población. Cuando $v = -1$, en el estado de coexistencia se cumple que

$$\begin{aligned}
y_m &= Q_m \\
y_k &= 1 - Q_m
\end{aligned} \tag{8.20}$$

Lo que implica, lógicamente, que el fenotipo mutante está representados en la medida en que se produce por mutación a partir del fenotipo viable. Sustituyendo en la expresión del factor de amplificación medio, se obtiene que:

$$\bar{A}(v = -1) = B_m(Q_m c + Q_m^2 - Q_m^2 c) + B_k(Q_m - Q_m c - Q_m^2 + Q_m^2 c) \tag{8.21}$$

De forma que puede demostrarse que, para cualquier tasa de mutación :

$$\bar{A}(v = -1) > \bar{A}(v = 0) \tag{8.22}$$

y, por tanto, que

$$Q_{ex}(v = -1) < Q_{ex}(v = 0) \quad (8.23)$$

Numéricamente se comprueba que esta predicción es válida para valores de v intermedios entre 0 y -1, y también para valores de v mayores que 0. Es decir,

$$Q_{ex}(v = -1) < Q_{ex}(v = 0) < Q_{ex}(v > 0) \quad (8.24)$$

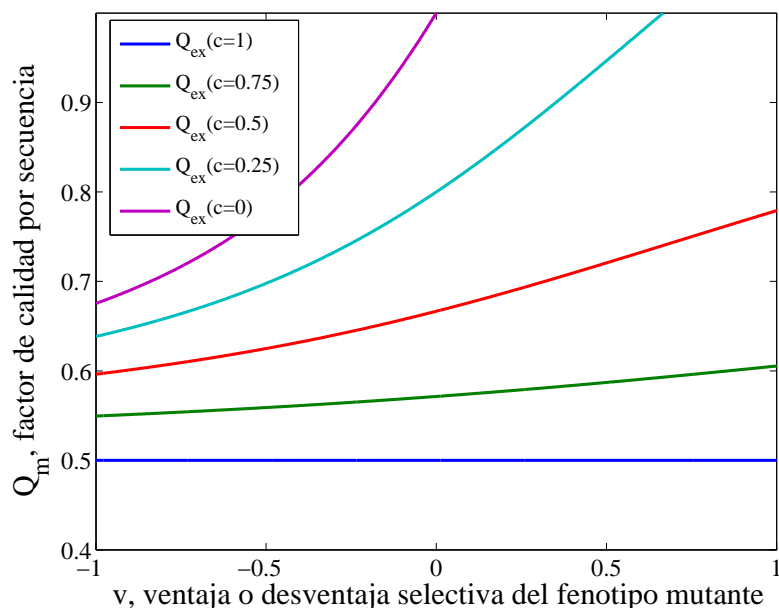


Figura 8.4: Umbral de extinción en función de la ventaja o desventaja selectiva del fenotipo mutante en cis , v , para varios grados de interacción en cis , c . La variación del umbral de extinción con v depende del factor de interacción en cis , pero salvo para $c = 1$, siempre aumenta al aumentar v . $B_m = 10$; $B_k = 2$; $D = 5$; $N = 1$.

En la figura 8.4 puede observarse este aumento de Q_m con v siempre que $c < 1$. Este resultado no es excesivamente sorprendente: al aumentar el factor v , el fenotipo mutante aumenta su eficacia biológica relativa y, por tanto, aumenta el lastre mutacional. La figura muestra claramente no sólo como el umbral de extinción disminuye al disminuir v , es decir, cuando el fenotipo mutante pierde capacidad replicativa respecto al fenotipo mutante, sino que el propio efecto de v sobre el umbral de extinción es mayor cuanto mayor es la interacción en $trans$. Lógicamente, el valor máximo del umbral de extinción se encuentra cuando $c = 0$. En este caso, el umbral de extinción sólo existe para $v < 0$, ya que cuando $v \geq 0$ el fenotipo mutante se impone al fenotipo maestro, para cualquier valor de Q_m .

Cuando no hay interacción en $trans$, $c = 1$, el umbral de extinción viene determinado por $Q_{ex} = \frac{D}{B_m}$ y, por tanto, no depende de v . Este valor del umbral de extinción es, además, el valor mínimo que puede alcanzar, ya que la extinción se ve favorecida al aumentar las interacciones en $trans$, esto es, al disminuir c .

La figura 8.5 muestra la variación de la población total (el fenotipo mutante más el fenotipo maestro) respecto al factor de calidad por secuencia, Q_m , para tres valores de v y dos valores de c . En ella se observa cómo disminuye el tamaño poblacional al disminuir el factor de calidad, y cómo esa disminución es menor, cuanto mayor sea v . Al igual que en la figura 8.4, se observa que el umbral de extinción, Q_{ex} , es mayor cuanto mayor es v , siendo este efecto de la ventaja selectiva, sobre el

umbral de extinción y el tamaño poblacional mayor cuanto mayor sean las interacciones en *trans* en la población.

Cuando no se considera una ventaja o desventaja selectiva del fenotipo mutante se vio que el umbral de extinción no dependía de la contribución del fenotipo mutante a la eficacia replicativa poblacional, B_k . Al considerar una ventaja de tipo aditivo, w el umbral de extinción sí que depende de B_k , pero aquel aumenta o disminuye con B_k dependiendo de si w es mayor o menor que cero.

Al considerar una ventaja o desventaja selectiva del fenotipo mutante respecto al fenotipo maestro, v , de tipo multiplicativo, el umbral de extinción también depende de B_k y lo hace de la misma manera que en el modelo aditivo. La figura 8.6 muestra que la dependencia es positiva o negativa dependiendo de si v representa una ventaja ($v > 0$) o una desventaja selectiva ($v < 0$). Cuando v representa una ventaja selectiva ($v > 0$), el umbral de extinción aumenta al aumentar B_k , es decir, cuanto mayor sea la contribución del fenotipo mutante a la eficacia replicativa de la población, menor es la tasa de mutación a la que se extingue la población. Por el contrario, cuando v representa una desventaja selectiva ($v < 0$), el aumento de B_k provoca una disminución del umbral de extinción. Al igual que en el caso en el que se consideraba una ventaja selectiva de tipo aditivo, este resultado se la expresión en condiciones de población variable de que el efecto de la superioridad sobre el lastre mutacional dependa del signo de v .

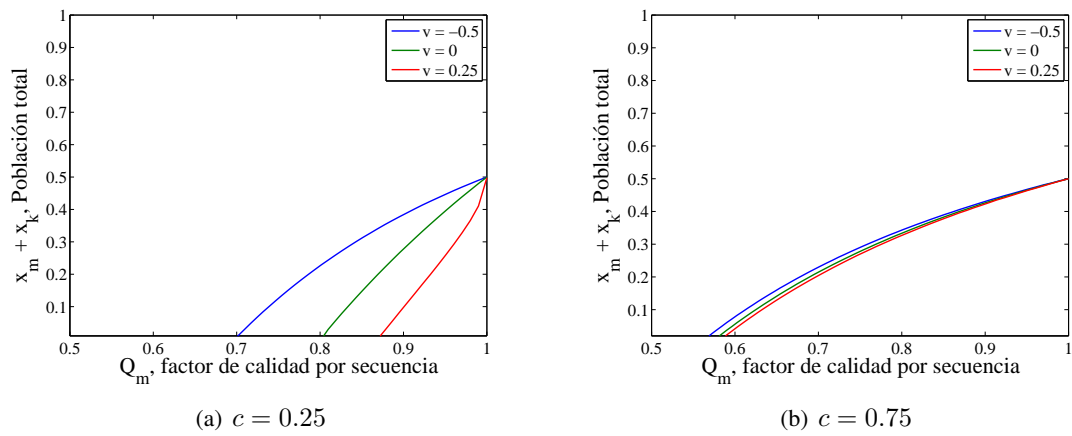


Figura 8.5: Variación de la población total respecto al factor de calidad por secuencia para varios valores de v para dos valores de c . El umbral de extinción aumenta al aumentar v , pero la significatividad de dicho aumento depende del grado de interacción en c is. $B_m = 10$; $B_k = 2$; $D = 5$; $N = 1$.

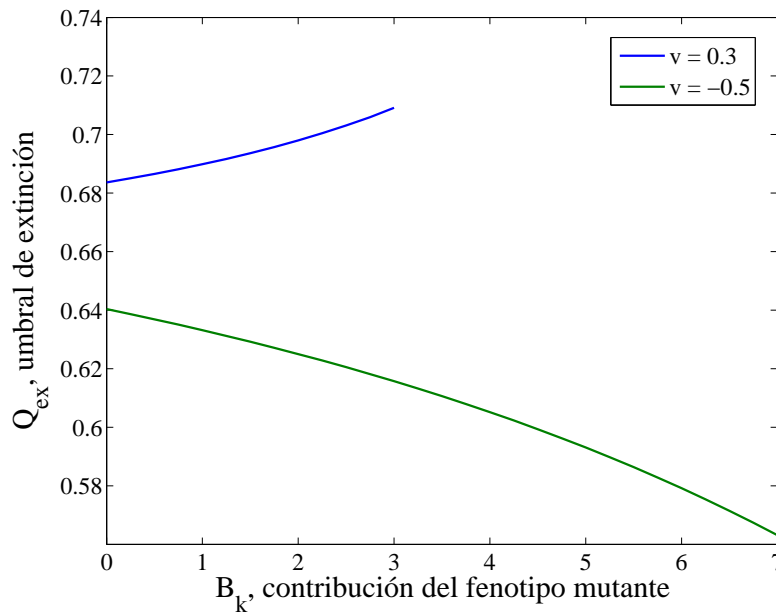


Figura 8.6: Variación del umbral de extinción respecto a B_k para dos valores diferentes de v La variación del umbral de extinción con la contribución del fenotipo mutante al bien público B_k depende de si v es una ventaja ($v > 0$) o una desventaja ($v < 0$) replicativa. Las dos curvas no llegan hasta el mismo valor de B_k , porque diferentes v implican que el umbral de error se produce a diferentes valores de B_k . $B_m = 10$; $D = 5$; $c = 0.5$; $N = 1$.

Capítulo 9

Modelo de cuasiespecies y juegos de bienes públicos en presencia de letalidad

En el capítulo 4 se estudió el efecto de la letalidad en el modelo de cuasiespecies clásico, viéndose que el aumento de la letalidad disminuía el umbral de error y que, cuando se consideraban l “posiciones letales” en la secuencia, aumentaba el umbral de extinción más allá del umbral de error. Sin embargo, el umbral de extinción de la población más allá de un determinado valor de letalidad a partir del cual la población se extinguía antes de entrar en catástrofe de error, valor que se denominó letalidad crítica, no dependía del valor de la letalidad.

En este capítulo se estudiará el efecto de la letalidad sobre una cuasiespecie con interacciones en *trans*. Para ello se considerarán tres fenotipos, al igual que en el capítulo 4: el fenotipo maestro, m , el fenotipo mutante, k , y un tercer fenotipo denominado letal, l . El esquema de letalidad utilizado será el mismo que el utilizado en la sección 4.3 que supone que, en una secuencia de tamaño ν , existen l posiciones cuya mutación da lugar a un mutante letal, esto es, incapaz de replicarse. En este caso, se considera que el fenotipo denominado letal es incapaz de ser replicado o de contribuir al bien público, es decir: $B_l = 0$. Puesto que la consideración de un tercer fenotipo complica el análisis del sistema de ecuaciones diferenciales, en este capítulo sólo se estudiará el caso en el que el fenotipo mutante carece de una ventaja o desventaja selectiva en *cis* sobre el fenotipo maestro ($v = 0$, $w = 0$). Los valores de las tasas de mutación entre fenotipos son los mismos que se usaron en el capítulo 4 (ecu. 4.12). Teniendo esto en cuenta, el sistema de EDO que determina el comportamiento del sistema, suponiendo una restricción al crecimiento de tipo logístico, viene definido por:

$$\begin{aligned}\frac{dx_m}{dt} &= (1 - x_m - x_k - x_l) \left[cB_m + (1 - c) \frac{B_m x_m + B_k x_k}{x_m + x_k} \right] q^\nu x_m - Dx_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= (1 - x_m - x_k - x_l) \left(\left[cB_m + (1 - c) \frac{B_m x_m + B_k x_k}{x_m + x_k} \right] q^l (1 - q^{\nu-l}) x_m \right) \\ &\quad + (1 - x_m - x_k - x_l) \left(\left[cB_k + (1 - c) \frac{B_m x_m + B_k x_k}{x_m + x_k} \right] q^l x_k \right) - Dx_k \\ \frac{dx_l}{dt} &= (1 - x_m - x_k - x_l) \left(\left[cB_m + (1 - c) \frac{B_m x_m + B_k x_k}{x_m + x_k} \right] (1 - q^l) x_m \right) \\ &\quad + (1 - x_m - x_k - x_l) \left(\left[cB_m + (1 - c) \frac{B_m x_m + B_k x_k}{x_m + x_k} \right] (1 - q^l) x_k \right) - Dx_l\end{aligned}\tag{9.1}$$

La tabla 9.1 muestra los resultados obtenidos al hallar los estados estacionarios del sistema 9.1.

Es posible hallar el umbral de error del sistema a partir de las condiciones de estabilidad del

Estado Estacionario	Propiedades	
Estado estacionario I. Coexistencia. Equilibrio selección-mutación (Cuasiespecies)	Población	$x_m = \left(1 - \frac{D(q^l - q^\nu(1-c))}{B_m q^l q^\nu c}\right) \left(\frac{[B_m q^\nu c - B_k(q^l - q^\nu(1-c))]q^l}{(B_m - B_k)(q^l - q^\nu(1-c))}\right)$ $x_k = \left(1 - \frac{D(q^l - q^\nu(1-c))}{B_m q^l q^\nu c}\right) \left(\frac{B_m q^l (q^l - q^\nu)}{(B_m - B_k)(q^l - q^\nu + q^\nu c)}\right)$ $x_l = \left(1 - \frac{D(q^l - q^\nu(1-c))}{B_m q^l q^\nu c}\right) (1 - q^l)$
	Estabilidad	$B_m q^\nu c > B_k (q^l - q^\nu + q^\nu c) \quad \frac{B_m q^l q^\nu}{(q^l - q^\nu(1-c))} > D$
	Productividad media	$\bar{E} = \frac{B_m q^l q^\nu}{(q^l - q^\nu(1-c))} - D$
	Lastre mutacional	$L_A = 1 - \frac{q^l q^\nu c}{(q^l - q^\nu(1-c))}$
Estado estacionario II. “Catástrofe de error”	Población	$x_m = 0$ $x_k = \left(1 - \frac{D}{B_k q^l}\right) q^l \quad x_l = \left(1 - \frac{D}{B_k q^l}\right) (1 - q^l)$
	Estabilidad	$B_m q^\nu c < B_k (q^l - q^\nu + q^\nu c) \quad B_k q^l > D$
	Productividad media	$\bar{E} = B_k q^l - D$
	Lastre mutacional	$L_A = 1 - \frac{B_k q^l}{B_m}$
Estado estacionario III. Extinción.	Población	$x_m = 0 \quad x_k = 0 \quad x_l = 0$
	Estabilidad	$q^\nu ((B_m - B_k) c + q^l) < D \quad B_k q^l < D$
	Productividad media	$\bar{E} = 0$
	Lastre mutacional	$L_A = 1$

Tabla 9.1: Resumen de resultados del modelo de cuasiespecies que interactúan en *trans* en condiciones de población variable, en presencia de letalidad Los valores se han obtenido hallando la solución de estado estacionario del sistema 9.1. La fila llamada “Estabilidad” muestra las condiciones necesarias para que dicho estado estacionario sea asintóticamente estable. Las condiciones se han hallado sustituyendo los valores del estado estacionario en el Jacobiano que se obtiene a partir del sistema 9.1

estado estacionario II. El resultado es:

$$q_c = \sqrt[\nu-l]{\frac{B_k}{(B_m - B_k)c + B_k}} \quad (9.2)$$

esta expresión del umbral de error es equivalente a la obtenida en ausencia de letalidad (ecu. 6.11), sólo que a la hora de obtener el factor de calidad crítico por dígito sólo se tienen en cuenta las posiciones no letales, tal y como ocurría en ausencia de interacciones en *trans* (ecu. 4.14). Puede comprobarse que, para $c = 1$, la expresión se reduce a la ecuación 4.14.

Al igual que en el capítulo 4, los estados estacionario I y II definen, cada uno, un umbral de extinción diferente. El umbral de extinción del estado estacionario II viene definido por

$$q_{ex,II} = \sqrt[l]{\frac{D}{B_k}} \quad (9.3)$$

Que no depende de c , puesto que los mutantes letales ni aportan recursos al bien público, ni tampoco pueden replicarse aprovechándose de ellos. Por ese motivo, la única contribución a la eficacia replicativa procede del fenotipo mutante, que es el fenotipo que se aprovecha de ello. El fenotipo letal se comporta como una “especie inerte”.

En el estado estacionario I, la productividad media viene definida por

$$\bar{E} = \frac{B_m q^l q^\nu}{(q^l - q^\nu (1 - c))} - D \quad (9.4)$$

De manera que la población se extinguirá cuando:

$$\frac{B_m}{D} \left(\frac{q^l q^\nu}{(q^l - q^\nu (1 - c))} \right) < 1 \quad (9.5)$$

Sin embargo, a partir de esta condición no es posible hallar explícitamente una expresión para el valor del umbral de extinción. Aun así, sí se puede hallar indirectamente la dependencia del mismo respecto al número de posiciones letales. Teniendo en cuenta que el factor de amplificación medio viene definido según:

$$\bar{A} = \frac{B_m q^l q^\nu}{(q^l - q^\nu (1 - c))} \quad (9.6)$$

es posible hallar su derivada respecto al número de posiciones letales en la secuencia, l , obteniéndose:

$$\left(\frac{d\bar{A}}{dl} \right) = \frac{B_m c q^{(2L+l)} \log(q) (c - 1)}{(q^l - q^\nu (1 - c))^2} > 0 \quad (9.7)$$

Es decir, la productividad media en el estado estacionario I aumenta al aumentar el número de posiciones letales en la secuencia, por lo que el umbral de extinción disminuirá. Esto implica que al aumentar el número de posiciones letales en la secuencia, la población se extingue a tasas de mutación mayores. Este efecto, claramente contraintuitivo, se debe a la existencia de interacciones en *trans*, ya que sólo se produce cuando $c < 1$. En la sección 8.3 se observaba un efecto similar cuando se consideraba $\nu = -1$, en cuyo caso el fenotipo se consideraba letal, en el sentido de que no podía replicarse, aun cuando sí que pudiese aportar al bien público.

La figura 9.1 muestra este fenómeno, al aumentar l , la población se extingue a menores factores de calidad, es decir, a mayores tasas de mutación. En este caso, puesto que $B_k < D$, la población no puede entrar en catástrofe de error antes de extinguirse.

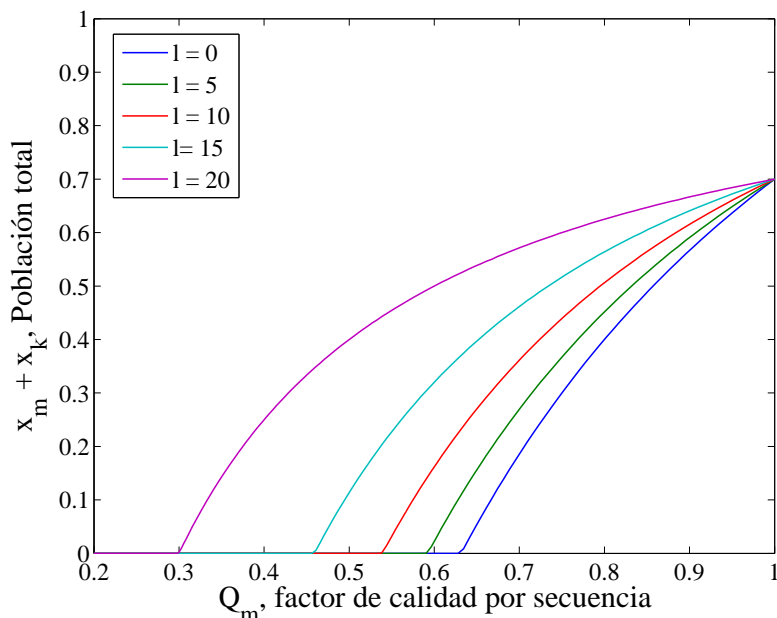


Figura 9.1: Variación de la población total en función del factor de calidad por secuencia para diferentes valores de l , el número de posiciones letales en la secuencia El umbral de extinción disminuye al aumentar la letalidad, tal y como se desprende de la ecu. 9.7. $B_m = 10$; $B_k = 2$; $D = 3$; $c = 0.25$; $N = 1$.

Letalidad crítica

En las secciones 4.2 y 4.3 se introdujo el concepto de letalidad crítica, definido como aquel valor de letalidad más allá del cual desaparece el umbral de error. En este caso, es posible hallar dicho valor igualando los valores del umbral de error y el umbral de extinción del estado estacionario II. El resultado que se obtiene, expresado como la fracción de posiciones letales en la secuencia, es:

$$\frac{l}{\nu} > \frac{\log\left(\frac{B_k}{D}\right)}{\log\left(\frac{(B_m - B_k)c + B_k}{D}\right)} \quad (9.8)$$

La figura 9.2 muestra dos ejemplos de diagramas de fase en los que se observa el comportamiento del sistema en función del número de posiciones letales en la secuencia y del factor de calidad por secuencia, $Q_m = q^\nu$. Puesto que no es posible obtener una expresión explícita, el umbral de extinción del estado estacionario I ha sido hallado resolviendo numéricamente la expresión 9.5.

En ambos diagramas se observa claramente que, más allá de la letalidad crítica, el umbral de extinción disminuye al aumentar la letalidad. Como se ha comentado anteriormente, este resultado, aparentemente contraintuitivo, es explicable en el contexto de la defeción letal. Al considerar una única secuencia maestra, el aumento del número de posiciones letales en la secuencia afecta a la eficacia biológica efectiva del fenotipo maestro, disminuyendo su capacidad interferente y, por tanto, disminuyendo el umbral de extinción hasta su límite inferior, cuando $l = \nu$, que coincide con el valor del umbral de extinción en ausencia de interacciones en *trans*:

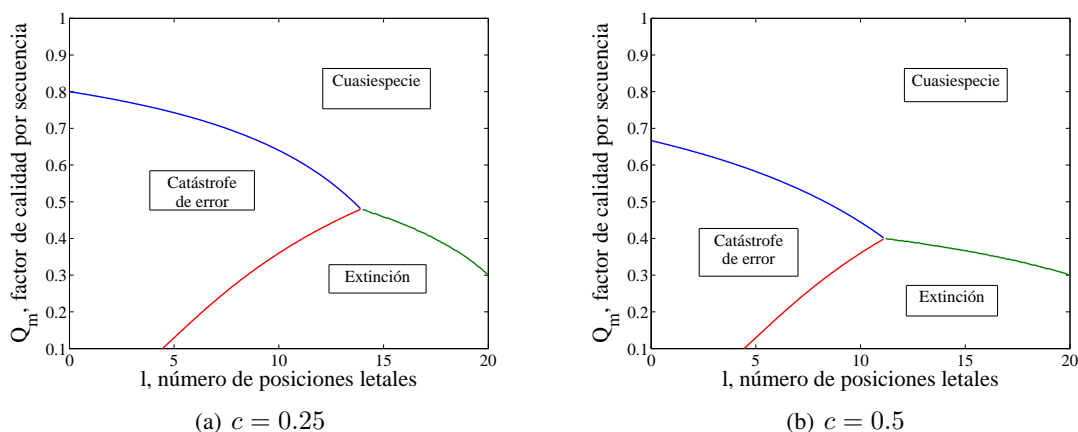


Figura 9.2: Diagramas de fase para diferentes paisajes tipo Single-peak en función del número de posiciones letales l , y el factor de calidad por secuencia, Q_m . La longitud de secuencia es $\nu = 20$. Tal y como puede verse en la figura, en todos los casos aparecen tres regímenes diferentes: la cuasiespecie, el umbral de error y la extinción (ver texto para una discusión detallada)

$$q_{ex}(l = \nu) = q_{ex}(c = 1) = \sqrt[\nu]{\frac{D}{B_m}} \quad (9.9)$$

El sistema 9.1 puede analizarse de forma numérica cuando se considera que el fenotipo mutante tiene una ventaja selectiva en *cis* de tipo multiplicativo, $1 + v$. El resultado es similar a los observado en los capítulos 6 y 8. Si el fenotipo mutante presenta una ventaja selectiva $v > 0$, tanto el umbral de extinción como el umbral de error aumentan, es decir, tienen lugar a menores tasas de mutación. Por el contrario, si el fenotipo mutante presenta una desventaja selectiva en *cis* ($v < 0$), el umbral de extinción y el umbral de error disminuyen, de forma que tanto la extinción como la entrada en catástrofe de error tienen lugar a tasas de mutación mayores (datos no mostrados).

Capítulo 10

Factor de interacción en *cis* dependiente de densidad

Como se ha visto en el apartado 1.4.4 de la introducción, la densidad es un factor muy importante a tener en cuenta en todo modelo de defeción letal, ya que, en principio, si la densidad poblacional disminuye también lo harán las interacciones entre los individuos de la población y, por tanto, la defeción letal podría, en teoría, verse afectada de una u otra forma, tal y como han señalado algunos autores (Steinmeyer y Wilke, 2009).

Para poder considerar la dependencia de las interacciones con la densidad poblacional lógicamente no se puede aplicar la restricción de población constante, puesto que si no varía la población, tampoco lo hace la densidad. Por este motivo, se considerará que la población es variable, utilizando una restricción al crecimiento logística, tal y como se ha hecho en apartados anteriores.

Como primera aproximación al estudio del efecto de la densidad en el modelo de cuasiespecies que interactúan en *trans*, se supondrá que el factor de interacción en *cis*, c , depende de la densidad poblacional. Cuanto mayor sea la densidad poblacional, mayores serán las interacciones con otros individuos. Por el contrario, cuanto menor sea la densidad poblacional, menores serán las interacciones con el resto de la población. La forma más sencilla de introducir esta dependencia con la densidad es considerando que el factor de interacción en *cis*, c , disminuye linealmente al aumentar el tamaño poblacional.

$$c = N - \sum_i x_i \quad (10.1)$$

De esta forma, cuando la población crece y $\sum_i x_i \rightarrow N$ las interacciones entre individuos de la población aumentan y el factor de interacción en *cis* tiende a cero, $c \rightarrow 0$, mientras que si la población decrece, $\sum_i x_i \rightarrow 0$, las interacciones entre los individuos que conforman la población decrecen de forma que $c \rightarrow 1$, indicando que el individuo sólo interactúa consigo mismo. Teniendo todo esto en cuenta, los factores de amplificación de las especies maestra y mutante, A_m y A_k , vienen definidos, para el caso particular $N = 1$, por:

$$A_m(x_m, x_k) = c(x_i)B_m + (1 - c(x_i))\bar{B} = B_m - (B_m - B_k)x_k \quad (10.2)$$

$$A_k(x_m, x_k) = (c(x_i)B_k + (1 - c(x_i))\bar{B})(1 + v) = (B_k + (B_m - B_k)x_m)(1 + v) \quad (10.3)$$

En los que se ha considerado que el fenotipo mutante puede tener una ventaja o desventaja selectiva de tipo multiplicativo, v , que, por simplicidad, será el único caso estudiado en este capítulo. Como se ha venido haciendo a lo largo de este trabajo, en primer lugar se estudiará el caso en el que se considera que $v = 0$, y posteriormente el caso en el que existe una ventaja o desventaja selectiva del fenotipo mutante tanto en ausencia como en presencia de mutación.

10.1. El fenotipo mutante no tiene una ventaja o desventaja selectiva, $v = 0$

Por simplicidad y sin pérdida de generalidad, se estudiará el caso particular $N = 1$, de forma que $c = 1 - x_m - x_k$. Suponiendo que el fenotipo mutante no tiene una ventaja o desventaja selectiva, $v = 0$, el comportamiento del sistema viene determinado por el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales:

$$\begin{aligned}\frac{dx_m}{dt} &= (1 - x_m - x_k) (B_m - (B_m - B_k)x_k) Q_m x_m - D x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= (1 - x_m - x_k) ((B_k + (B_m - B_k)x_m)) x_k \\ &\quad + (1 - x_m - x_k) (B_m - (B_m - B_k)x_k) (1 - Q_m) x_m - D x_k\end{aligned}\tag{10.4}$$

de donde pueden obtenerse tres estados estacionarios. La tabla 10.1 resume los resultados obtenidos.

El principal objetivo de este capítulo es estudiar el efecto de las interacciones dependientes de densidad sobre el lastre mutacional y el umbral de extinción. Teniendo en cuenta que el factor de amplificación medio en el estado estacionario I es

$$\bar{A} = \frac{\sqrt{D^2 Q_m^2 - 4B_m D Q_m^2 + 4B_m D Q_m} - D Q_m}{2(1 - Q_m)}\tag{10.5}$$

Es posible obtener el umbral de extinción, despejando el valor de Q_m que hace que se cumpla la condición de extinción $\bar{A} - D = 0$. En este caso, el valor del umbral de extinción que se obtiene es:

$$Q_{m,ex} = \frac{D}{B_m}\tag{10.6}$$

que coincide con el valor del umbral de extinción en ausencia de interacciones en *trans* (es decir, cuando $c = 1$, ver apéndice A). De esta manera, al considerar el efecto de la densidad sobre las interacciones intrapoblacionales, el umbral de extinción no se ve afectado por las interacciones en *trans*.

La figura 10.1 muestra este fenómeno: cuando las interacciones dependen de la densidad, $c = 1 - x_m - x_k$, el umbral de extinción coincide con el umbral de extinción cuando $c = 1$, a pesar de que la población total es siempre menor. Es decir, el umbral de extinción se comporta como si no hubiese interacción en *trans*. Sin embargo, la población total en el caso en el que las interacciones son dependientes de densidad es siempre mayor que en el caso en que se considera un c constante bajo, como por ejemplo para el caso $c = 0.25$. Para valores de c constante más altos, como por ejemplo $c = 0.75$, la población total cuando las interacciones dependen de la densidad es mayor o menor dependiendo del valor de Q_m .

Estado Estacionario	Propiedades	
Estado estacionario I. Coexistencia. Equilibrio selección-mutación (Cuasiespecies)	Población	$x_m = \frac{2D(B_m Q_m + B_k(1-Q_m))}{(B_m - B_k)(\sqrt{DQ_m(4B_m(1-Q_m) + DQ_m)} - DQ_m)}$ $- \frac{B_k(1-Q_m) + D}{(B_m - B_k)(1-Q_m)}$ $x_k = \frac{Q_m(2B_m(1-Q_m) + D) + \sqrt{D^2 Q_m^2 - 4B_m D Q_m^2 + 4B_m D Q_m}}{2(B_m - B_k)Q_m(1-Q_m)}$
	Estabilidad	$B_m Q_m D > B_k Q_m D + B_k^2(1 - Q_m)$
	Productividad media	$\bar{E} = \frac{\sqrt{D^2 Q_m^2 - 4B_m D Q_m^2 + 4B_m D Q_m} - DQ_m}{2(1 - Q_m)} - D$
	Lastre mutacional	$L_A = 1 - \frac{\sqrt{D^2 Q_m^2 - 4B_m D Q_m^2 + 4B_m D Q_m} - DQ_m}{2(1 - Q_m)B_m}$
Estado estacionario II. “Catástrofe de error”	Población	$x_m = 0 \quad x_k = \frac{B_k - D}{B_k}$
	Estabilidad	$B_k > D \quad B_m Q_m D < B_k^2(1 - Q_m) + B_k Q_m D$
	Productividad media	$\bar{E} = B_k - D$
	Lastre mutacional	$L_A = 1 - \frac{B_k}{B_m}$
Estado estacionario III. Extinción.	Población	$x_m = 0 \quad x_k = 0$
	Estabilidad	$D > B_k \quad B_m Q_m < D$
	Productividad media	$\bar{E} = 0$
	Lastre mutacional	$L_A = 1$

Tabla 10.1: Resumen de los resultados obtenidos del análisis de estados estacionarios para las cuasiespecies que interactúan en *trans*, cuando *c* depende linealmente del tamaño poblacional, para el caso $v = 0$. Los valores se han obtenido hallando la solución de estado estacionario del sistema 10.4. La fila llamada “Estabilidad” muestra las condiciones necesarias para que dicho estado estacionario sea asintóticamente estable. Las condiciones se han hallado sustituyendo los valores del estado estacionario en el Jacobiano que se obtiene a partir del sistema 10.4

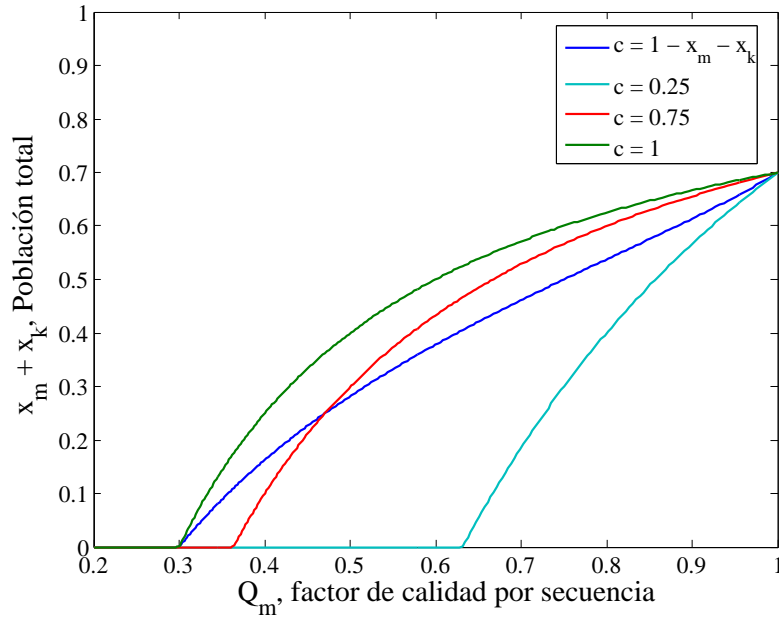


Figura 10.1: Variación de la población total con el factor de calidad por secuencia, Q_m para diferentes valores de c . La figura muestra que el valor del umbral de extinción, Q_{ex} , cuando el factor de interacción en *cis* depende del tamaño poblacional es el mismo que cuando $c = 1$ y, por tanto, menor que en presencia de interacciones en *trans*. $Bm = 10$; $Bk = 2$; $D = 3$;

La figura 10.2 muestra como varía el lastre mutacional con el factor de calidad cuando las interacciones dependen de la densidad y para diferentes valores constantes del factor de interacción en *cis*. Cuando c es dependiente de la densidad, el lastre mutacional crece respecto al caso en el que no existe interacción en *trans* ($c = 1$), pero ambos se igualan para $Q_m = 0.5$, que, en este ejemplo, es el umbral de extinción del sistema. Por otro lado, para determinados valores de Q_m , también es superior a valores de c como 0.75. Sin embargo, el lastre mutacional es siempre inferior a la que se obtiene para valores más bajos de c , como 0.25.

A partir de las condiciones de estabilidad del estado estacionario II se puede obtener el umbral de error del sistema:

$$Q_c = \frac{B_k^2}{B_k^2 + (B_m - B_k)D} \quad (10.7)$$

Si se toma, como en capítulos anteriores, la superioridad como $\sigma_B = \frac{B_m}{B_k}$ obtenemos:

$$Q_c = \frac{B_m}{B_m - D(\sigma_B - \sigma_B^2)} = \frac{R_m}{R_m + \sigma_B^2 - \sigma_B} \quad (10.8)$$

Donde $R_m = \frac{B_m}{D}$ es la eficacia biológica del fenotipo maestro.

Es interesante comparar este valor del umbral de error con el obtenido en condiciones de ausencia de interacciones dependientes de densidad (ecu. 6.11). Cuando se expresa en función de R_m y σ_B , se obtiene:

$$Q_c = \frac{1}{1 - c + c\sigma_B} \quad (10.9)$$

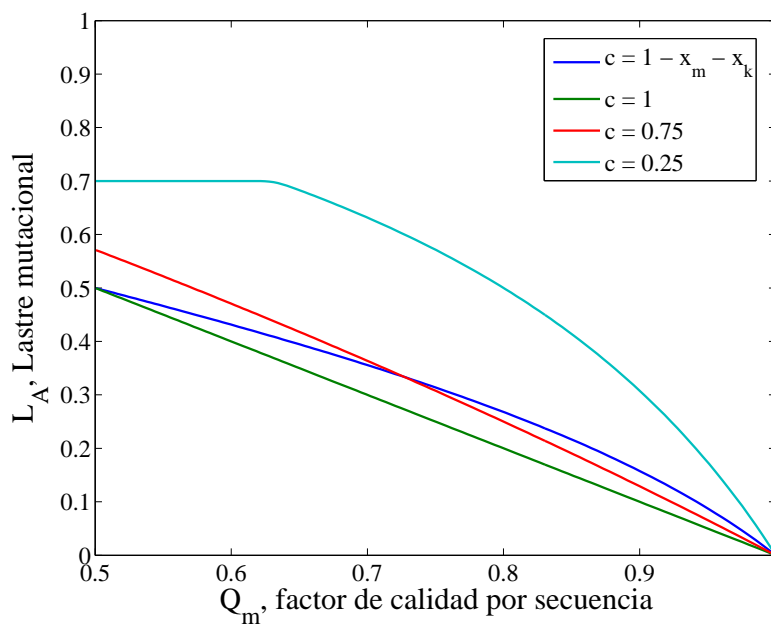


Figura 10.2: Lastre mutacional en función del factor de calidad por secuencia, para diferentes valores del factor de interacción en *cis*, c . $Bm = 10$; $Bk = 3$; $D = 5$;

que no depende de la eficacia biológica absoluta de la población, R_m . Sin embargo, cuando las interacciones dependen de la densidad, el umbral de error, ecu. 10.8, sí que depende de la eficacia absoluta del fenotipo maestro. Más aún, puesto que:

$$\frac{dQ_c}{dR_m} = \frac{\sigma_B (\sigma_B - 1)}{(\sigma_B^2 - \sigma_B + R_m)^2} > 0 \quad (10.10)$$

si se mantienen la superioridad σ_B constante, el umbral de error aumenta al aumentar la eficacia absoluta del fenotipo maestro, es decir, la población entra en catástrofe de error a menores tasas de mutación. Una vez más, desde la perspectiva de la interpretación clásica de la entrada en catástrofe de error como un fenómeno que supone la desaparición de la cuasiespecie, la aparición de una “crisis de información”, etc., este resultado es completamente contraituitivo. No lo es, sin embargo, si se considera que la aparición de un umbral de error es consecuencia de la acción de la selección natural. Puesto que las eficacias biológicas dependen de las interacciones en *trans* y, en este caso, estas dependen de la densidad poblacional, una mayor eficacia biológica absoluta del fenotipo maestro supone una mayor densidad poblacional, lo que a su vez implica mayores interacciones en *trans* y, por lo tanto, una menor eficacia biológica relativa del fenotipo maestro sobre el mutante, ya que éste tiene una mayor eficacia biológica cuanto mayores sean las interacciones en *trans*, tal y como se ha visto a lo largo de este trabajo.

De hecho, al igual que a lo largo de la Tesis, es posible obtener un valor del coeficiente de selección para este caso según:

$$s = \frac{A_k(x_m^{SS-III})}{A_m(x_k^{SS-III})Q_m} - 1 \quad (10.11)$$

Introduciendo las concentraciones de los fenotipos maestro y mutante se obtiene como coeficiente de selección:

$$s = \frac{(1 - Q_m) \sqrt{2B_k - DQ_m(4B_m(1 - Q_m) + DQ_m)} - 2B_k Q_m + DQ_m}{Q_m \sqrt{2B_m - DQ_m(4B_m(1 - Q_m) + DQ_m)} - 2B_m Q_m + DQ_m} \quad (10.12)$$

Que se hace cero cuando $Q_m = Q_c$, lo que, como se ha visto, implica que el umbral de error es el valor de la tasa de mutación a partir de la cual el fenotipo mutante y no el fenotipo maestro se ve favorecido por la selección natural, tal y como se estudió en la sección 3.1 de este trabajo. Numéricamente, se obtiene que cuanto mayor es R_m , mayor -es decir, menos negativo- es el coeficiente de selección, lo que indica que la presión de selección se hace menor cuanto mayor es la eficacia biológica absoluta del fenotipo maestro.

10.2. El fenotipo mutante tiene una ventaja o desventaja selectiva en *cis*, $v \neq 0$, en presencia de mutación $Q_m < 1$

Cuando el fenotipo mutante presenta una ventaja o desventaja selectiva en *cis* de tipo multiplicativo, los factores de amplificación vienen definidos por las ecuaciones 10.2 y 10.3. En este caso, aunque cualitativamente el sistema no cambia demasiado, se hace mucho más difícil de tratar analíticamente. Por este motivo para estudiar el sistema en presencia de mutación se recurrirá fundamentalmente a métodos numéricos. En este caso, el sistema de ecuaciones diferenciales resultante es:

$$\begin{aligned} \frac{dx_m}{dt} &= (B_m - (B_m - B_k)x_k) Q_m x_m (N - x_m - x_k) - D x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= (N - x_m - x_k) ((B_k + (B_m - B_k)x_m)(1 + v)) x_k \\ &\quad + (N - x_m - x_k) (B_m - (B_m - B_k)x_k) (1 - Q_m) x_m - D x_k \end{aligned} \quad (10.13)$$

El sistema de EDO 10.13 presenta tres estados estacionarios. En el primero, ambas especies coexisten en un equilibrio de selección-mutación que adopta la forma de una cuasiespecie. En el segundo estado estacionario, la “catástrofe de error”, sólo está presente el fenotipo mutante. El tercer estado estacionario es la extinción. Las expresiones de los estados estacionarios que se obtienen a partir de este sistema de ecuaciones diferenciales son o bien bastante complejas y poco informativas, en el caso del estado estacionario I, o bien triviales, en el caso de los estados estacionario I y II, por lo que no se incluirán aquí. Tal y como se ha venido realizando a lo largo de este trabajo, a partir de las condición de estabilidad genética del estado estacionario II, es posible obtener el valor del umbral de error del sistema, así como la ventaja selectiva máxima a partir de la cual se impone el fenotipo mutante:

$$Q_c = \frac{B_k^2(1 + v)^2}{B_k^2(1 + v) + (B_m - B_k)D} \quad (10.14)$$

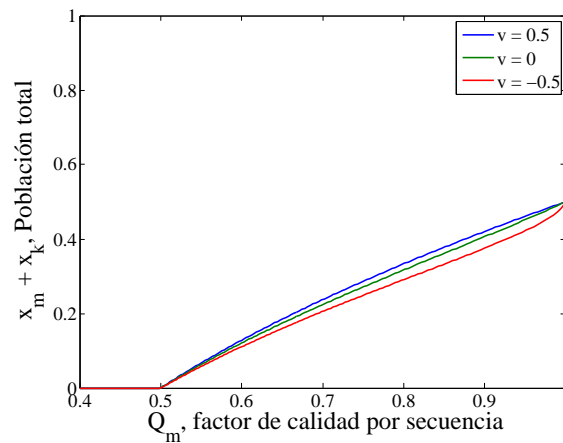
Que, considerando que $R_m = \frac{B_m}{D}$ y que $\sigma_B = \frac{B_m}{B_k}$, también puede expresarse como:

$$Q_c = \frac{R_m(1 + v)^2}{(\sigma_B^2 - \sigma_B + R_m(1 + v))} \quad (10.15)$$

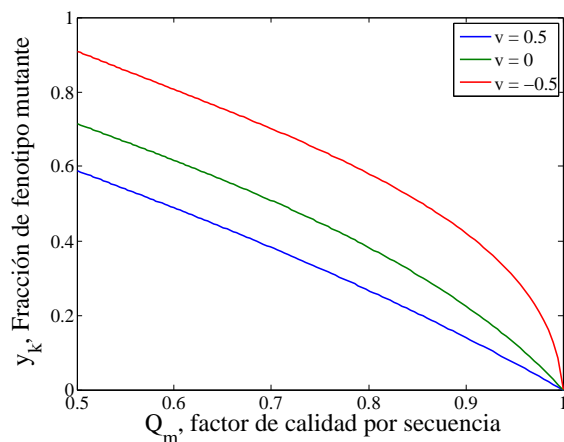
El resultado obtenido para el umbral de error es formalmente equivalente al obtenido en el caso $v = 0$, sección 9.1. Al igual que ocurre en el caso $v = 0$, el umbral de error aumenta al aumentar la eficacia biológica absoluta del fenotipo maestro, R_m .

Debido a la complejidad de las expresiones analíticas de x_m y x_k en el estado estacionario I de coexistencia, el estudio del efecto de la ventaja selectiva, v , sobre el umbral de extinción y el tamaño poblacional se llevará a cabo exclusivamente por métodos numéricos.

La figura 9.4a muestra que el valor de v apenas altera la variación de la población total al aumentar la tasas de mutación. Más aún, el valor del umbral de extinción es independiente de v y vuelve a coincidir con $Q_{ex} = \frac{D}{B_m}$. Sin embargo, la composición de la población sí que depende del valor de v , siendo mayor la fracción de fenotipo mutante cuanto mayor es v , tal y como se observa en la figura 10.3b .



(a) Tamaño total de la población



(b) Fracción de fenotipo mutante

Figura 10.3: Efecto de la ventaja o desventaja selectiva en *cis*, v sobre el tamaño (a) y la composición (b) poblacional El umbral de extinción no depende de la ventaja o desventaja selectiva en *cis*, v . La fracción de fenotipo mutante en la población es mayor cuanto mayor es su ventaja selectiva en *cis*, v . $B_m = 10$; $B_k = 3$; $D = 5$.

Capítulo 11

Interacción en grupos de tamaño variable

En el capítulo 10 se estudió la influencia que tienen los cambios en la densidad poblacional en la defeción letal considerando que las interacciones en *trans* dependían del tamaño poblacional. El principal resultado obtenido fue que, cuando se considera explícitamente el efecto de la densidad sobre el grado de interacción intrapoblacional, la presencia de mutantes defectivos no afecta al umbral de extinción de la cuasiespecie, aun cuando pueda afectar a la distribución y tamaño poblacional de la misma antes de dicho umbral.

En este capítulo se estudiará el mismo problema desde una perspectiva diferente, considerando que los diferentes individuos interactúan en grupos cuyo tamaño varía dependiendo del tamaño de la población. Algo parecido es lo que ocurre en las infecciones por virus RNA. La multiplicidad de infección promedio, es decir, el número de virus por célula, disminuye al disminuir el tamaño de población viral, haciendo las coinfecciones cada vez menos frecuentes. Esto implica, por supuesto, que durante el proceso de extinción de un virus, las coinfecciones disminuyen, algo que ha sido utilizado como argumento contra la posibilidad de que la defeción letal sea un mecanismo determinante en la extinción de los virus RNA por mutagénesis letal (Steinmeyer y Wilke, 2009). Pues bien, en este capítulo se estudiará hasta qué punto afecta la disminución de coinfección a la extinción de un virus por defeción letal.

Para estudiar este fenómeno, se han tomado como referencia los llamados *juegos de bienes públicos ecológicos* (EPGG, por sus siglas en inglés *Ecological Public Goods Games*). Los EPGG, desarrollados por Hauert en colaboración con otros autores (Hauert et al., 2006a, 2008; Wakano et al., 2009; Wakano y Hauert, 2011), son una extensión de los juegos de bienes públicos en la que se tiene en cuenta el efecto que los cambios demográficos producidos por las interacciones entre cooperadores y defectores tienen sobre dichas interacciones, que es un ejemplo de lo que algunos autores denominan *feedback* eco-evolutivo.

En esta sección se ha desarrollado un modelo que combina la dinámica demográfica de los EPGG con el modelo de cuasiespecies que interactúan en *trans* desarrollado previamente para esta Tesis. En este modelo, las interacciones en *trans* entre los individuos de la cuasiespecie tienen lugar en grupos cuyo tamaño depende del tamaño poblacional, por lo que, al igual que en los EPGG, los cambios en el tamaño poblacional que produce la extinción por defeción letal van a modificar al propio mecanismo de defeción letal.

11.1. Descripción del modelo

Para tener en cuenta el cambio en el tamaño de grupo al disminuir el tamaño poblacional, lo que se hace es formar grupos compuestos de individuos de ambos fenotipos y de “espacios vacíos”, z ,

considerando que $x_m + x_k + z = 1$. Se considera que para que los individuos se repliquen dentro de un grupo, tiene que existir al menos un espacio vacío en el grupo. De esta forma, lo que se está haciendo es considerar una restricción de tipo logístico al crecimiento poblacional al igual que se hacía en los capítulos anteriores. El punto destacado de este modelo es que al considerar los grupos de tamaño variable, se introduce una dependencia con la densidad, puesto que al disminuir la población, disminuye el número de especies autorreplicativas en cada grupo y aumenta el número de espacios libres, por lo que las interacciones entre individuos son menores.

El modelo viene determinado por el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales:

$$\begin{aligned}\frac{dx_m}{dt} &= z f_m Q_m x_m - D x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= z f_m (1 - Q_m) x_m + z f_k x_k - D x_k \\ \frac{dz}{dt} &= D(x_m + x_k) - z [f_m x_m + f_k x_k]\end{aligned}\quad (11.1)$$

donde las f_i son los factores de amplificación de los fenotipos maestro, m , y mutante, k . En ellos se promedia el factor de amplificación que tiene cada individuo en cada uno de los grupos que puede formarse con un tamaño y composición determinada normalizados por la probabilidad de que se forme dicho grupo. D es el factor de degradación de los dos fenotipos y Q_m es el factor de calidad por secuencia del fenotipo maestro. En los *EPGG*, los factores f reciben el nombre de “average payoff” o “pago promedio”, que deriva de la llamada matriz de pagos de la teoría de juegos (ver apéndice B).

Siguiendo a (Hauert et al., 2006a), se define un límite de coinfección, n_{max} . A diferencia de los *EPGG*, en este caso no se considera que el tamaño mínimo de grupo sea 2, sino que se tendrá en cuenta que pueden existir grupos formados por un único individuo, ya que en las infecciones virales una única partícula viral puede dar lugar a una infección productiva.

La contribución de cada grupo en el que interacciona un individuo del fenotipo i a su factor de amplificación promedio, f_i , depende de tres factores. En primer lugar, de la probabilidad de que un individuo se encuentre en un grupo de tamaño K , interaccionando, por tanto, con otros $K - 1$ individuos. Esta probabilidad viene definida por

$$P(K) = \binom{n-1}{K-1} (1-z)^{K-1} z^{n-K} \quad (11.2)$$

donde z es la concentración de huecos libres y, por tanto, $1 - z$ es la población total en un momento dado. En segundo lugar, hay que tener en cuenta la probabilidad de que, en un grupo con K individuos, el individuo i interaccione con m individuos del fenotipo maestro y $K - 1 - m$ del fenotipo mutante. Esta probabilidad viene determinada por

$$P(m, K - 1 - m) = \binom{K-1}{m} \left(\frac{x_m}{1-z} \right)^m \left(\frac{x_k}{1-z} \right)^{K-1-m} \quad (11.3)$$

Por último, ambas probabilidades se multiplican por el factor de amplificación del individuo i en dicho grupo.

$$A_i(m, K - 1 - m) = \left[c B_i + (1 - c) \frac{B_m m + B_i + B_k (K - 1 - m)}{K + 1} \right] (1 + v_i) \quad (11.4)$$

Resultando en

$$f_i(K, m, K - 1 - m) \propto P(K)P(m, K - 1 - m)A_i(m, K - 1 - m) \quad (11.5)$$

Donde $f_i(m, K - 1 - m)$ es el factor de amplificación del individuo i en un grupo de tamaño K donde interacciona con m individuos del fenotipo maestro y $K - 1 - m$ individuos del fenotipo mutante. Se puede definir el factor de amplificación promedio para todas las posibles distribuciones de individuos con las que puede interaccionar el individuo i cuando está en un grupo de tamaño K . Este $f_i(K)$ viene definido por:

$$f_i(K) = \sum_{m=0}^{K-1} \binom{K-1}{m} \left(\frac{x_m}{1-z} \right)^m \left(\frac{x_k}{1-z} \right)^{K-1-m} A_i(m, K-1-m) \quad (11.6)$$

El factor f_i total de cada fenotipo es la suma de los factores de amplificación del individuo i en cada una de las distribuciones de individuos que se puede encontrar, en cada uno de los tamaños de grupo, obviamente multiplicados por su probabilidad:

$$f_i = \sum_{K=1}^n P(K)f_i(K) = \sum_{K=1}^n \binom{n-1}{K-1} (1-z)^{K-1} z^{n-K} f_i(K) \quad (11.7)$$

Puesto que la parte de recurso no compartida cB_i , la parte que no interacciona en *trans*, no depende del tamaño de grupo, es posible dividir el factor de amplificación promedio en dos contribuciones:

$$f_i = [cB_i + (1-c)\bar{B}_i] (1 + v_i) \quad (11.8)$$

Donde ahora el valor del recurso medio \bar{B} que experimenta un individuo es:

$$\bar{B}_i = (1-c) \sum_{K=1}^n \left[P(K) \sum_{m=0}^{K-1} \left(P(m, K-1-m) \frac{B_m m + B_i + B_k (K-1-m)}{K+1} \right) \right] \quad (11.9)$$

Teniendo esto en cuenta, y puesto que $z = 1 - x_m - x_k$, el sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias que determina este modelo es:

$$\begin{aligned} \frac{dx_m}{dt} &= (1 - x_m - x_k) (cB_m + (1-c)\bar{B}_m) Q_m x_m - D x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= (1 - x_m - x_k) [(cB_m + (1-c)\bar{B}_m) (1 - Q_m) x_m + (cB_k + (1-c)\bar{B}_k) x_k] \\ &\quad - D x_k \end{aligned} \quad (11.10)$$

donde \bar{B}_m y \bar{B}_k vienen determinados por:

$$\begin{aligned} \bar{B}_m &= (1-c) \sum_{K=1}^n \left[P(K) \sum_{m=0}^{K-1} \left(P(m, K-1-m) \frac{B_m (m+1) + B_k (K-1-m)}{K} \right) \right] \\ \bar{B}_k &= (1-c) \sum_{K=1}^n \left[P(K) \sum_{m=0}^{K-1} \left(P(m, K-1-m) \frac{B_m m + B_k (K-m)}{K} \right) \right] \end{aligned} \quad (11.11)$$

El sistema de ecuaciones diferenciales 11.10 es demasiado complicado para analizarlo analíticamente, por lo que se ha recurrido a su estudio mediante integración numérica utilizando una rutina Runge-Kutta proporcionada por la plataforma de software matemático MATLAB®.

11.2. Dependencia de la extinción con las interacciones en *trans* y del límite de coinfección, n_{max}

En primer lugar este modelo se utilizará para estudiar la extinción debida a defeción letal. Para ello se estudiará cómo afectan el factor de interacción en *cis*, c , y el límite de coinfección, n_{max} , al umbral de extinción y a la variación del tamaño poblacional en función de la tasa de mutación. El resultado es que, en este modelo, el umbral de extinción no depende ni del factor de interacción en *cis*, c , ni del límite de coinfección n_{max} . A pesar de que el tamaño poblacional a cada tasa de mutación sí depende de ambos factores, el umbral de extinción viene determinado exclusivamente por la eficacia biológica absoluta del fenotipo maestro, R_m , tomando dicho umbral el valor:

$$Q_{ex} = \frac{D}{A_m N} = \frac{1}{R_m N} \quad (11.12)$$

tal y como se puede observar en la figura 11.1 .

La contribución del fenotipo mutante al bien público, B_k o el que presente una ventaja o una desventaja selectiva, v , tampoco influyen en el umbral de extinción de la cuasiespecie. La figura 11.2 muestra que una ventaja selectiva del fenotipo mutante ($v > 0$) disminuye ligeramente el tamaño poblacional, pero que esta disminución se anula al disminuir la población, ya que cuando el tamaño de población es pequeño, el comportamiento de la población depende solamente del fenotipo maestro.

11.3. Equilibrio selección-mutación y umbral de error

En el apartado anterior se ha visto que, si bien el tamaño poblacional depende ligeramente del factor de interacción en *cis*, c , el umbral de extinción es independiente tanto de c como de n_{max} . En este apartado se estudiará como varía el lastre mutacional con el factor de interacción en *cis* y del límite de coinfección, n_{max} .

La figura 11.3 muestra el efecto que tiene sobre el lastre mutacional la disminución del factor de interacción en *cis* para diferentes valores de n_{max} . En ella se observa que, antes de que el fenotipo mutante se imponga sobre el maestro, el lastre mutacional es mayor cuanto menor es el factor de interacción en *cis*, tal y como se ha descrito a lo largo de todo este trabajo. Este incremento del lastre mutacional es mayor cuanto mayor sea el máximo límite de coinfección permitido, n_{max} , (fig.11.4). Tal y como se describió en el capítulo 7, en el que se consideraba un tamaño de grupo constante, cuanto mayor es el tamaño de grupo, menor es la eficacia biológica relativa del fenotipo maestro sobre el mutante y, por tanto, mayor es el lastre mutacional. Por supuesto, la disminución de dicha eficacia biológica relativa se traduce en un aumento del umbral de error (el umbral de error es el valor de Q_m para el cual el lastre mutacional empieza a ser constante).

Por supuesto, tal y como se ha visto a lo largo de este trabajo, una ventaja o desventaja selectiva, v , del fenotipo mutante aumenta o disminuye, respectivamente, el lastre mutacional y el umbral de error (datos no mostrados).

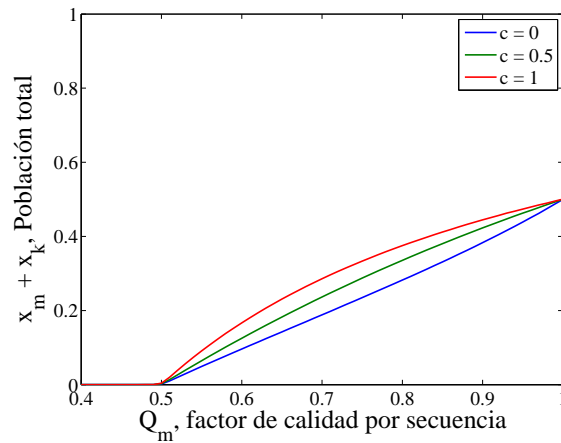
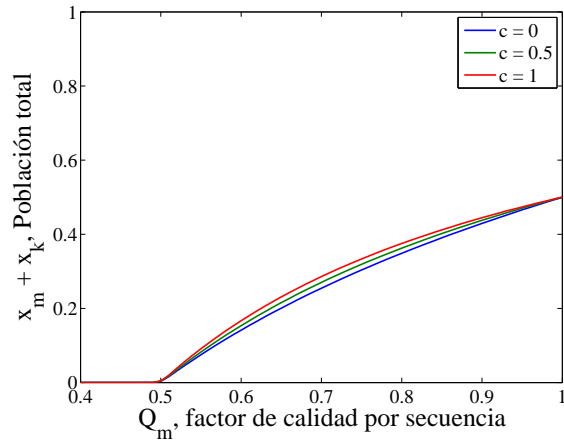
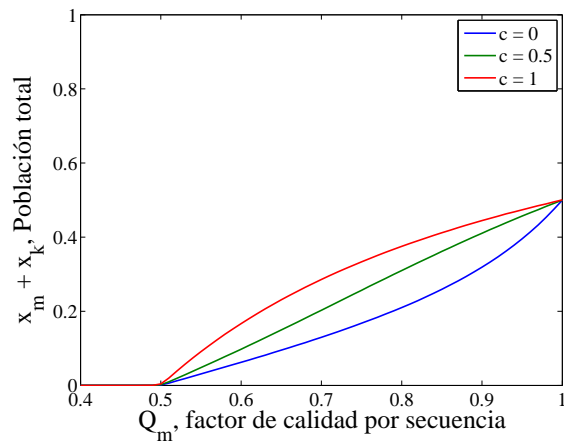
(a) $n_{max} = 2$ (b) $n_{max} = 5$ (c) $n_{max} = 10$

Figura 11.1: Variación del tamaño poblacional en función del factor de calidad Q_m para diferentes valores de c . En la figura se observa que ni el factor de interacción en *cis*, c , ni límite de coinfección, n_{max} alteran el umbral de extinción, $Q_{ex} = 0.5$. Sin embargo, la población total antes del mismo sí que depende de c , pero solo cuando el límite de coinfección es suficientemente grande. Igualmente, para un mismo valor de c menor que 1, cuanto mayor sea n_{max} menor será la población en el estado estacionario. $Bm = 10$; $Bk = 2$; $D = 5$; $v = 0$.

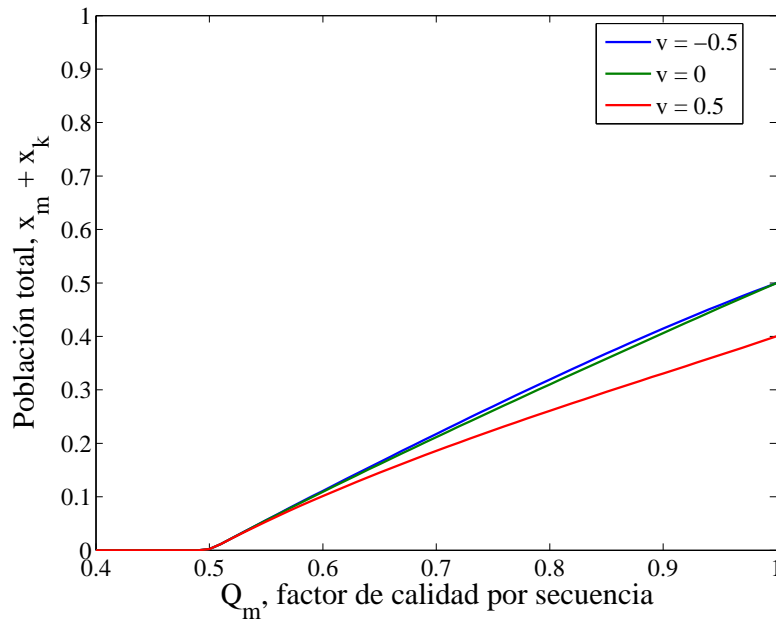


Figura 11.2: Variación del tamaño poblacional con el factor de calidad para diferentes valores de v . Cuando el tamaño del grupo de interacción depende del tamaño poblacional, el umbral de extinción no depende de la ventaja o desventaja selectiva en *cis*, v . $n_{max} = 5$; $c = 0.25$; $B_m = 10$; $B_k = 3$; $D = 5$.

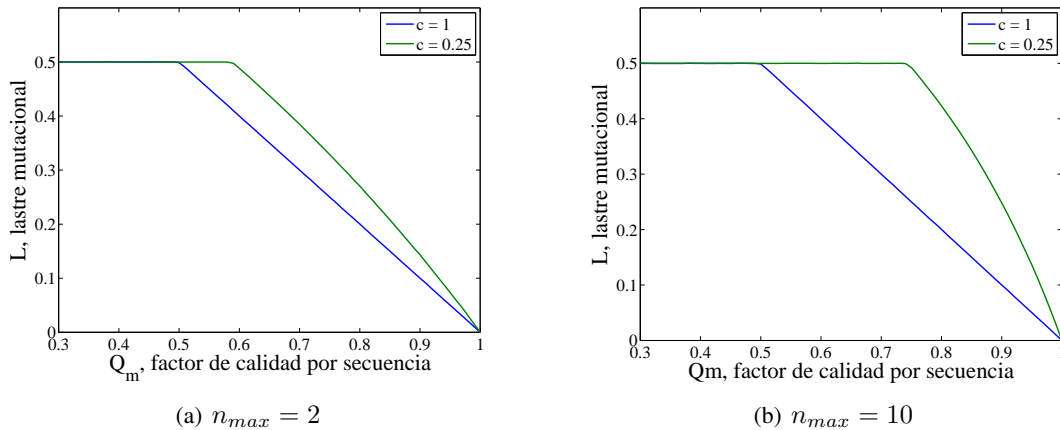


Figura 11.3: Variación del lastre mutacional con el factor de calidad por secuencia Q_m para diferentes valores de n_{max} y c El lastre mutacional para $c = 1$, no depende del límite de coinfección, n_{max} , sin embargo, en presencia de interacción en *trans* ($c < 1$), el lastre mutacional y el umbral de error son mayores cuanto mayor es n_{max} . $B_m = 10$; $B_k = 5$; $D = 1$; $v = 0$.

11.4. Tamaño de grupo promedio y lastre mutacional

El tamaño de grupo promedio en el estado estacionario depende, obviamente, del tamaño poblacional y, éste a su vez, de la productividad media de la cuasiespecie en el estado estacionario. En este modelo, la productividad media depende exclusivamente de la eficacia absoluta del fenotipo maestro, R_m , por lo que, en última instancia, el tamaño promedio de grupo en el estado estacionario tiende asintóticamente hacia el límite de coinfección al aumentar R_m , tal y como se observa en la figura 11.5. De hecho, en el estado estacionario, la productividad media puede aproximarse utilizando la expresión obtenida en el capítulo 7 para un tamaño de grupo constante, n :

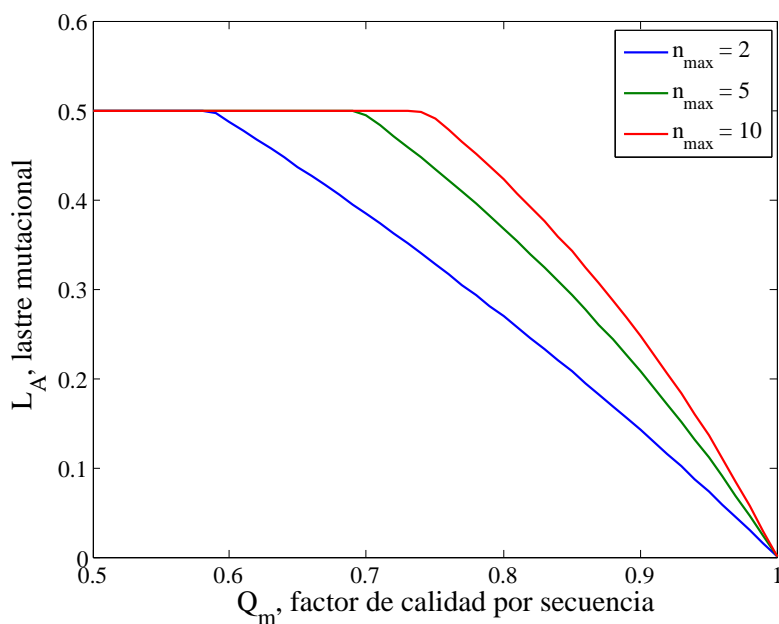


Figura 11.4: Variación del lastre mutacional con el factor de calidad por secuencia para diferentes valores de n_{max} cuando $c = 0.25$. El lastre mutacional y el umbral de error son mayores cuanto mayor es n_{max} . $c = 0.25$; $B_m = 10$; $B_k = 5$; $D = 1$; $v = 0$

$$\bar{A} = \frac{B_m Q_m (1 - c + cn)}{n(1 - Q_m + Q_m c) + Q_m (1 - c)} \quad (11.13)$$

introduciendo en lugar del tamaño de grupo constante n , el tamaño de grupo promedio obtenido en la simulación.

Ahora bien, puesto que la diferencia de eficacias biológicas entre el fenotipo maestro y el mutante disminuye al aumentar el tamaño de grupo, y éste depende, en última instancia, de la contribución del fenotipo maestro, el lastre mutacional -y el umbral de error- debe depender también de esta contribución. Efectivamente, es posible comprobar que, aun manteniendo constante la relación entre B_m y B_k , el lastre mutacional aumenta al aumentar $R_m = \frac{B_m}{D}$ tal y como muestra la figura 11.6. Esto implica que, cuando se tiene en cuenta el efecto de la densidad, el lastre mutacional no sólo depende de la relación entre las eficacias biológicas de los fenotipos, sino también de su valor absoluto, de forma que el lastre mutacional es mayor cuanto mayor es la eficacia biológica absoluta promedio de la cuasiespecie. El motivo es, por supuesto, que la eficacia biológica relativa del fenotipo mutante depende del tamaño de grupo de las interacciones, de forma que al aumentar la eficacia biológica absoluta y, por tanto, el tamaño poblacional, aumentamos su eficacia biológica relativa. Este fenómeno también había sido observado en el capítulo 10, en el que se estudiaba el caso en el que el factor de interacción c dependía del tamaño de población. Al igual que en dicho capítulo, puesto que el umbral de error también depende de la relación entre las eficacias biológicas efectivas del fenotipo mutante y el fenotipo maestro, su valor también aumenta al aumentar la eficacia biológica absoluta, aun cuando la superioridad, $\sigma_B = \frac{B_m}{B_k}$, se mantenga constante, tal y como se observa en la figura 11.6. Por supuesto, ambos fenómenos dependen de la existencia de interacciones en *trans* y, de hecho, cuando $c = 1$, ni el lastre mutacional ni el umbral de error dependen de la eficacia biológica absoluta del fenotipo maestro, R_m .

Sin embargo, no se puede descartar que este último resultado se deba, en parte, al paisaje de eficacias biológicas utilizado, tipo *Single-Peak*, ya que parece, hasta cierto punto, dependiente de que la productividad media dependa exclusivamente del fenotipo maestro.

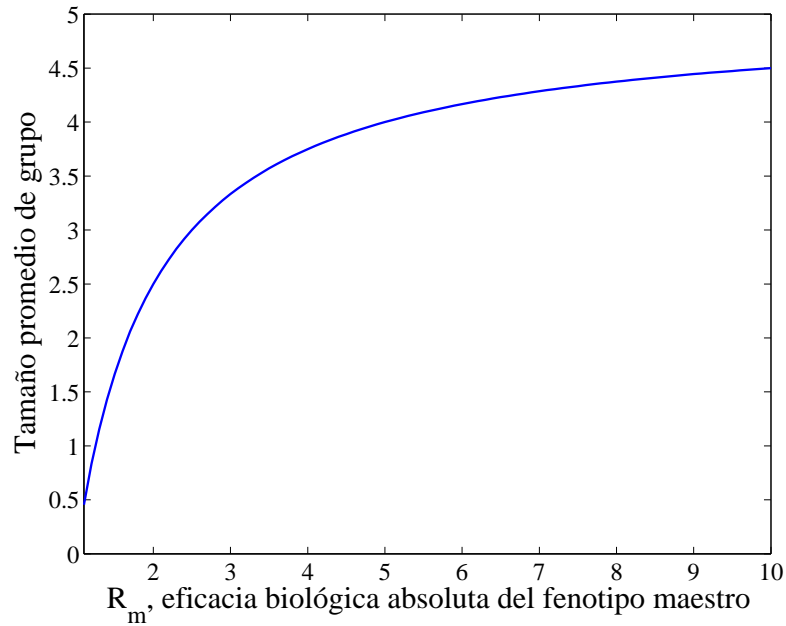


Figura 11.5: Variación del tamaño promedio de grupo con B_m . Cuanto mayor es la eficacia biológica R_m , mayor es el tamaño de grupo promedio. $n_{max} = 5$; $B_k = 0$; $c = 0.25$; $v = 0$; $Q_m = 1$

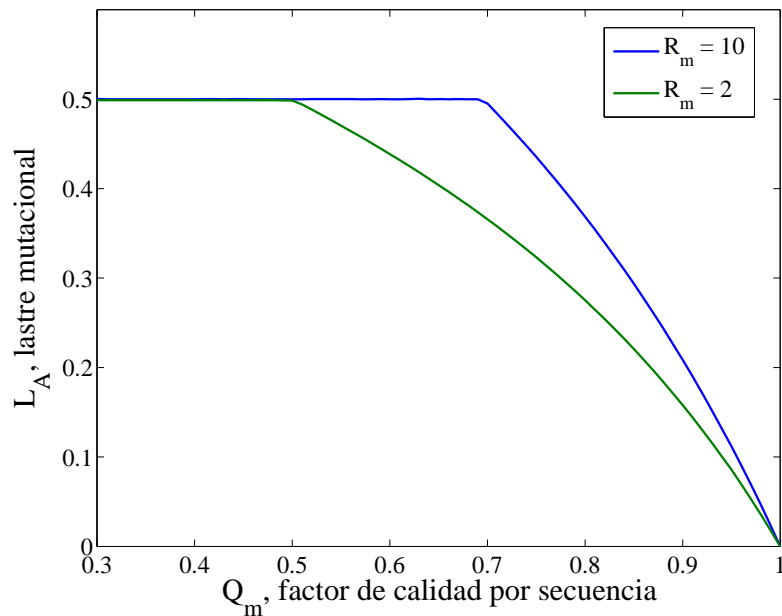


Figura 11.6: . Variación del lastre mutacional con el factor de calidad en función de la eficacia biológica absoluta, R_m . Cuanto mayor es el la eficacia biológica absoluta R_m , manteniendo constante la eficacia biológica relativa $\sigma_B = \frac{R_m}{R_k} = \frac{B_m}{B_k} = 2$, mayor es el valor del umbral de error. $D = 1$; $c = 0.25$; $n_{max} = 5$

Capítulo 12

Modelo anidado

En el capítulo anterior se estudió un modelo en el que las cuasiespecies interactuaban en *trans* en grupos cuyo tamaño dependía del tamaño poblacional. El resultado más importante de dicho capítulo es la independencia del umbral de extinción respecto al factor de interacción en *cis* y al tamaño máximo de grupo n_{max} , un resultado equivalente al obtenido en el capítulo 10, en el que se consideraba que el factor de interacción en *cis*, c , de la cuasiespecie era dependiente de la densidad poblacional. Ambos resultados sugerirían que la contribución de la defecación letal a la extinción de una cuasiespecie por mutagénesis letal sería bastante limitada debido al *feedback* eco-evolutivo, es decir, al efecto atenuante que tendrían los cambios demográficos en la acción interferente de los individuos defectores, tal y como había sido sugerido previamente (Steinmeyer y Wilke, 2009). Sin embargo, ambos modelos sólo ofrecen una perspectiva parcial del mecanismo que da lugar a la defecación letal.

En la defecación letal se pueden distinguir claramente dos contribuciones. Por un lado, la coinfección de una célula por virus defectores y virus viables, que resulta en la interferencia de estos últimos. Esta contribución necesita de multiplicidades de infección relativamente elevadas para que la coinfección pueda tener lugar. Puesto que al disminuir el tamaño poblacional disminuye la multiplicidad de infección, esta contribución se auto-atenua al avanzar el proceso de extinción. Sin embargo, la defecación letal tiene otra contribución que depende de la generación de virus mutantes defectores por los virus RNA que infectan la célula, y que pueden interferir en el desarrollo de la infección en dicha célula. Esta *autodefecación* no se ve atenuada en ningún caso por la disminución del tamaño poblacional puesto que no depende de la multiplicidad de infección.

Los modelos presentados en los capítulos 10 y 11 sólo tienen en cuenta la primera contribución a la defecación letal: la interacción inicial entre individuos defectores y viables, que depende del tamaño poblacional. Sin embargo, ninguno de ellos tiene en cuenta el hecho de que durante la replicación intracelular de un virus RNA, la progenie mutante que produce dicho virus durante dicha replicación puede interferir con la reproducción viral. Es decir, los modelos anteriores no tenían en cuenta la producción intracelular *de novo* de mutantes defectivos y el efecto que ello tiene en la interferencia y la defecación letal. En este capítulo se estudiará un modelo que pretende tener en cuenta las dos contribuciones a la defecación letal: la interacción entre especies autorreplicativas defectoras y viables en grupos cuyo tamaño depende de la densidad de población, pero también la autodefecación en el seno de dichos grupos.

12.1. Descripción del Modelo

En el modelo presentado en este capítulo se supone que se forman grupos de tamaño variable dentro de los cuales se produce una dinámica de cuasiespecies que interactúan en *trans*. Es decir, los

individuos que forman el grupo se consideran la población inicial de una dinámica de cuasiespecies que se desarrolla hasta cumplir una condición final definida previamente (por ejemplo, un tiempo de infección, una cantidad total de virus o una combinación de ambas).

De esta forma se tiene en cuenta tanto la dinámica de formación de grupos, que depende de las condiciones demográficas y de la composición genética de la población, como el desarrollo de los procesos genético-evolutivos dentro de los grupos. Ambas dinámicas, dentro y fuera de los grupos, se condicionan mutuamente. Se supone que los grupos tratan de representar, en una primera aproximación, las células, por lo que este modelo tendría en cuenta tanto la dinámica extracelular, de coinfección a diferentes multiplicidades de infección, como la dinámica intracelular, que en este caso se reduce a la acción de la selección y la mutación en presencia de interacciones en *trans*. Por tanto, se podía considerar que este modelo es un modelo de los considerados *nested* o anidados (Sasaki y Iwasa, 1991; Gilchrist y Sasaki, 2002; Krakauer y Komarova, 2003; Coombs et al., 2007).

12.1.1. Dinámica fuera de los grupos

La dinámica fuera de los grupos se basa en las mismas consideraciones que el modelo del capítulo anterior. Es decir, los grupos se forman con individuos de ambos fenotipos y con “huecos libres” z hasta completar su tamaño máximo, suponiendo que $x_m + x_k + z = 1$. Para que los individuos se repliquen dentro de un grupo, tiene que haber “huecos libres” dentro del mismo. Al igual que en el capítulo anterior, la disminución de la población disminuirá el tamaño promedio de los grupos, haciendo que las interacciones entre individuos sean menores. Teniendo esto en cuenta, el modelo está representado por el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales:

$$\begin{aligned}\frac{dx_m}{dt} &= z f_{mm} x_m + z f_{mk} x_k - d x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= z f_{km} x_m + z f_{kk} x_k - d x_k \\ \frac{dz}{dt} &= d(x_m + x_k) - z [(f_{mm} + f_{km}) x_m + (f_{mk} + f_{kk}) x_k]\end{aligned}\tag{12.1}$$

Que puede reducirse a un sistema de ecuaciones diferenciales de tipo logístico, puesto que $z = 1 - x_m - x_k$.

$$\begin{aligned}\frac{dx_m}{dt} &= (1 - x_m - x_k) (f_{mm} x_m + f_{mk} x_k) - d x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= (1 - x_m - x_k) (f_{km} x_m + f_{kk} x_k) - d x_k\end{aligned}\tag{12.2}$$

Donde d es la tasa de degradación de los fenotipos maestro y mutante fuera de los grupos, mientras que los f_{ij} son las tasas de producción de ambos fenotipos. Por un lado, los f_{ii} son las tasas de producción del fenotipo i en grupos donde hay individuos de ambos fenotipos, lo que incluye tanto la replicación del fenotipo i como la mutación desde el fenotipo j . Por otro lado, los f_{ij} son las tasas de producción de los fenotipos i donde sólo hay individuos del fenotipo j . Es decir, f_{mm} y f_{kk} son las tasas de producción de los fenotipos maestro y mutante en todos aquellos grupos que están formados por individuos de ambos fenotipos. Sin embargo, f_{mk} es la tasa de producción de individuos del fenotipo maestro en aquellos grupos formados exclusivamente por individuos del fenotipo mutante. Puesto que en el paisaje de eficacia biológica *Single-Peak* que se utiliza en este modelo se considera, como es habitual, que no hay *back-mutation* desde el fenotipo mutante al fenotipo maestro, $f_{mk} = 0$. Igualmente, f_{km} es la tasa de producción de individuos del fenotipo mutante en aquellos grupos exclusivamente formados por individuos del fenotipo maestro. Para cualquier factor de calidad $Q_m < 1$, este valor es diferente de cero. Si, por el contrario, si se considera que no hay mutación, entonces

$f_{km}(Q_m = 1) = 0$. De esta forma, el sistema de ecuaciones diferenciales definitivo para el paisaje *Single-Peak* es:

$$\begin{aligned}\frac{dx_m}{dt} &= (1 - x_m - x_k) f_{mm} x_m - dx_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= (1 - x_m - x_k) (f_{km} x_m + f_{kk} x_k) - dx_k\end{aligned}\quad (12.3)$$

Al igual que en el capítulo anterior, se asumirá un límite de coinfección, o tamaño máximo de grupo inicial, igual a n_{max} , y un tamaño mínimo de grupo igual a uno. Los valores de los f_{ij} dependen, por tanto, de la probabilidad de que se formen grupos de tamaño K , $P(K)$ (ecu. 11.2), y la probabilidad de que dichos grupos estén formados por m individuos del fenotipo maestro y $K - m$ individuos del fenotipo mutante $P(m, K - 1 - m)$ (ecu. 11.3), multiplicadas por la tasa de producción de unos y otros individuos en dichos grupos, es decir:

$$f_{mm} = \sum_{K=1}^n \left[P(K) \sum_{m=0}^{K-1} (P(m, K - 1 - m) R_m(K, m)) \right] \quad (12.4)$$

$$f_{kk} = \sum_{K=1}^n \left[P(K) \sum_{m=0}^{K-1} (P(m, K - 1 - m) R_k(K, m)) \right] \quad (12.5)$$

$$f_{km} = \sum_{K=1}^n \left[P(K) \left(\frac{x_m}{x_m + x_k} \right)^K R_k(K, m = K) \right] \quad (12.6)$$

Donde $R_i(K, m)$ es la tasa de producción de individuos del fenotipo i en un grupo de tamaño K con m individuos del fenotipo maestro y $K - m$ del fenotipo mutante. En la ecuación 12.6 puede comprobarse que el valor de f_{km} sólo tiene en cuenta los grupos formados exclusivamente por K individuos del fenotipo maestro.

12.1.2. Dinámica dentro de los grupos

La dinámica dentro de los grupos tiene como objetivo determinar el valor de las tasas de producción $R_i(K, m)$. Como se ha comentado anteriormente, se utilizará la distribución de individuos que forman un grupo como condición inicial de una integración numérica del modelo de cuasiespecies que interaccionan en *trans* visto en el capítulo 8, (ecu. 8.19). Esta integración numérica se lleva a cabo hasta una condición final prefijada. Los resultados obtenidos al integrar numéricamente el modelo hasta la condición final es lo que se utiliza para obtener los $R_i(K, m)$.

Cuando se considera la formación de grupos de tamaño K formados por m individuos del fenotipo maestro y $K - m$ del fenotipo mutante, se están considerando individuos discretos. Sin embargo, el modelo de cuasiespecies que interaccionan en *trans* es un sistema determinista que trabaja con concentraciones. El primer paso, por tanto, es convertir los individuos discretos que forman los grupos en concentraciones iniciales para el modelo de cuasiespecies. Para ello lo que se hace es fijar un valor c_0 , que es la concentración equivalente de un único individuo en un grupo. Es decir, si un grupo está formado por K individuos, m de los cuales pertenecen al fenotipo maestro, las condiciones iniciales del modelo de cuasiespecies son:

$$\begin{aligned}x_m(t = 0) &= mc_0 \\ x_k(t = 0) &= (K - m)c_0\end{aligned}\quad (12.7)$$

Cumpléndose, por tanto, que $x_m(t=0) + x_k(t=0) = Kc_0$

Esto implica que aquellos grupos formados por mayor número de individuos tienen una concentración inicial más alta, de forma que, a igual distribución poblacional, alcanzarán antes la condición final.

La condición final determina cuándo acaba la integración numérica del modelo de cuasiespecies que interaccionan en *trans*. Existen diferentes posibilidades: fijar un tiempo máximo, un tamaño máximo de población intracelular, una combinación de ambas, etc. Sin embargo, por simplicidad se utilizará la condición más sencilla: suponer que la integración numérica ha alcanzado el estado estacionario del sistema. Por supuesto, esta condición no tiene, en principio, relación alguna con la realidad, sin embargo, a efectos de lo que se quiere estudiar en este capítulo, es decir, la dependencia del umbral de extinción y el tamaño poblacional con las interacciones en *trans*, puede considerarse una buena primera aproximación. Además, cómo se comentará al final de este capítulo, el estudio de otras condiciones finales no altera los resultados esenciales.

Las tasas de producción $R_i(K, m)$ van a depender de dos factores.

1. La constante cinética de producción de individuos de un grupo, $k(K, m)$, que se considera inversamente relacionada con el tiempo que tarda en alcanzarse la condición final.
2. La proporción de individuos de uno u otro fenotipo que produce dicho grupo, que es igual a las concentraciones, x_i , de ambos fenotipos cuando se alcanza la condición final.

Teniendo esto en cuenta se considerará que:

$$\begin{aligned} R_m(K, m) &= b_0 k(K, m) x_m(K, m) \\ R_k(K, m) &= b_0 k(K, m) x_k(K, m) \end{aligned} \quad (12.8)$$

donde b_0 es una constante que determina la producción máxima teórica de individuos que podría darse en el grupo. En realidad esta producción máxima nunca se alcanza ya que, en el estado estacionario la concentración total de especies autorreplicantes siempre es menor que la concentración total, es decir $x_m + x_k < N$. De hecho, la concentración total de especies autorreplicativas $r_m = x_m + x_k$, puede ser tomado como una medida de la capacidad de una determinada distribución de individuos de aprovechar los recursos de la célula. De esta manera, las tasas de producción resultarían:

$$\begin{aligned} R_m(K, m) &= b_0 k(K, m) r_m(K, m) y_m(K, m) \\ R_k(K, m) &= b_0 k(K, m) r_m(K, m) y_k(K, m) \end{aligned} \quad (12.9)$$

Donde las y_i representan las fracciones molares de los diferentes fenotipos. Puesto que la condición final elegida es la llegada al estado estacionario, todos los grupos tienen el mismo $r_m(K, m)$ y el mismo $y_i(K, m)$. Esto se debe a que el estado estacionario del modelo de cuasiespecies que interaccionan en *trans* no depende de las condiciones iniciales. Sin embargo, el tiempo de llegada al estado estacionario sí que es dependiente, en general, de las condiciones iniciales, de forma que las diferencias en los $R(K, m)$ vendrían determinadas por las diferencias en $k(K, m)$. Determinar el tiempo de llegada al estado estacionario no es un problema trivial ya que, en teoría, éste sólo se alcanza a tiempo infinito. Afortunadamente, es posible obtener un tiempo promedio de llegada al estado estacionario, el llamado tiempo característico, T_c (Llorens et al., 1999). La expresión para calcular analíticamente el tiempo característico de la transición de una determinada variable viene definida por:

$$T_c = \frac{\int_0^{\infty} t |\dot{y}_1| dt}{\int_0^{\infty} |\dot{y}_1| dt} \quad (12.10)$$

Sin embargo, cuando se carece de la expresión explícita de $y(t)$, como ocurre en este caso, es posible calcular el tiempo característico de una transición hallando el área por encima de la trayectoria de $y(t)$, obtenida por integración numérica, y por debajo de la asíntota que corresponde al estado estacionario, y dividiéndola por la altura de dicha asíntota, tal y como se describió en (Llorens et al., 1999). En este caso se ha calculado el tiempo característico de llegada al estado estacionario de la población total, $x_T = x_m + x_k$. Una vez hallado este tiempo característico de llegada al estado estacionario, T_c , es posible considerar que la constante cinética de producción de individuos por un grupo es inversamente proporcional a su valor:

$$k(K, m) = \frac{1}{T_c(K, m)} \quad (12.11)$$

Esta constante presenta las características de una constante cinética de primer orden y, en principio, tiene el sentido de una “media ponderada” de todas las constantes cinéticas que intervienen en la dinámica intracelular.

12.2. Resultados

El estado estacionario del modelo de cuasiespecies que interactúan en *trans* no depende de las condiciones iniciales. Por tanto, todos los grupos que tengan al menos un individuo del fenotipo maestro, puesto que no hay *back-mutation*, alcanzarán el mismo estado estacionario. Por otra parte, todos los grupos que no contengan ningún individuo del fenotipo maestro también alcanzarán el mismo estado estacionario diferente, obviamente, del anterior. La única diferencia está en el tiempo que tardan en alcanzar dicho estado estacionario, que es menor cuanto mayor sea la condición inicial, es decir, el tamaño de grupo, y también es menor cuanto mayor sea el número de fenotipos viables en la población inicial.

Umbral de extinción e interacciones en *trans*

En los modelos anteriores en los que se había considerado el efecto de la densidad (capítulos 10 y 11) se vio que el factor de interacción en *cis* no tenía ningún efecto sobre el umbral de extinción. Sin embargo, al considerar que existe una dinámica de defeción en el seno de los grupos vuelve a aparecer una gran dependencia del umbral de extinción respecto del factor de interacción en *cis*, c . En la figura 12.1 se muestra como varía la población total con el factor de calidad Q_m para diferentes valores de c , observándose claramente que cuanto menor es c mayor es el umbral de extinción, es decir, son necesarias menores tasas de mutación para extinguir la cuasiespecie. De hecho, incluso considerando que la tasa de interacción en *cis* depende inversamente de la densidad de población según una función lineal de la forma, $c = 1 - x_m - x_k$, tal y como se consideró en el capítulo 10, la población se extingue a menores tasas de mutación que si se considera que no existen interacciones en *trans*.

La figura 12.2 muestra la variación del umbral de extinción, Q_{ex} , en función del factor de interacción en *cis*, c , observándose de nuevo que aquel aumenta cuanto mayores son las interacciones en *trans* en el seno de la cuasiespecie.

Influencia de los parámetros “extracelulares” (b_0, d, n_{max})

En el modelo hay tres parámetros que se podrían considerar extracelulares: la productividad máxima por grupo b_0 , el factor de degradación de los individuos fuera del grupo d , y el tamaño de máximo de grupo o límite coinfección, n_{max} . Estrictamente, este último parámetro sí afecta a la dinámica

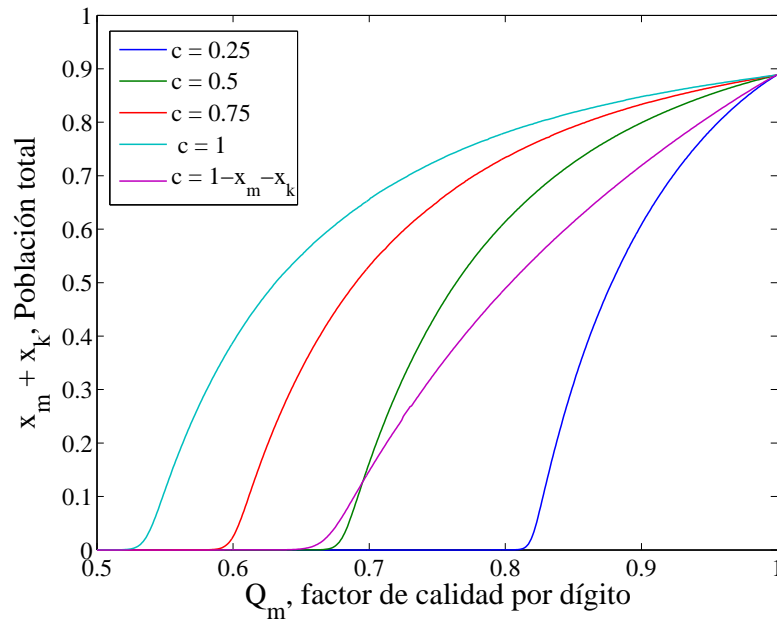


Figura 12.1: Población total en función del factor de calidad Q_m para diferentes valores de c . El umbral de extinción es mayor cuanto mayores son las interacciones en *trans*. Incluso en presencia de interacciones en *trans* dependientes de densidad, línea morada, el umbral de extinción es mayor que para el caso $c = 1$. $B_m = 10$; $B_k = 2$; $D = 3$; $v = 0$; $b_0 = 10$; $d = 1.5$; $n_{max} = 2$; $c_0 = 0.01$

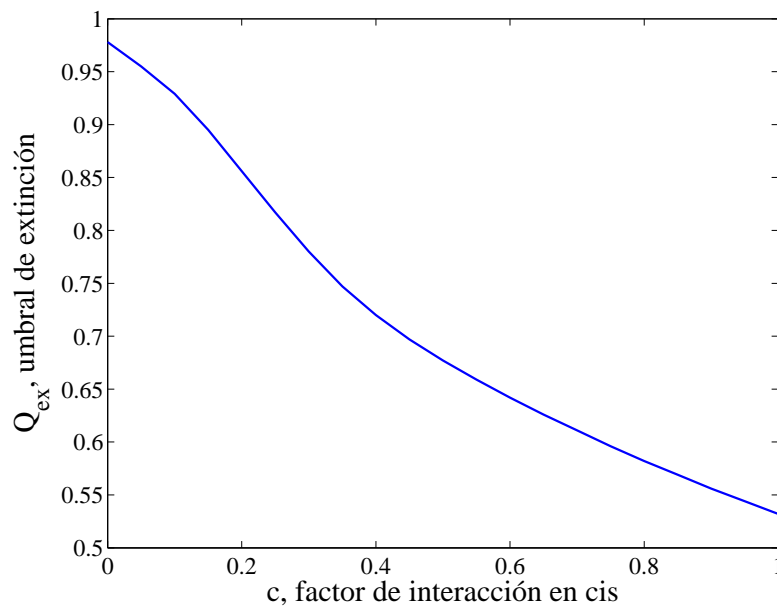


Figura 12.2: Variación del umbral de extinción, Q_{ex} en función del factor de interacción en *cis*, c . $B_m = 10$; $B_k = 2$; $D = 3$; $v = 0$; $b_0 = 10$; $d = 1.5$; $n_{max} = 5$; $c_0 = 0.01$

intracelular, ya que determina las condiciones iniciales, sin embargo, como no es un parámetro que se considere en la simulación intracelular se tratara, por simplicidad, en este grupo.

En la figura 12.2, se observa el efecto de n_{max} sobre la población total, para diferentes valores de c . Se observa que un mayor n_{max} aumenta la población total a todos los valores de Q_m , pero no afecta al umbral de extinción de la cuasiespecie. Por un lado, es lógico que el tamaño n_{max} no altere el umbral de extinción ya que, en última instancia, éste va a depender de aquellos grupos formados por un único individuo, cuya productividad es la misma para diferentes valores de n_{max} . Por otro lado, cuanto mayor sea n_{max} , mayores podrán ser los tamaños iniciales de los grupos y, por tanto, mayor será la productividad ya que el tiempo característico de llegada al estado estacionario disminuye y eso aumenta la constante cinética de producción k .

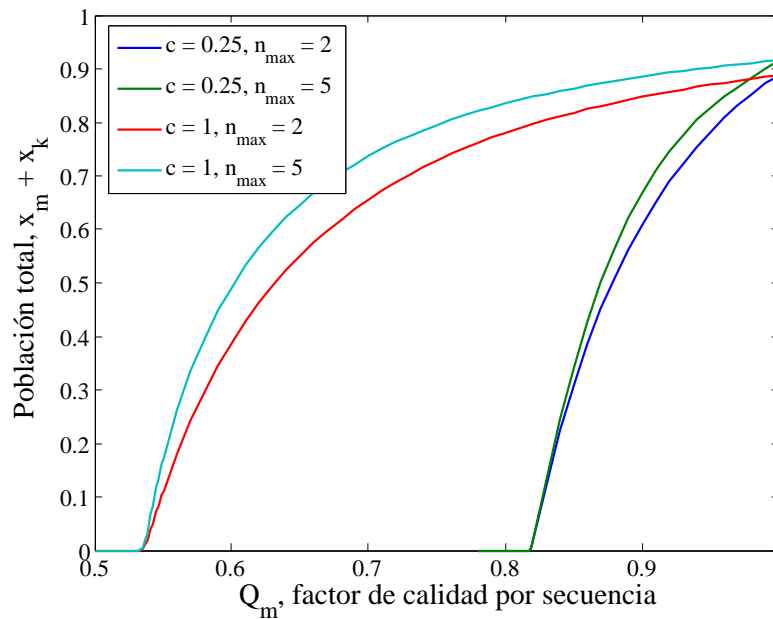


Figura 12.3: Variación de la población total en función del factor de calidad para diferentes valores de c y n_{max} . El umbral de extinción, Q_{ex} , no depende del límite de coinfección, n_{max} , sino del factor de interacción en *cis*, c . $B_m = 10$; $B_k = 2$; $D = 3$; $v = 0$; $b_0 = 10$; $d = 1.5$; $c_0 = 0.01$

Los parámetros b_0 y d determinan en gran medida el comportamiento demográfico del sistema. Al igual que en el caso de los modelos anteriores, lo realmente importante es la relación entre ambos, que es una especie de eficacia biológica absoluta “extracelular” y que, por analogía con los modelos anteriores, se denominará $R = \frac{b_0}{d}$. En la figura 12.4 se observa que al aumentar R , el umbral de extinción disminuye, tanto para $c = 1$ y $c = 0.25$, como para el caso en el que las interacciones en *trans* dependen del tamaño poblacional, $c = 1 - x_m - x_k$, de forma que son necesarias tasas de mutación más altas para que la población se extinga.

Influencia de los parámetros “intracelulares” (B_m, B_k, v, D)

En este modelo, los resultados obtenidos muestran que cuanto mayor es la eficacia biológica absoluta “intracelular” ($R_m = \frac{B_m}{D}$) menor es el umbral de extinción (datos no mostrados). Sin embargo, se ha observado que cuanto mayor es la contribución de B_m , incluso manteniendo las relaciones entre B_m, B_k y D constantes, menor es el umbral de extinción. El motivo es que cuanto menor es B_m, B_k y D , mayor es el tiempo característico de llegada al estado estacionario (datos no mostrados) y, por tanto, menor es la constante cinética de producción de individuos por los grupos, k , a pesar de que tanto la concentración total de especie autorreplicante dentro del grupo (que depende

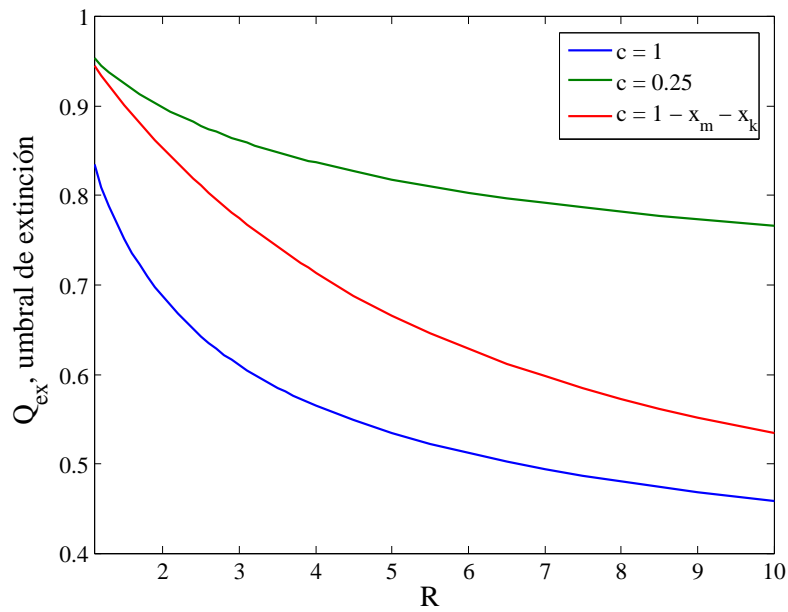


Figura 12.4: Umbral de extinción en función de $R = \frac{b_0}{d}$ Cuanto mayor es la eficacia biológica absoluta fuera de los grupos, R , menor es el umbral de extinción del sistema. $B_m = 10; B_k = 2; D = 3; v = 0; c0 = 0.01; n_{max} = 5$

de la relación $R_m = \frac{B_m}{D}$) y la fracción poblacional de cada fenotipo (que depende de c y de la superioridad $\sigma_B = \frac{B_m}{B_k}$) no varían. La figura 12.5 muestra este fenómeno tanto para $c = 1$ (12.5a) como para $c = 0.25$ (12.5b).

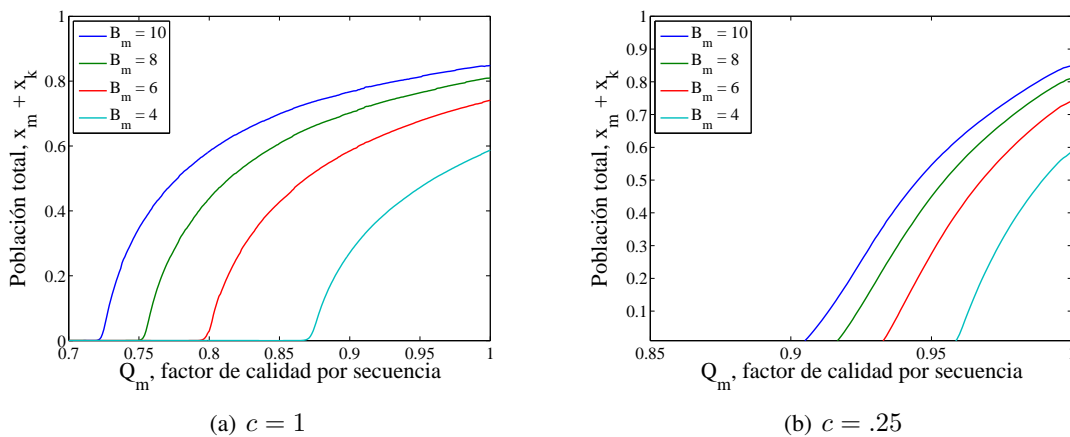


Figura 12.5: Variación de la población total con el factor de calidad por secuencia para diferentes valores de B_m, B_k y D . Cuanto mayor es el valor de B_m menor es el umbral de extinción. $b_0 = 10; d = 1.5; c0 = 0.01; n_{max} = 5; \sigma_B = \frac{B_m}{B_k} = 5; R_m = \frac{R_m}{D} = 2$.

En cuanto al efecto de la superioridad ($\sigma_B = \frac{B_m}{B_k}$), en capítulos anteriores se ha visto que si $v = 0$, la productividad media de la población no depende de B_k y, por tanto, tampoco dependía el umbral de extinción. Sin embargo, al tener en cuenta tanto la dinámica intracelular como la extracelular el resultado es diferente.

La figura 12.6 muestra que, en el modelo anidado, una menor superioridad se traduce en un aumento en el umbral de extinción. Es decir, manteniendo B_m constante, cuanto mayor es la contribución del fenotipo mutante, B_k , menores son las tasas de mutación necesarias para la extinción. El motivo es que si bien los aumentos de B_k no varían la productividad media de la población dentro de los grupos, sí que alteran el equilibrio mutación-selección, de forma que los grupos producen una mayor proporción de fenotipo mutante. Puesto que el fenotipo mutante no es demográficamente estable, un aumento en la proporción de dicho fenotipo se traduce en un mayor umbral de extinción. Tal y como muestra la figura 12.6, el fenómeno también se produce en ausencia de interacciones en *trans* (fig. 12.6a), pero es mayor cuanto menor es c , ya que las interacciones en *trans* aumentan la proporción de fenotipo mutante en la población.

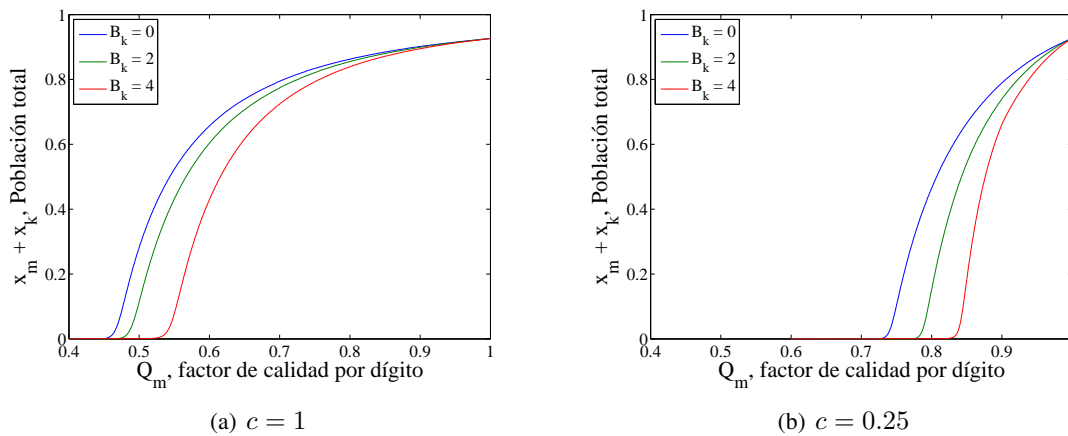


Figura 12.6: Variación de la población total con el factor de calidad por secuencia para diferentes valores de B_k y de c . Cuanto mayor es el valor de B_k , mayor es el valor del umbral de extinción, independientemente del valor del factor de interacción en *cis*, c . $B_m = 10$, $D = 3$; $v = 0$; $b_0 = 10$, $d = 1$; $c_0 = 0.01$; $n_{max} = 2$;

La figura 12.7 muestra el efecto de v sobre el tamaño poblacional y el umbral de extinción cuando $B_k = 0$. Cuanto mayor es la ventaja v del fenotipo mutante sobre el fenotipo maestro mayor es el umbral de extinción, por lo que la población se extingue a menores tasas de mutación. En el caso particular $B_k = 0$, cuando $c = 1$, v no tiene ningún efecto sobre la dinámica poblacional (datos no mostrados). Sin embargo, si $B_k > 0$, aún en el caso $c = 1$, los aumentos de v suponen disminuciones del umbral de extinción, tal y como muestra la figura 12.8, aunque el efecto es claramente menor que en presencia de interacciones en *trans*.

El aumento de la tasa de degradación dentro de los grupos, D , también aumenta el umbral de extinción (datos no mostrados).

Otras condiciones finales

Se han llevado a cabo simulaciones considerando otras condiciones finales para la integración numérica que representa la dinámica intragrupo. Estas condiciones finales han sido: alcanzar un tamaño máximo de grupo, fijar un tiempo máximo de simulación y una combinación de las dos anteriores (o bien alcanzar un tamaño máximo o, en caso de no hacerlo, alcanzar un tiempo máximo). En todos los casos, los resultados fundamentales son parecidos a los obtenidos considerando como condición final la llegada al estado estacionario, aunque la dinámica global para cada una de las condiciones presente una serie de particularidades. Sin embargo, puesto que el objetivo de este capítulo era, fundamentalmente, mostrar el efecto que tiene sobre el umbral de extinción el considerar la producción de mutantes defectivos *de novo* dentro de los grupos, se ha preferido presentar el resultado de la condición más simple posible. En este sentido hay que señalar dos cosas. *A priori* esta condición parece ser, sin duda, la “menos realista”, pero es que este modelo no pretende reflejar de forma realista

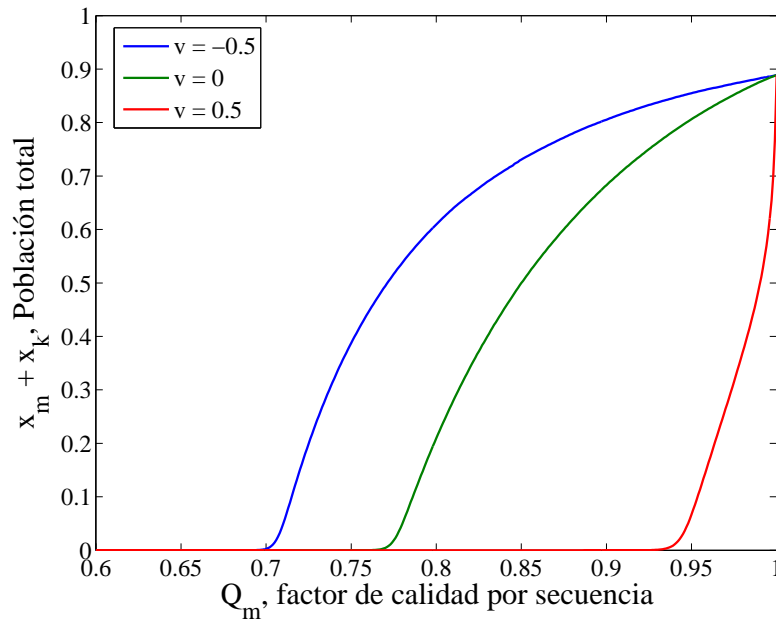


Figura 12.7: Variación de la población total con el factor de calidad por secuencia para diferentes valores de v cuando $B_k = 0$. Cuanto mayor es la ventaja selectiva en *cis*, v , mayor es el umbral de extinción. $B_m = 10$; $B_k = 0$; $D = 3$; $b_0 = 10$, $d = 1.5$; $c_0 = 0.01$; $n_{max} = 2$; $c = 0.25$.

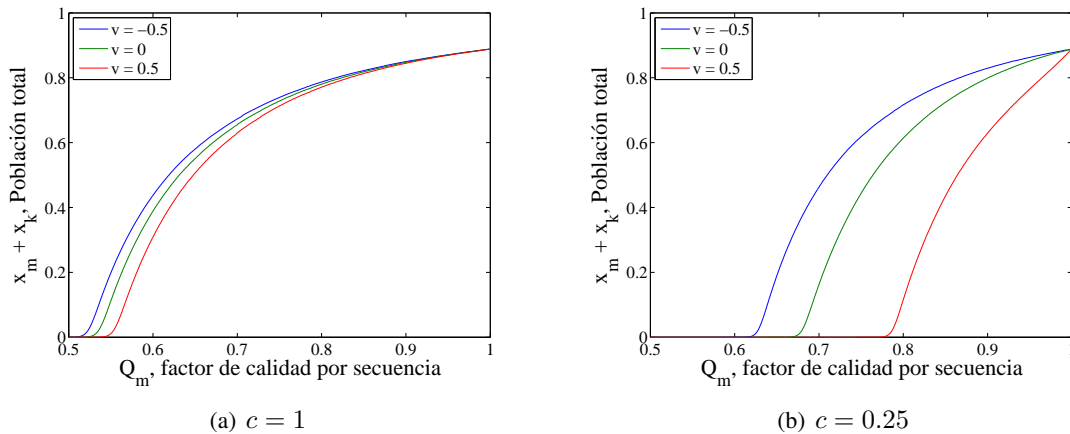


Figura 12.8: Variación de la población total con el factor de calidad por secuencia para diferentes valores de v cuando $B_k > 0$. La ventaja o desventaja en *cis* v afecta al umbral de extinción para ambos valores de c , pero el efecto es considerablemente mayor cuanto menor es c . $B_m = 10$, $D = 3$; $v = 0$; $b_0 = 10$, $d = 1$; $c_0 = 0.01$; $n_{max} = 2$;

la dinámica de infección intracelular de un virus RNA, sino simplemente estudiar un aspecto muy concreto que a veces se obvia cuando se consideran las interacciones en grupos. En segundo lugar, puesto que el estado estacionario del sistema de ecuaciones diferenciales utilizado para representar la dinámica intragrupo no depende de las condiciones iniciales, el modelo desprecia gran parte de la dinámica de coinfección por especies de los fenotipos mutante-defector y maestro. Es decir, considera la situación menos favorable para la defeción letal. Sin duda, esto no afecta al umbral de extinción que, como se ha considerado anteriormente, al final sólo depende de los grupos iniciados por un único individuo, pero sí que minimiza el efecto de la defeción letal sobre el tamaño poblacional a tasas de mutación más bajas, en las que la densidad poblacional aún es suficientemente alta como para que la coinfección por especies del fenotipo mutante tenga importancia.

Capítulo 13

Discusión

A lo largo de esta Tesis se han ido obteniendo una serie de resultados que, en la mayoría de los casos, se han ido interpretando conforme eran presentados. Por este motivo, el objetivo de esta discusión no será tanto volver a interpretar los resultados presentados como tratar de ponerlos en contexto unos con otros, así como con los trabajos de otros autores. En este sentido, en esta discusión tampoco se plantea hacer una revisión minuciosa de todos y cada uno de los resultados, sino sólo de aquellos aspectos que sean más relevantes para ofrecer una visión de conjunto de este trabajo. En las primeras cuatro secciones se discutirán los resultados obtenidos a partir de los modelos teóricos utilizados a lo largo de la Tesis. La sección quinta pretende ser un repaso crítico de los modelos utilizados a lo largo de la misma, para mostrar sus debilidades y fortalezas. En la sección sexta se ha tratado de extrapolar y contextualizar los resultados obtenidos utilizando dichos modelos, al campo de los virus RNA, especialmente en lo que respecta a la posibilidad de su extinción por acumulación de mutaciones. Finalmente, la séptima y última sección de la discusión engloba una serie de reflexiones sobre los posibles problemas que pueden afectar a la idea de mutagénesis letal como terapia antiviral así como algunas posibles soluciones, con vistas, sobre todo, a continuar este trabajo posteriormente.

13.1. Selección natural, supervivencia del más robusto y umbral de error

La idea de extinguir a los virus RNA aumentando su tasa de mutación tuvo como inspiración y como primera explicación los conceptos de umbral de error y de entrada en catástrofe de error. Tal y como se vio en la introducción, desde entonces se han planteado muchas dudas sobre la capacidad de ambos conceptos para explicar la mutagénesis letal. La primera parte de este trabajo se centró en tratar de comprender cuál es la esencia de dichos fenómenos, desde un punto de vista teórico, con el objetivo de tratar de contribuir a aclarar dicha problemática. En esta sección se discutirán algunas de las cuestiones más interesantes que surgen a la vista de los resultados.

¿Puede la selección natural explicar la aparición de un umbral de error?

Desde su primera formulación en 1971, la existencia de un umbral de error más allá del cual una cuasiespecie entra en catástrofe de error se ha asociado con la desaparición del contenido informativo de la misma o la imposición de la mutación sobre la selección (ver la sección 1.1.4 de la introducción para una visión más detallada). Sin embargo, en el capítulo 3 de esta Tesis, se demostró que la aparición de un umbral de error, tal y como se presenta en el paisaje *Single-Peak*, es, en realidad, un caso específico de supervivencia del más robusto y, por tanto, de selección natural. Es decir, la existencia

de un umbral de error definido en paisajes tipo *Single-Peak* es el resultado de la acción de la selección natural sobre el *trade-off* entre la capacidad replicativa y la robustez mutacional.

Para demostrarlo, en la sección 3.1 se reformuló el modelo de cuasiespecies más sencillo que presenta un umbral de error en términos de eficacias biológicas efectivas relativas y un coeficiente de selección que adopta la forma:

$$s(Q_m) = \frac{A_k}{A_m Q_m} - 1 \quad (13.1)$$

La ecuación 13.1 muestra que el coeficiente de selección no es más que el cociente entre la eficacia biológica efectiva de los fenotipos mutante y maestro, menos uno, entendiendo por eficacia biológica efectiva el producto del factor de amplificación por el factor de calidad fenotípico. Puesto que en este modelo no se considera la posibilidad de *back-mutation* desde el fenotipo mutante al fenotipo maestro, el factor de calidad fenotípico del fenotipo mutante (la probabilidad de obtener una secuencia perteneciente al fenotipo mutante por mutación de otra secuencia de dicho fenotipo) es igual a uno, de modo que no aparece en el numerador.

Gracias a esta reformulación es posible mostrar fácilmente que el umbral de error es el valor del factor de calidad, Q_m , para el que el coeficiente de selección, s se hace cero (fig.3.1). Es decir, el coeficiente de selección es positivo más allá del umbral de error, lo que significa que a partir de dicho umbral del factor de calidad, el fenotipo mutante presenta una ventaja selectiva sobre el fenotipo maestro. Esto implica que antes del umbral de error, $Q_m > Q_c$, la selección natural favorece al fenotipo maestro, pero cuando $Q_m < Q_c$, la selección natural favorece al fenotipo mutante.

En último término, la aparición de un umbral de error se debe a que, cuando $Q_m = Q_c$, se produce una bifurcación transcítica que se caracteriza porque la diferencia de los dos principales autovalores del sistema linealizado se hace mínima en el umbral de error (Nowak y Schuster, 1989; Schuster y Stadler, 2008). Esto hace, entre otras cosas, que el tiempo para fijar una secuencia objetivo aumente (Stich et al., 2007), o que el tiempo característico de transición al estado estacionario tienda a infinito en el umbral de error, en ausencia de *back-mutation*, o que alcance un valor máximo en presencia de la misma (Marín et al., 2012). Ambos resultados refuerzan la idea de que el umbral de error marca a favor de qué fenotipo está actuando la selección natural, ya que en este mismo trabajo (Marín et al., 2012) puede verse que, si sólo se considera la selección natural entre dos fenotipos, esto es, en ausencia de mutación, el tiempo característico de llegada al estado estacionario también diverge a infinito cuando la eficacia biológica de ambos fenotipos es la misma.

La sección 3.2 muestra que, al utilizar el modelo clásico extendido en el que las secuencias se agrupan en clases de Hamming (Swetina y Schuster, 1982), las transiciones características de un umbral de error se observan cuando el coeficiente de selección obtenido en la sección 3.1 es aproximadamente igual a cero (fig. 3.2). Esto implica que, incluso en presencia de *back-mutation*, es posible utilizar el valor del coeficiente de selección obtenido en el modelo mínimo de la sección 3.1.

El hecho de considerar que la aparición de un umbral de error se debe a un fenómeno de supervivencia del más robusto puede explicar diferentes fenómenos. Entre ellos, por qué una mayor neutralidad del fenotipo maestro disminuye el umbral de error, por qué en determinados paisajes de eficacia biológica pueden existir múltiples umbrales de error, por qué la letalidad, de forma completamente contraituitiva, disminuye el umbral de error o por qué la defeción lo aumenta. Todos estos fenómenos se discuten a continuación.

¿Por qué afecta la neutralidad al umbral de error?

Puesto que el umbral de error determina una transición selectiva a fenotipos más robustos cuando se aumenta la tasa de mutación, el umbral de error va a verse afectado cuando se considera que los

diferentes fenotipos, especialmente el fenotipo maestro, presentan neutralidad y/o canalización. Por claridad, se denominará *canalización* a la existencia de diferentes genotipos que producen el mismo fenotipo (Waddington, 1942), mientras que se reservará el término *neutralidad* para el hecho de que diferentes fenotipos tengan la misma eficacia biológica (Krakauer y Plotkin, 2005).

Hasta donde sabemos, la primera vez que se tuvo en cuenta la neutralidad en la teoría de cuasiespecies fue en un trabajo de Eigen et al. (1988), que introdujeron un segmento génico que no tenía influencia en la capacidad replicativa de la especie autorreplicante. Puesto que las mutaciones en este segmento no afectaban a la eficacia biológica, éste podía variar libremente y, por tanto, no era tenido en cuenta en la máxima longitud permitida por el umbral de error. En cierta manera, este resultado ya apunta a la relación entre selección natural y umbral de error.

La introducción de canalización en el fenotipo maestro mediante la consideración de redes neutrales llevó a la distinción entre umbral de error fenotípico y genotípico (Huynen et al., 1996). Cuando el fenotipo maestro está compuesto por más de una secuencia, la información genética de dicho fenotipo se pierde para cualquier valor de la tasa de mutación diferente de cero, ya que más allá de este valor, la población se deslocaliza por la red neutral del fenotipo maestro (Huynen et al., 1996; Schuster y Fontana, 1999). Por este motivo, es necesario definir un umbral de error fenotípico más allá del cual se pierde el fenotipo maestro y la población comienza una deriva aleatoria por el espacio de fenotipos. Sin embargo, esta definición más estricta no cambia en absoluto las consideraciones hechas en las secciones previas. La catástrofe de error fenotípica no tiene mayor importancia a un nivel selectivo-evolutivo superior, ya que todos estos fenotipos tienen la misma o casi la misma eficacia biológica y, por ejemplo, podrían ser agrupados en un nuevo superfenotipo definido por dicha eficacia biológica. De hecho, la misma idea de una catástrofe de error genotípica refuerza esta conclusión, ya que la pérdida de la información genética del fenotipo maestro no tiene ninguna consecuencia crítica para su existencia o sus capacidades evolutivas, en tanto en cuanto se mantenga el fenotipo maestro. Más aún, la deslocalización que tiene lugar por la red neutral del fenotipo maestro más allá del umbral de error genotípico es un fenómeno completamente análogo a la deslocalización que tiene lugar por la red neutral del fenotipo mutante más allá del umbral de error clásico en paisajes de tipo *Single-Peak*.

Finalmente, es posible definir un coeficiente de selección análogo al considerado en la sección 3.1 cuando se introduce neutralidad en el fenotipo maestro:

$$s = \frac{A_k \tilde{Q}_k}{A_m \tilde{Q}_m} - 1 \quad (13.2)$$

Si, siguiendo a Takeuchi et al. (Takeuchi et al., 2005) la neutralidad se introduce considerando que una fracción, α , de todas las posibles mutaciones sencillas son neutrales, se obtiene que $\tilde{Q}_m = [q + (1 - q)\alpha]^\nu$, donde ν es la longitud de secuencia y q el factor de calidad por dígito. Si, además, se desestima la *back-mutation* del fenotipo mutante al fenotipo maestro, lo que implica que $\tilde{Q}_k = 1$, el coeficiente de selección que se obtiene es:

$$s(q, \alpha, \nu) = \frac{A_k}{A_m [q + (1 - q)\alpha]^\nu} - 1 \quad (13.3)$$

Que se iguala a cero en el umbral de error definido por Takeuchi et al. (Takeuchi et al., 2005):

$$q_c = \left[\left(\frac{A_k}{A_m} \right)^{\frac{1}{\nu}} - \alpha \right] \frac{1}{1 - \alpha} \quad (13.4)$$

La ecuación 13.3 muestra que al incrementar la red neutral del fenotipo maestro se aumenta su robustez mutacional y, por tanto, su eficacia biológica efectiva a altas tasas de mutación. La consecuencia es que el fenotipo mutante desplaza al fenotipo maestro a tasas de mutación mayores que en

el caso sin neutralidad por lo que el umbral de error disminuye (Schuster y Fontana, 1999; Reidys et al., 2001; Takeuchi et al., 2005).

¿Qué significa la existencia de múltiples umbrales de error?

Diferentes trabajos han descrito la existencia de múltiples umbrales de error en paisajes de eficacia biológica complejos, fenómeno que también ha sido denominado cascada de errores (Tannenbaum y Shakhnovich, 2004; Bull et al., 2005). De hecho, este fenómeno probablemente había sido observado previamente, aunque sin ser identificado como tal, relacionándolo bien como un régimen intermedio entre los regímenes con baja tasa de mutación y la catástrofe de error (Bonhoeffer y Stadler, 1993) o como “transiciones de deslocalización” parciales a regiones más robustas del espacio de secuencias (Campos et al., 2002).

Desde el punto de vista de la selección natural y la supervivencia del más robusto, la aparición de múltiples umbrales de error es simplemente una consecuencia de la existencia de varias regiones del espacio de secuencias que pueden ser consideradas como fenotipos diferentes, con diferentes *trade-offs* entre la capacidad replicativa y la robustez mutacional (Bull et al., 2005). Puesto que la eficacia biológica de estos diferentes fenotipos puede cambiar de forma diferente con la tasa de mutación, la selección natural puede inducir varias transiciones entre ellos de forma consecutiva. En este sentido, hay que destacar que las cascadas de error ya habían sido relacionadas anteriormente con la supervivencia del más robusto (Tannenbaum y Shakhnovich, 2004; Wilke, 2005).

Finalmente, la existencia de múltiples umbrales de error en un mismo paisaje de eficacia biológica muestra que la deslocalización sobre una determinada región del espacio de secuencias depende, esencialmente, del grado de degeneración de cada fenotipo. De esta forma, la deslocalización puede tener lugar bien sobre todo el espacio de secuencias o, por el contrario, estar limitada a ciertas regiones correspondientes a la red neutral de un fenotipo determinado, tal y como ocurre en el caso de la catástrofe de error genotípica comentada anteriormente, en la que la deslocalización sólo tiene lugar en la red neutral asociada al fenotipo maestro.

¿Por qué la letalidad disminuye el umbral de error?

Como se vio en la introducción, diferentes autores habían sugerido que en presencia de mutaciones letales no podía aparecer un umbral de error (Wagner y Krall, 1993; Summers y Litwin, 2006). Por el contrario, otros autores habían demostrado que, si la letalidad se distribuía uniformemente por el espacio de secuencias, no sólo aparecía un umbral de error, sino que éste era menor que el umbral de error obtenido en presencia de letalidad (Bonnaz y Koch, 1998; Takeuchi y Hogeweg, 2007).

En el capítulo 4 se estudió el efecto de la letalidad sobre el umbral de error en paisajes de tipo *Single-Peak*. Para ello se utilizaron dos esquemas o paisajes de letalidad diferentes. En el primero de ellos se consideraba una letalidad uniformemente distribuida por el espacio de secuencias. En el segundo esquema se suponía la existencia de l posiciones en la secuencia cuya mutación daba lugar a un mutante letal, por lo que recibían el nombre de *posiciones letales*. En ambos casos el umbral de error disminuye al aumentar la letalidad, es decir, en presencia de letalidad es necesaria una mayor tasa de mutación para entrar en catástrofe de error, tal y como había sido descrito previamente.

Por supuesto, desde la perspectiva de que el umbral de error impone un límite a la tasa de mutación que puede tolerar una cuasiespecie antes de perder su información, o incluso antes de la extinción, este resultado es, como mínimo, contraintuitivo. Sin embargo, si este resultado se interpreta considerando que la aparición de un umbral de error se debe a la acción de la selección natural, tiene mucho más sentido. La introducción de letalidad de acuerdo a los esquemas considerados en las secciones 4.2 y 4.3 afecta exclusivamente al fenotipo mutante, es decir, disminuye su eficacia biológica efectiva, ya

que disminuye el número de secuencias que lo componen (las secuencias letales forman ahora parte del fenotipo denominado letal) y, por tanto, la robustez mutacional de dicho fenotipo. De esta forma, el fenotipo mutante se vuelve menos competitivo, lo que hace que el umbral de error disminuya, es decir, tenga lugar a tasas de mutación mayores. Este efecto se refleja en los coeficientes de selección que se obtienen en ambos esquemas. Cuando se considera letalidad uniformemente distribuida el coeficiente de selección que se obtiene es:

$$s(q, n) = \frac{A_k p}{A_m Q_m} - 1 \quad (13.5)$$

Mientras que cuando se consideran l posiciones letales en la secuencia, el coeficiente de selección es:

$$s(q, n) = \frac{A_k q^l}{A_m q^v} - 1 \quad (13.6)$$

A diferencia del caso en el que no se considera letalidad, ecu. 13.1, ahora en el numerador aparece un término que da cuenta de la robustez mutacional del fenotipo mutante. Este término es p , la fracción de secuencias no letales, en el caso de la letalidad uniformemente distribuida, ecu. 13.5 y q^l , la probabilidad de copiar correctamente todas las posiciones letales, en el otro esquema de letalidad, ecu. 13.6.

¿Por qué la defeción aumenta el umbral de error?

En los capítulos 6 y 7 de esta Tesis se mostró que la defeción disminuye la eficacia biológica relativa del fenotipo maestro al fenotipo mutante. De esta forma, la tasa de mutación a la cual la robustez mutacional del fenotipo mutante compensa dicha diferencia de capacidades replicativas también es menor y, por tanto, cuanto mayor sea el efecto de la defeción, mayor es el umbral de error, es decir, el fenotipo mutante se impone al fenotipo maestro a menores tasas de mutación. Esto implica que el umbral de error aumenta cuando disminuye el factor de interacción en *cis* (ecu. 6.15, fig. 6.1), la diferencia entre las contribuciones de ambos fenotipos $B_m - B_k$, (fig. 6.1), cuando aumenta la ventaja selectiva en *cis* del fenotipo mutante, tanto si ésta actúa de forma aditiva (ecu. 6.28) o multiplicativa (ecu. 6.50) o cuanto mayor es el tamaño de grupo de interacción n (ecu. 7.12).

En el caso particular en que se considera que no existen interacciones en *cis*, $c = 0$, y el fenotipo mutante no presente una mayor o menor capacidad replicativa en *cis*, $v = 0$, $w = 0$, ambos fenotipos tienen la misma eficacia biológica por lo que el umbral de error es $Q_c = 1$, es decir, el fenotipo mutante desplaza al fenotipo maestro a cualquier tasa de mutación.

La introducción de nuevos rasgos como las interacciones en *trans* o la ventaja selectiva en *cis*, v o w , parecen confirmar la idea de que la existencia de un umbral de error se debe a la acción de la selección natural, ya que, junto con el umbral de error, pueden definirse umbrales equivalentes para los parámetros, c y v o w . De hecho, como se vio para el caso en el que la ventaja selectiva es de tipo multiplicativo, si $c < 1$ y $v > 0$, aparece un umbral del mismo tipo aun cuando la tasa de mutación sea igual a cero ($Q_m = 1$), lo que indica que es la misma transición selectiva, en la que la mayor eficacia biológica del fenotipo mutante sobre el fenotipo maestro puede alcanzarse gracias a una mayor robustez mutacional (ecu. 6.50), a una mayor ventaja selectiva en *cis* (ecu. 6.52) o a un mayor grado de interacciones en *trans* (ecu. 6.51).

El estudio del umbral de error en presencia de complementación fue llevado a cabo previamente utilizando un modelo de un hiperciclo con replicación mediada por replicasa (Sardanyés y Elena, 2010). En dicho trabajo también se obtuvo que el umbral de error aumenta al tener en cuenta la complementación. Bajo condiciones de población constante ese modelo puede considerarse equivalente al

presentado en este trabajo cuando $c = 0$, es decir cuando no se considera ningún tipo de interacción preferencial en *cis*. De hecho, la expresión que se obtiene en (Sardanyés y Elena, 2010) para el umbral de error es equivalente a la ecu. 6.50 cuando $c = 0$ y $v < 0$. Tanto en dicho trabajo como en éste, en dichas condiciones el umbral de error sólo depende del valor de la desventaja selectiva en *cis* del fenotipo mutante. Por supuesto, esto se debe a que cuando $c = 0$, ambos fenotipos reciben la misma contribución del bien público o, en su caso, tienen la misma probabilidad de interactuar con una u otra enzima replicasa y, por lo tanto, sólo se diferencian en cómo “aprovechan” dichos recursos. Igualmente, cuando el fenotipo mutante no presenta una ventaja selectiva en *cis* sobre el fenotipo maestro ($c = 0$ y $v = 0$, en este trabajo, $\gamma = .5$ en el suyo), se obtiene igualmente que $Q_c = 1$.

¿“Supervivencia del más apto” vs. “supervivencia del más robusto”?

A nivel metafórico, a menudo se usan los términos *supervivencia del más apto* y *supervivencia del más robusto* como si se refiriesen a dos conceptos completamente diferentes (Wilke, 2001; Wilke et al., 2001; Codoñer et al., 2006; Sardanyés et al., 2008). En nuestra opinión, esto es confuso y puede dar lugar a equivocaciones importantes. No creemos que el término *supervivencia del más robusto* deba descartarse, pero tampoco debería utilizarse como algo contrario u opuesto a la *supervivencia del más apto*. Creemos que, en todo caso, sería más adecuado diferenciar entre *selección por velocidad replicativa* y *selección por robustez mutacional* (Wilke, 2001) cuando se comparan ambos procesos. Esta diferenciación acentúa que la selección natural siempre implica la selección del más apto, lo que ocurre es que cuando la tasa de mutación es pequeña, la entidad más apta es aquella con mayor capacidad replicativa, mientras que cuando la mutación es suficientemente alta, la entidad más apta puede ser aquella con mayor robustez mutacional. En este último caso, el más apto lo es por ser el más robusto. Lo más importante es tener en cuenta que la robustez mutacional debe ser considerada como otra componente de la eficacia biológica, al mismo nivel que la fecundidad (capacidad replicativa, expresada en A_i) o la supervivencia (resistencia a la degradación, expresada en este modelo como $\frac{1}{D_i}$). De acuerdo con esto, la robustez mutacional puede jugar un papel crucial en la determinación del efecto de la selección natural a altas tasas de mutación (Wilke et al., 2001). Este punto puede observarse con mayor claridad en la sección 3.1, en la que, si en vez de comparar simplemente las capacidades replicativas intrínsecas, A_i , se comparan las eficacias biológicas efectivas, es decir, el producto de la robustez mutacional y la capacidad replicativa, el umbral de error surge de forma natural como el resultado de la selección natural actuando sobre las diferencias de eficacia biológica efectiva de los fenotipos.

Puesto que la aparición de un umbral de error es una forma específica de supervivencia del más robusto, es decir: es la consecuencia de la selección natural actuando en sistemas de especies autorreplicativas a altas tasas de mutación, nuestra propuesta es distinguir ambos fenómenos considerando que cada uno se refiere a los dos posibles niveles de selección que aparecen en los modelos de cuasiespecies. El primer nivel de selección es el de las especies autorreplicativas individuales, agrupadas en fenotipos, que, por mutación y selección, determina la distribución poblacional de la cuasiespecie. El segundo es un nivel superior en el que unas cuasiespecies pueden competir con otras, a través de su eficacia biológica emergente que depende de la interacción entre sus componentes (Biebricher y Eigen, 2006).

Por tanto, proponemos utilizar el término *supervivencia del más robusto* para referirnos a situaciones en las que dos cuasiespecies compiten sin que exista un acoplamiento mutacional entre ellas, bien sea porque el número de mutaciones entre ambas implica que la posibilidad de obtener una a partir de la otra en un tiempo razonable es despreciable (Schuster y Swetina, 1988; Wolff y Krug, 2009), o bien por suposiciones estructurales o funcionales que se traducen en un *aislamiento reproductivo* en el modelo (Wilke, 2001; Wilke et al., 2001; Wilke y Adami, 2003; Sardanyés et al., 2008). Por otro lado, cruzar el umbral de error podría ser considerado como una transición selectiva resultante de la

competición entre dos o más fenotipos acoplados mutacionalmente dentro de una misma cuasiespecie, cada uno de ellos con una capacidad replicativa y una robustez mutacional. En dicha transición un fenotipo más robusto desplaza parcial o totalmente a otro fenotipo con mayor capacidad replicativa pero menor robustez mutacional. Desde luego, cabe preguntarse si tiene sentido seguir llamado “entrada en catástrofe de error” a una transición selectiva, ya que, desde esta interpretación, es una denominación tremendamente inadecuada.

Los resultados obtenidos en la sección 3.3 muestran que los cambios producidos por la selección natural en el estructura poblacional de una cuasiespecie, esto es: la entrada en catástrofe de error, pueden modificar el resultado de la acción de la selección natural en el nivel de selección inmediatamente superior, es decir, al nivel de competición entre cuasiespecies. De hecho, en el caso estudiado en dicha sección podría decirse que cruzar el umbral de error induce un fenómeno de supervivencia del más robusto.

Crisis de información ¿Qué crisis de información?

Tal y como se comentó en la introducción, la catástrofe de error se ha relacionado bien con una “crisis de información” (Eigen, 1971; Eigen y Schuster, 1979; Eigen, 2002; Biebricher y Eigen, 2005, 2006), bien con una “ruptura de la adaptación evolutiva” (Huynen et al., 1996; Takeuchi y Hogeweg, 2007; Schuster y Stadler, 2008). A la luz de los resultados obtenidos en este trabajo y de la reinterpretación que se deriva de ellos, parece claro que es erróneo hablar de cualquier tipo de crisis más allá del umbral de error en el paisaje de eficacias biológicas tipo *Single-Peak*.

La así llamada “crisis de información” más allá del umbral del error se ha asociado a veces con la pérdida de la secuencia maestra (Eigen, 1971; Eigen y Schuster, 1979; Biebricher y Eigen, 2006), mientras que en otros casos se ha asociado con la deslocalización de la población por todo el espacio de secuencias (Schuster y Stadler, 2008). Sin embargo, es posible argumentar que en el paisaje *Single-Peak* ni la deslocalización más allá del umbral de error ni la desaparición de la secuencia maestra pueden asociarse con una pérdida crítica de la información ni, en general, con un fenómeno catastrófico de cualquier tipo.

Generalmente, la entrada en catástrofe de error se asocia con una crisis de información, puesto que, más allá del umbral de error, la cuasiespecie se deslocaliza por todo el espacio de secuencias dando lugar a una distribución de población uniforme. Puesto que esto es materialmente imposible, dado que el espacio de secuencias suele ser astronómicamente alto y, por tanto, no es posible que exista una concentración no nula de todas las copias posibles de dicho espacio, este resultado habitualmente se interpreta en el sentido de que la población inicia una deriva neutra por todo el espacio de secuencias, de tal manera que la probabilidad de encontrar a la población en una determinada región del espacio de secuencias es la misma. Esto hace que no exista una secuencia consenso estacionaria o que, dicho de otro modo, más allá del umbral de error, la información se “funda”, sufriendo una transición de fase (Eigen, 2000, 2002; Biebricher y Eigen, 2005, 2006).

Sin embargo, como se ha comentado al discutir cómo afecta la neutralidad al umbral de error, la deslocalización, por sí misma, no tiene por qué ser un fenómeno ni mucho menos catastrófico. Puede ser, por ejemplo, el resultado de que un mismo fenotipo sea producido por todo un conjunto de genotipos que constituyan una red neutral (Huynen et al., 1996). En este caso, la deslocalización no tiene ningún efecto sobre la eficacia biológica del fenotipo asociado a dicha red neutral. Puesto que en el modelo clásico el fenotipo mutante abarca todo el espacio de secuencias menos una, la secuencia maestra, la imposición de dicho fenotipo implica la consiguiente deslocalización de la población por su red neutral y, por tanto, necesariamente la deslocalización de la población por todo el espacio de secuencias. El que la deslocalización ocurra como una “transición de fase” no tiene mayor importancia, puesto que, como el propio Eigen y otros autores han mostrado, la selección

natural implica desplazamientos en el “espacio de información” que pueden adoptar la forma de una transición de fase (Eigen, 2000; Wolff y Krug, 2009). En este sentido es necesario recordar que una transición de fase es un fenómeno crítico, pero su criticalidad se debe a determinadas características físico-matemáticas de la transición y no a los efectos que produce. Además, más allá del umbral de error se produce una transición de fase para los parámetros de orden colectivo como la secuencia consenso (Bonhoeffer y Stadler, 1993; Eigen, 2002), pero no, por ejemplo, para la eficacia biológica media de la población, cuyo valor no varía mucho en el umbral de error, aunque su dependencia con la mutación sí que lo haga (Hermisson et al., 2002).

Para comprobar que, en el paisaje *Single-Peak*, la deslocalización de la población más allá del umbral de error se debía a la completa neutralidad asociada al fenotipo mutante, en la sección 3.2 se alteró la distribución de robustez mutacional de dicho fenotipo considerando que el factor de calidad depende de la distancia de Hamming, es decir, que algunas secuencias tienen un factor de calidad mayor que otras. En este caso, más allá del umbral de error ya no se obtiene una distribución uniforme, sino que la población evoluciona de tal manera que las regiones con mayor factor de calidad, es decir, con mayor robustez mutacional, son las más pobladas, tal y como se había mostrado anteriormente en otros trabajos (van Nimwegen et al., 1999; Forster et al., 2006).

Además, tal y como era de esperar en el caso en el que la deslocalización se debe a la existencia de una red neutral, el valor del umbral de error es relativamente independiente de la deslocalización de la población. La modificación de la robustez mutacional de determinadas regiones del espacio de secuencias cambia la distribución de población más allá del umbral de error, pero el umbral de error no se ve alterado (fig. 3.4). Por supuesto, esto se debe a que los cambios en la distribución de robustez mutacional de las clases de Hamming no cambian la eficacia biológica efectiva del fenotipo mutante como un todo. Dicho de otra manera, en el paisaje *Single-Peak* lo que ocurre más allá del umbral de error depende esencialmente de las relaciones entre genotipos dentro del fenotipo mutante, es decir, de la estructura y características de la red neutral del fenotipo mutante. Por el contrario, la existencia y el valor concreto del umbral de error parecen depender de las propiedades “globales” de dicho fenotipo sin que, al menos en este caso, se vea alterado por la estructura particular de la red neutral subyacente.

Este efecto también se observa al estudiar el efecto de la letalidad no en el umbral de error sino en la distribución de población más allá del mismo. Para ello, en la sección 3.4 se utilizó el modelo clásico extendido considerando que las secuencias se agrupan en clases de Hamming. La introducción, como en la sección 3.3, de l “posiciones letales” en la secuencia, disminuye la distancia de Hamming promedio que se obtiene en el umbral de error, aumentando progresivamente al aumentar la tasa de mutación, de forma que la deslocalización de la población y, por tanto, la distribución de población uniforme (que implica que la distancia media de Hamming es $\frac{l}{2}$) sólo se obtienen para $q = 0.5$. Este resultado es análogo al obtenido en la sección 2.2 al variar el factor de calidad de las secuencias en función de su distancia de Hamming. Al considerar l posiciones letales en la secuencia, las clases de Hamming más alejadas de la secuencia maestra tienen una mayor fracción de secuencias letales, es decir, son zonas menos robustas del espacio de secuencias, por lo que más allá del umbral de error la población se deslocaliza preferentemente por aquellas regiones del espacio de secuencias cuya clase de Hamming es más cercana a la maestra. Sin embargo, a diferencia del caso en el que se varía el factor de calidad, la introducción de letalidad sí afecta al umbral de error, puesto que la robustez global del fenotipo mutante como un todo se ve afectada y, por tanto, también su eficacia biológica efectiva.

¿Cómo se traduce la deslocalización más allá del umbral de error en términos de *información*? En primer lugar, es necesario señalar que aunque, sin duda, la aplicación del concepto de *información* a la biología pueda ser muy útil, es evidente que también tiene sus limitaciones. La deslocalización por el fenotipo mutante más allá del umbral de error, o en cualquier red neutral, causa una “fusión de la información”, pero sólo a un nivel simbólico (el del genotipo), aquel al que puede aplicarse la teoría matemática de la comunicación (Shannon y Weaver, 1949). Sin embargo, puesto que todas

las secuencias mutantes pueden agruparse en un mismo fenotipo con la misma eficacia biológica, la deslocalización a nivel simbólico carece de ninguna consecuencia crítica a nivel evolutivo, es decir: biológico. De hecho, llevando más allá la metáfora de información, podría decirse que una “fusión” a nivel simbólico no tiene consecuencias en los niveles de información superiores: ni en el semántico (que implica los significados, es decir, los fenotipos) ni en el sintáctico (el de las relaciones entre los significados, en este caso entre los fenotipos).

Por otro lado, tampoco la pérdida de la especie maestra más allá del umbral de error puede considerarse una “crisis de información”. La desaparición de la secuencia maestra implica, obviamente, la pérdida de la información que contiene a todos los niveles. Sin embargo, cualquier proceso de selección natural implica cambios en las características “informativas” de la población. Obviamente, si el resultado de la selección natural es la desaparición de un determinado genotipo de la población, eso implica una pérdida de información, pero al mismo tiempo, implica un aumento de eficacia biológica. De nuevo, no es esperable ninguna consecuencia crítica.

Es posible aplicar un razonamiento similar a la idea de una “ruptura de la adaptación evolutiva” (Huynen et al., 1996; Takeuchi et al., 2005). En tanto que es el resultado de la acción de la selección natural, la entrada en catástrofe de error en el paisaje *Single-Peak* no implica la “ruptura de la adaptación evolutiva” sino, al contrario, la adaptación a altas tasas de mutación por un aumento de la robustez mutacional de la población. Si no hay adaptación más allá de dicho punto es porque la población ha alcanzado el estado de mayor adaptación que permite el modelo a esa tasa de mutación.

En el caso específico del paisaje de eficacias tipo *Single-Peak*, la entrada en catástrofe de error sería el caso más extremo de selección por robustez mutacional dentro de una cuasiespecie. Por un lado, existe un fenotipo maestro que, al estar compuesto de un único genotipo -la secuencia maestra- tiene una robustez mutacional nula. Por otro lado, un fenotipo mutante que, al estar compuesto por el resto de las $2^l - 1$ secuencias posibles, tiene una robustez mutacional prácticamente infinita (y por tanto un $a_{iK} = 0$ en la sección 3.3). Enfrentado a una alta tasa de mutación, una robustez mutacional infinita es, probablemente, uno de las mejores adaptaciones que pueda alcanzar una población. De hecho, si la eficacia biológica media es insensible a aumentos en la tasa de mutación más allá del umbral de error, lo que Hermisson et al. (Hermisson et al., 2002) han denominado un “umbral de degradación”, esto se debe a que la población ha alcanzado un fenotipo infinitamente robusto, es decir: el fenotipo más apto. Esto que implica que llamar a este fenómeno una “degradación mutacional completa” puede resultar, como mínimo, engañoso.

¿Y qué ocurre en otros paisajes de eficacia biológica? ¿Existe una relación general entre umbral de error y catástrofe de error?

En la introducción se vio que, clásicamente, la entrada en catástrofe de error ha sido asociada a diferentes fenómenos: pérdida de la secuencia maestra, cambio abrupto en la secuencia consenso, deslocalización por el espacio de secuencias, etc. En el paisaje de eficacia biológica *Single-Peak*, todos estos fenómenos tienen lugar a partir de un determinado valor del factor de calidad, el umbral de error, pero, en otros paisajes de eficacia biológica más complejos no tienen por qué ocurrir a un mismo valor del factor de calidad (Hermisson et al., 2002). De hecho, si bien en otros paisajes de eficacia biológica como los de tipo multiplicativo (Woodcock y Higgs, 1996), aditivo o lineal (Schuster, 2010), los paisajes tipo *NK* (Kauffman, 1993; Campos et al., 2002) o algunos incluso más complejos (Bonhoeffer y Stadler, 1993; Ochoa, 2006) también se observa una progresiva deslocalización de la población por el espacio de secuencias, cambios de la secuencia consenso, y una pérdida de eficacia biológica media, la mayoría de estos paisajes no presentan un umbral de error claro y definido. Estos casos indican que, efectivamente, el aumento continuo de la tasa de mutación lleva a situaciones como las que se han descrito para la catástrofe de error, a saber, que la mutación se impone a la selección, que no hay adaptación posible o que no existe la herencia genética. Sin embargo, en ninguno de estos

casos se observa una transición abrupta tipo transición de fase, sino una aproximación más o menos progresiva a dichas situaciones según se aumenta la tasa de mutación. Por ejemplo, en paisajes de tipo multiplicativo¹ no se observa un máximo en el tiempo característico de llegada al estado estacionario, que es un indicativo de la existencia de un umbral de error (Marín et al., 2012), a ningún valor de Q_m excepto cuando, al aumentar el coste de cada mutación, el paisaje tipo multiplicativo tiende a parecerse lo suficiente a un paisaje tipo *Single-peak* (Marín et al., 2012).

Todo esto implica que, en la gran mayoría de paisajes de eficacia biológica, el aumento de la tasa de mutación lleva en último término a una situación que sí tendría sentido denominar catástrofe de error. Ahora bien, en muchos de estos casos, por no decir en la mayoría, no puede definirse un umbral de error claro y definido como el que aparece en el paisaje tipo *Single-Peak*. Es decir, la entrada en catástrofe de error no se produce de una forma brusca con características de transición de fase, sino que se produce de una forma progresiva, siendo la tasa de aproximación a dicha catástrofe de error diferente en cada uno de dichos paisajes.

Por último, en la gran mayoría de los casos, la entrada en catástrofe de error en estos sistemas se estudia bajo condiciones de población constante que, por definición, no permiten la extinción. Esto implica que, en caso de considerar población variable y el efecto que tienen las mutaciones sobre la eficacia biológica absoluta media, \bar{R} , la población seguramente se extinguiría mucho antes de adoptar las características de una catástrofe de error. Este punto es crucial, puesto que, al considerar población constante, es posible observar dichos fenómenos a tasas de mutación en las que, de considerar población variable, casi con toda seguridad la población se habría extinguido. Inevitablemente, esta situación hace que la entrada en catástrofe de error en ausencia de un umbral de error definido tenga un carácter tremendamente artificial y, hasta cierto punto, seguramente sea irrelevante en condiciones ya no biológicas, sino simplemente ligeramente más realistas.

Resumiendo, en esta Tesis se ha tratado de dilucidar en primer lugar qué es realmente el umbral de error y cómo debe ser interpretado. La conclusión es que la aparición de un umbral de error en el paisaje *Single-Peak* a un factor de calidad por dígito menor que $q = 0.5$ es consecuencia de la acción de la selección natural, bajo la forma de un fenómeno de supervivencia del más robusto, por contraintuitivo que esto pueda parecer a primera vista. La deslocalización que se produce más allá de dicho umbral de error no es, por tanto, un fenómeno catastrófico asociado a una crisis de información sino la consecuencia de la extrema neutralidad del fenotipo mutante. En paisajes más complejos, aunque el aumento de la tasa de mutación lleve a situaciones que se podrían asociar a las ideas de catástrofe de error y crisis de información, no existe ninguna evidencia de que el umbral de error sea un fenómeno general (más bien al contrario).

13.2. Letalidad, umbral de error y extinción en el modelo de cuasiespecies

¿Cuál es la relación entre el umbral de error y el umbral de extinción en presencia de letalidad?

En el apéndice A se expuso que, cuando se considera un modelo de cuasiespecies en un paisaje de eficacias tipo *Single-Peak*, la extinción y la entrada en catástrofe de error son sucesos mutuamente excluyentes. Al aumentar la tasa de mutación, la población o bien se extingue o bien entra en catástrofe de error. El que ocurra una u otra cosa depende de si el fenotipo mutante es o no estable demográficamente, es decir, de si es capaz de mantenerse en el tiempo. Dicha condición surge cuando se igualan el umbral de error y el umbral de extinción. La importancia de este resultado radica en que,

¹Un paisaje de tipo multiplicativo es aquel en el que la eficacia biológica de un individuo w_i depende del número de mutaciones i según, $w_i = w_0(1 - s^i)$, donde s es el coste en eficacia biológica de cada mutación.

en este paisaje de eficacias biológicas que, sin duda, es el más utilizado en los modelos teóricos de cuasiespecie, la entrada en catástrofe de error no sólo no puede explicar la extinción de la población por acumulación de mutaciones, sino que, de hecho, implica exactamente lo contrario, la entrada en catástrofe de error es precisamente lo único que puede evitar la extinción de la población, como fue señalado anteriormente (Bull et al., 2007).

La introducción de una fracción de letales $1 - p$ uniformemente distribuida en el espacio de secuencias no cambia esta situación (sección 4.2). La población o bien se extingue o bien entra en catástrofe de error. Al igual que en el caso anterior, el que ocurra una u otra cosa depende de la estabilidad demográfica del fenotipo mutante, sólo que ahora, puesto que ésta depende de la fracción de mutantes letales, la condición de estabilidad demográfica define un valor de $1 - p$ más allá del cual el fenotipo mutante no podrá desplazar al fenotipo maestro antes de que este se extinga. Dicho de otra forma, a partir de este valor de letalidad el umbral de error desaparece. A este valor de $1 - p$ se le ha denominado *letalidad crítica*.

La consideración de un esquema de letalidad en el que la especie autorreplicante tiene l posiciones letales en su secuencia sí que cambia esta relación. Al igual que en el caso anterior aparece una letalidad crítica, que ahora se expresa como un límite máximo para el número de posiciones letales en la secuencia, más allá del cual la población no puede entrar en catástrofe de error, puesto que el umbral de error se hace inferior al umbral de extinción definido por el estado estacionario que caracteriza al equilibrio selección-mutación.

Sin embargo, puesto que en este caso la letalidad no se distribuye uniformemente, la entrada en catástrofe de error y la extinción dejan de ser mutuamente excluyentes. Si el número de posiciones letales en la secuencia es inferior a la letalidad crítica, el fenotipo mutante puede imponerse al fenotipo maestro cuando la tasa de mutación supera el umbral de error. Si la tasa de mutación sigue aumentando, la población -que se encontraría en “catástrofe de error”- acumulará mutantes letales hasta que su productividad media se hace menor que cero y se extingue. Es decir, en este esquema de letalidad, extinción y entrada en catástrofe de error no son mutuamente excluyentes, la población puede extinguirse estando en “catástrofe de error”. Ahora bien, el umbral de extinción definido para la llamada catástrofe de error es siempre inferior al umbral de extinción definido para el equilibrio selección-mutación antes del umbral de error. Esto implica que la extinción de la población se produce a mayores tasas de mutación o, dicho de otra forma, la imposición del fenotipo mutante sobre el fenotipo maestro, la entrada en “catástrofe de error”, dificulta la extinción de la población por mutagénesis letal, tal y como se había señalado anteriormente (Bull et al., 2007). Por supuesto, este resultado es, simplemente, una consecuencia lógica que se deriva del hecho de que la imposición del fenotipo mutante sobre el maestro se debe a su mayor robustez mutacional, es decir, a que las mutaciones tienen un menor efecto sobre su eficacia biológica.

Los diferentes efectos que tienen estos dos esquemas de letalidad sobre la relación entre umbral de error y umbral de extinción indican que esta relación es tremendamente dependiente de la forma del paisaje de eficacia biológicas. En este sentido, sería necesario estudiar dicha relación en paisajes más complejos aunque, como se discutió anteriormente, muchos de ellos no presentan un umbral de error claro y definido.

Por último, es necesario destacar que el umbral de extinción definido antes de que la población cruce el umbral de error no cambia en ninguno de los tres casos considerados (ausencia de letalidad, letalidad uniforme y l posiciones letales). Este resultado es un artefacto que surge del hecho de no considerar *back-mutation*, lo que, hay que recordarlo, es posible debido a las características del paisaje *Single-Peak*. Cuando no se considera *back-mutation*, la productividad media antes del umbral de error sólo depende de la tasa de mutación y de la eficacia biológica de la especie maestra, es decir, no depende del efecto de las mutaciones. Esto también se observa en un paisaje tipo multiplicativo en ausencia de *back-mutation* (Kimura y Maruyama, 1966). Por este motivo hay que ser extremadamente

cuidadoso a la hora de extrapolar este resultado a paisajes más complejos en los que no puede desestimarse la *back-mutation*². De hecho, el umbral de extinción obtenido por Martin y Gandon (2010) utilizando un paisaje de eficacias biológicas más complejo, depende críticamente de la fracción de mutaciones letales considerada, de manera que la población se extingue a menores tasas de mutación cuanto mayor sea la fracción de mutaciones letales.

¿Puede el umbral de error explicar la mutagénesis letal en virus RNA?

A lo largo de la introducción se revisaron las diferentes dudas que se habían planteado a la explicación de la mutagénesis letal por la existencia del umbral de error. Los resultados obtenidos en esta Tesis apuntan en esta misma dirección. La aparición de un umbral de error es consecuencia de la acción de la selección natural sobre las diferencias en capacidad replicativa y robustez mutacional y, por tanto, dicho fenómeno ni es la causa ni puede explicar la extinción de una población de especies autorreplicantes por acumulación de mutaciones.

Recientemente, Schuster (2011) ha considerado, basándose en uno de los artículos publicados como consecuencia del trabajo presentado en esta Tesis (Tejero et al., 2010), que al aumentar la tasa de mutación la población puede extinguirse bien por acumulación de mutantes no viables, o bien por acumulación de errores sin límites, esto es, por la entrada en catástrofe de error. Sin embargo, es importante remarcar que, tanto antes como después de cruzar el umbral de error, la extinción se debe al mismo motivo. Antes del umbral de error la población se extingue si la producción neta de individuos del fenotipo maestro cae por debajo de 1. Después del umbral de error, la población se extingue si la producción neta de individuos del fenotipo mutante cae por debajo de 1. En este sentido, no hay ninguna diferencia entre ambos fenómenos: no existe una extinción asociada a la entrada en catástrofe de error y otra extinción independiente de ella, sino que la extinción puede producirse (o no) tanto antes como después del umbral de error. De hecho, como bien muestran los diagramas de fase 4.3, existe una amplia región de parámetros en la cual la población se encuentra en una situación de catástrofe de error sin extinguirse.

A pesar de esto, el umbral de error podría mantenerse en la literatura de virus RNA como sinónimo de una tasa de mutación máxima más allá de la cual un virus RNA se extingue, pero, en este caso, habría que ser extremadamente cuidadoso en desligarlo del concepto de umbral de error como transición de fase y “crisis de información” que surge en los paisajes de eficacia biológica tipo *Single-Peak*. Desde este punto de vista, aunque la extinción de virus RNA por mutagénesis letal es un hecho probado y con claras aplicaciones terapéuticas, no existe evidencia concluyente alguna de que dicho fenómeno esté relacionado con el umbral de error o con la entrada de una cuasiespecie en catástrofe de error, tal y como aparecen estos fenómenos en el paisaje *Single-Peak*.

¿Puede la letalidad resolver la paradoja de Eigen?

Si se define un factor de calidad por dígito o posición promedio, el umbral de error puede expresarse como la longitud de secuencia máxima que puede mantenerse a dicho factor de calidad sin perder la “información” de la misma. Como se comentó en la introducción, esta idea llevó a que se postulase la llamada *paradoja de Eigen*: las altas tasas de mutación prebióticas no permiten alcanzar los tamaños de secuencia necesarios para codificar las funciones enzimáticas³ necesarias para disminuir dichas tasas de mutación. Sin embargo, si se considera que lo que se ha llamado “entrada en catástrofe de error” no supone ningún tipo de “crisis de información”, “imposición de la mutación

²Resultados preliminares con paisajes de eficacia biológica tipo *NK* confirman que, efectivamente, el umbral de extinción para el equilibrio de selección-mutación antes de la entrada en catástrofe de error sí depende del paisaje de eficacia biológica y del efecto de las mutaciones.

³Da igual que sean enzimas peptídicas o ribozimas.

sobre la selección” o “ruptura de la adaptación evolutiva”, ¿cómo afecta esto a la paradoja de Eigen? En última instancia, la paradoja de Eigen se mantiene tal y como está formulada, pero su causa no sería la existencia de un umbral de error y la entrada en catástrofe de error, sino la existencia de un umbral de extinción, una tasa de mutación máxima más allá del cual las poblaciones de especies autorreplicativas no pueden mantenerse en el tiempo. Al igual que el umbral de error, el umbral de extinción puede expresarse como una longitud máxima que puede alcanzar una secuencia dadas una tasa de mutación y una eficacia biológica absoluta. Teniendo esto en cuenta, sería posible definir un nuevo valor para la longitud máxima de una especie autorreplicante a una tasa de mutación dada:

$$\nu_{\text{máx}} = \frac{1}{\log(q)} \log\left(\frac{1}{R_m}\right) = \frac{\log(R_m)}{\log\left(\frac{1}{q}\right)} \quad (13.7)$$

Aplicando la aproximación $q^\nu \approx e^{-(1-q)\nu}$ (Eigen, 2000; Biebricher y Eigen, 2005), la longitud máxima 13.7 también puede expresarse de forma aproximada como:

$$\nu_{\text{máx}} \approx \frac{\log(R_m)}{(1-q)} \quad (13.8)$$

Que establecería un límite máximo a la longitud que puede alcanzar el genoma de una especie autorreplicante a una determinada tasa de mutación para un determinado valor de eficacia biológica absoluta.

Esto no significa que el umbral de error no haya tenido importancia en condiciones prebióticas, es más, dadas las supuestas altas tasas de mutación que se darían en el mundo RNA, la presión hacia estructuras y secuencias con alta robustez mutacional sería considerable. Sin embargo, como se ha tratado de mostrar a lo largo de este trabajo, el umbral de error no puede considerarse un fenómeno crítico que impida la acción de la selección natural o la adaptación, sino que, al contrario, en realidad es una consecuencia de éstas en unas condiciones concretas.

Recientemente, Saakian et al. (2011) han propuesto que la consideración de mutaciones letales y de un paisaje *Single-Peak* truncado⁴ pueden resolver la paradoja de Eigen, ya que la consideración de ambos disminuye el umbral de error y, por tanto, permite que a una tasa de mutación dada sean viables longitudes mayores. Así, por ejemplo, considerar que el 80 % de las posiciones son letales implica aumentar el tamaño máximo permitido (para $\sigma = e$ y $q = 0.999$) de 1000 a 5000. Sin embargo, al obtener estos resultados, los autores no consideran la degradación de las especies autorreplicantes y, con ello, el umbral de extinción de la población. Si se tiene en cuenta el umbral de extinción, los resultados son muy diferentes. Con esa longitud y esa tasa de mutación, la cuasiespecie se extinguiría siempre que su $R_m = \frac{A_m}{D}$ fuese menor de aproximadamente 150, es decir, la cuasiespecie tendría que replicarse 150 veces más rápido de lo que se degrada. No es fácil encontrar datos sobre los posibles valores que podrían adquirir A y D para un RNA en condiciones prebióticas pero el valor necesario parece ser suficientemente elevado como para poner en duda que la letalidad pueda resolver la paradoja de Eigen.

⁴Un paisaje *Single-Peak* truncado es aquel para el cual a partir de un determinado número de mutaciones, todas las secuencias son letales.

13.3. Cuasiespecies y defeción letal

¿Qué es la defeción letal?

Como se vio en la introducción, en un sentido general, o incluso fenomenológico, la defeción letal se podría definir como la extinción de una población debido a un aumento de la proporción de defectores en la misma. De forma más específica, este término se ha utilizado, en el contexto del modelo Iranzo-Manrubia, para referirse a un mecanismo concreto de extinción estocástica o extinción inducida por ruido, debida a individuos defectivos, que puede tener lugar en poblaciones finitas de pequeño tamaño (Iranzo y Manrubia, 2009).

A lo largo de este trabajo se ha presentado otro mecanismo que puede explicar el papel de los individuos defectivos y defectores en la extinción por mutagénesis letal. Este mecanismo se basa en el efecto que tiene la defeción sobre el equilibrio selección-mutación.

Por sí misma, la defeción genera un dilema social, lo que disminuye la eficacia biológica de la población. En ausencia de mutación, dependiendo de los parámetros del sistema (especialmente del factor de interacción en *cis* y del tipo y valor de la ventaja selectiva en *cis*), la defeción puede dar lugar a una situación de coexistencia entre el fenotipo defector y el fenotipo no defector, o incluso provocar la imposición del fenotipo defector en la población. En ambos casos, la defeción disminuye la eficacia biológica respecto a la situación en la que sólo está presente el fenotipo no defector, que es el que se impondría en ausencia de interacciones en *trans*. Es decir, en estos casos puede hallarse un *lastre interferente* en el estado estacionario causado por la presencia de defectores en la población. Incluso en los casos en los que es el fenotipo no defector el que acaba por imponerse, la presencia de un fenotipo defector ralentiza la llegada de aquel al estado estacionario.

¿Qué ocurre en presencia de mutación? Cuando se tienen en cuenta las interacciones en *trans* que pueden tener lugar entre los fenotipos que componen una cuasiespecie, las eficacias biológicas de estos fenotipos se vuelven dependientes de frecuencia, es decir, dependen de la composición de la población. En presencia de interacciones en *trans*, y de variaciones en las contribuciones a la eficacia biológica, el fenotipo mutante se aprovecha de parte de los recursos de mejor calidad aportados por el fenotipo maestro, aumentando su capacidad replicativa. Igualmente, el fenotipo maestro utiliza, en parte, los recursos de peor calidad que aporta el fenotipo mutante, de forma que ve disminuir su eficacia biológica. Puesto que un fenotipo aumenta su eficacia biológica mientras que el otro disminuye la suya, el resultado es una interacción antagonista intraespecífica: la defeción. El resultado de la defeción es que la diferencia de eficacia biológica de ambos fenotipos se reduce, es decir, disminuye la presión de selección y, por tanto, el equilibrio de selección-mutación se desplaza hacia un mayor efecto de la mutación, lo que va a aumentar tanto el lastre mutacional como la fracción de mutantes de la población.

El lastre mutacional es una medida de cuánto afecta la tasa de mutación a la eficacia biológica media de una población. Cuando la eficacia biológica es independiente de la densidad, que es la condición que se ha estudiado en los capítulos 8 y 9, la eficacia biológica absoluta media, es decir, su capacidad reproductiva neta, puede expresarse en función del lastre mutacional, L_A , según:

$$\bar{R} = R_m (1 - L_A) \quad (13.9)$$

por otro lado, la extinción de una población se produce cuando se cumple que su eficacia biológica absoluta media es menor que uno, $\bar{R} < 1$ (Bull et al., 2007). Al aumentar el lastre mutacional respecto a la situación en la que los individuos no interaccionan, la defeción hace que la eficacia biológica absoluta de una población y, por tanto, su tamaño poblacional, sea menor para toda tasa de mutación, lo que hace que la extinción se produzca a menores tasas de mutación. Esto confirma una las suposiciones fundamentales de la hipótesis de defeción letal: la presencia de mutantes de-

factores y defectivos que interaccionan en *trans* con los individuos viables de la población favorece la extinción por mutagénesis letal.

Considerando la defeción letal como, en general, la extinción por mutagénesis letal debido a un aumento de individuos defectores en la población, habría que distinguir dos mecanismos diferentes pero complementarios. Por un lado, la *defeción letal inducida por ruido* o extinción estocástica debida a mutantes defectivos (Iranzo y Manrubia, 2009). Por otro lado, a falta de un nombre mejor, la *defeción letal por alteración del equilibrio selección-mutación*, presentada en esta Tesis. Este último mecanismo está en la línea de los presentados en los trabajos revisados en la sección 1.1.6 de la introducción (Bull et al., 2007; Zeldovich et al., 2007; Chen y Shakhnovich, 2009; Martin y Gandon, 2010). En todos ellos, se estudiaba el efecto que producía, para diferentes paisajes de eficacia biológica, la acción conjunta de la selección y la mutación, y adicionalmente también la deriva (Keller et al., 2012), sobre el lastre mutacional y, por tanto, sobre la capacidad reproductiva de la población. En el modelo presentado en esta Tesis, al considerar las interacciones en *trans* dentro de la población, hay que tener en cuenta también la defeción, que aumenta el lastre mutacional, o mutacional-interferente si se quiere, de la población. En última instancia, la defeción letal sería una extensión de la mutagénesis letal a la situación en la que existen interacciones en *trans* en presencia de diferencias de eficacia biológica y, por tanto, fenómenos de defeción y complementación. O, dicho de otro modo, los modelos de mutagénesis letal considerados hasta ahora, serían casos particulares en los que no se consideran las interacciones en *trans*.

Es destacable que, al igual que ocurría en el modelo de cuasiespecies en ausencia de interacciones en *trans*, para que pueda producirse la extinción en el paisaje tipo *Single-Peak*, es necesario que el fenotipo mutante no sea estable demográficamente ($R_k < 1$), ya que, de lo contrario, la población entra en catástrofe de error en vez de extinguirse. Esto implica que, al menos en ausencia de mutaciones letales, en el paisaje *Single-Peak* aun en presencia de defeción, la entrada en catástrofe de error y la extinción siguen siendo mutuamente excluyentes. También implica que, en el paisaje de eficacias biológicas *Single-Peak* sin letalidad, para que pueda producirse la extinción, el fenotipo defector debe ser también defectivo, es decir, incapaz de replicarse por sí mismo. Sin embargo, visto lo visto en este trabajo, no se debería extrapolar a la ligera este resultado a paisajes de eficacia biológica más complejos

La fuerza con la que va a actuar la defeción en una población va a depender de diferentes factores. A lo largo de esta Tesis se han considerado cuatro: el grado de interacción en *cis*, c , la diferencia entre las contribuciones de los fenotipos, B_i , la ventaja o desventaja selectiva en *cis*, v o w , y, en condiciones de población constante, el tamaño del grupo de interacción, n .

El aumento de las interacciones en *trans*, un menor c , aumenta el lastre mutacional (ecu. 6.18), la fracción poblacional del fenotipo mutante en el estado estacionario (tabla 6.2) y, en última instancia, el umbral de extinción (ecu. 8.8). El aumento de la fracción de mutantes en la población es un resultado general de todos los trabajos que estudian el efecto de la complementación en los equilibrios de selección-mutación (Wilke y Adami, 2003; Froissart et al., 2004; Gao y Feldman, 2009). Sin embargo, esta dependencia del lastre mutacional con la defeción contrasta con el resultado obtenido por Gao y Feldman (2009), que obtuvieron que la eficacia biológica media de la población, y por tanto el lastre mutacional, no se veía afectada por la complementación (que ellos cuantifican a través de un determinado grado de coinfección). El efecto de c se debe a que éste determina hasta que punto la defeción afecta a la presión de selección, ya que determina qué “proporción” de la eficacia biológica de un individuo es dependiente de frecuencia y, por tanto, está sujeta a defeción y complementación.

En esta misma línea hay que situar el efecto del tamaño del grupo de interacción, n , en condiciones de población constante. Si $1 - c$ determina el grado de interacción en *trans*, podría decirse que el tamaño de grupo actúa sobre este valor para dar lugar a unas interacciones en *trans* efectivas. Esto se ve claramente cuando se considera que en el límite $n = 1$, no hay interacciones en *trans* y se recupera

el modelo clásico de cuasiespecies, que es el mismo modelo que se recupera para $c = 1$. De esta forma, cuanto mayor es n , mayor son las interacciones en *trans* efectivas y, por tanto, en el límite $n \rightarrow \infty$, considerando que todos los individuos interactúan con todos, la defección se maximiza. El aumento de la ventaja relativa de los individuos defectores al aumentar el tamaño de grupo de la interacción es un resultado clásico de los juegos de bienes públicos (Olson, 1965; Hauert et al., 2006a).

La presencia de una ventaja selectiva en *cis* del fenotipo mutante sobre el fenotipo maestro, sea ésta aditiva ($w > 0$) o multiplicativa ($v > 0$), aumenta tanto el lastre mutacional como la fracción de fenotipo mutante en la población. Por el contrario, si el fenotipo mutante presenta una desventaja en *cis* ($w < 0$ o $v < 0$), el lastre mutacional disminuye respecto a la situación en que $v = 0$ y $w = 0$. La causa es que cuanto mayor sea la ventaja en *cis*, mayor es la capacidad replicativa del fenotipo mutante, y menor, por tanto, la diferencia de eficacias biológicas entre ambos fenotipos, lo que disminuye el efecto de la selección natural en el equilibrio selección-mutación, desplazándolo hacia mayores efectos de la mutación. Dicho de otro modo, cuanto mejor se replica el fenotipo defector, mayor efecto tiene la defección letal. El ejemplo extremo de este fenómeno se da cuando el fenotipo mutante es incapaz de replicarse. Esto puede ocurrir cuando la ventaja multiplicativa, v , es igual a -1 . En este caso, la especie mutante, aunque contribuye al bien público, no puede replicarse y, por tanto, el umbral de extinción es el menor posible para el valor de c que se esté considerando (fig. 8.4). El mismo fenómeno, pero aún más marcado, se observa cuando se considera el efecto de l posiciones letales en la secuencia. Mientras que en ausencia de interacciones en *trans*, la letalidad no altera el umbral de extinción más allá de la letalidad crítica (es decir, el umbral de extinción asociado al estado estacionario que define la cuasiespecie), en presencia de estas interacciones, el umbral de extinción disminuye al aumentar el número de posiciones letales en la secuencia, es decir, hace necesarias tasas de mutación más altas para que la población se extinga. El motivo es que los mutantes letales no actúan como defectores y, por tanto, no ejercen un efecto interferente sobre la población, de manera que, globalmente, el efecto de la tasa de mutación sobre el lastre mutacional es menor y, por tanto, el umbral de extinción se reduce. En otras palabras, en este modelo a mayor letalidad menor defección y, por tanto, menor efecto deletéreo de las mutaciones en la población.

En principio, cuanto mayor sea la diferencia entre las contribuciones, $(B_m - B_k)$, mayor debería ser el efecto de la defección puesto que más eficacia biológica gana el fenotipo mutante al aprovecharse de los recursos del maestro y, viceversa, más eficacia biológica pierde el fenotipo maestro al utilizar parte de los recursos del fenotipo mutante. Sin embargo, cuanto mayor sea esa diferencia, también será mayor la diferencia de eficacias biológicas, ya que una parte de la contribución B_i actúa en *cis*, aumentando la eficacia biológica de dicho individuo. Curiosamente, mientras que la fracción poblacional del fenotipo mutante siempre depende de dicha contribución (Tablas 6.1 y 6.4), independientemente del valor de v o w , cuando no existe una ventaja o desventaja selectiva en *cis* del fenotipo mutante, el lastre mutacional y el umbral de extinción no dependen de la diferencia en las contribuciones de ambos fenotipo al bien público, $(B_m - B_k)$, sino sólo del grado de interacción en *cis* (ecu. 6.17). Gao y Feldman (2009) obtuvieron un resultado equivalente: la fracción de mutantes deletéreos depende del efecto de las mutaciones pero la eficacia biológica media de la población no⁵. A diferencia de este caso, en presencia de una ventaja o desventaja selectiva en *cis*, sea esta de tipo aditivo o multiplicativo, tanto el lastre mutacional como el umbral de extinción sí que dependen de la diferencia de contribuciones $B_m - B_k$. El carácter de esta dependencia depende de si el fenotipo mutante tiene una ventaja o una desventaja en *cis*. Cuando el fenotipo mutante presenta una ventaja en *cis* ($v > 0$ o $w > 0$), una menor diferencia se traduce en un mayor lastre mutacional, mientras

⁵Es bastante probable que el que el lastre mutacional no dependa de las contribuciones al bien público cuando $v = 0$ y $w = 0$, sea un resultado equivalente al que se obtiene en el modelo de cuasiespecies cuando se considera el paisaje de eficacias biológicas tipo *Single-Peak* o el multiplicativo en ausencia de *back-mutation*, en el que la productividad media sólo depende del factor de amplificación del fenotipo maestro. Por tanto, hay que tener cuidado de extrapolar este resultado a otros paisajes de eficacia biológica más complejos o al caso en el que la *back-mutation* no sea desestimable.

que si dicho fenotipo presenta una desventaja ($v < 0$ o $w < 0$), el lastre mutacional disminuye al disminuir la diferencia entre ambas contribuciones.

13.4. Defección letal y feedback eco-evolutivo: componentes de la defección letal

¿Puede la disminución de la densidad poblacional evitar la extinción por defección letal?

La defección, al depender de que se establezcan interacciones en *trans* entre los diferentes fenotipos de una cuasiespecie, depende de la densidad poblacional. Puesto que durante la mutagénesis letal el tamaño poblacional disminuye, las interacciones tenderán a hacerse menores lo que, en teoría, disminuiría el efecto de la defección letal (Steinmeyer y Wilke, 2009). De ser así, la defección letal podría contribuir a la disminución del título viral cuando el tamaño poblacional es alto, pero en último término no alteraría el comportamiento de la población cuando ésta se encontrase cerca de extinguirse.

En los capítulos 8 y 9 de esta Tesis no se tuvo en cuenta este ejemplo de *feedback* eco-evolutivo. Sin embargo, en los capítulos 10 y 11 el efecto de la densidad sobre las interacciones en *trans* se introdujo de dos maneras distintas. En el capítulo 10 se consideró que el factor de interacción en *cis* dependía del tamaño poblacional, siendo más cercano a 1 cuanto menor fuese el tamaño poblacional ($c \rightarrow 1$ cuando $\sum_i x_i \rightarrow 0$). En el capítulo 11 se consideró que la población interactuaba en grupos cuyo tamaño dependía de la densidad poblacional (a diferencia del capítulo 7 en el que se consideraba que tanto la población como el tamaño de grupo n eran constantes). En ambos casos la introducción de una dependencia con la densidad hace que el umbral de extinción sea igual al caso en el que no hay interacciones en *trans* ($c = 1$). El motivo es que, en ambos modelos, al disminuir el tamaño poblacional las interacciones en *trans* disminuyen. En el capítulo 10, según se va extinguiendo la población, el factor de interacción en *cis* de los individuos que quedan se va acercando a uno y, por tanto, en última instancia el umbral de extinción viene definido por este caso, $c = 1$, en el que no hay interacciones. En el capítulo 11, cuando la población se acerca a la extinción, la mayoría de los grupos están formados por un único individuo, que, por tanto, no interactúa con otros fenotipos, obteniéndose el mismo resultado.

Aun así, el efecto de la defección es notable puesto que, aunque el umbral de extinción sea el mismo que en ausencia de interacciones en *trans*, el tamaño poblacional siempre es menor cuando se considera el efecto de la defección sobre el equilibrio de selección-mutación (en el capítulo 11, siempre que el límite de coinfección, n_{max} , sea suficientemente alto). Más adelante, se considera la importancia de este fenómeno en el caso concreto de los virus RNA.

Sin embargo, estas aproximaciones sólo consideran el efecto de una interacción puntual entre los diferentes individuos cuando se forman los grupos. Es decir, los individuos se replican una sola vez en función del resto de individuos con los que interactúan en el grupo. En realidad, cuando un virus infecta una célula tienen lugar una serie de rondas de replicación en las que pueden producirse mutantes que se comporten como defectores frente a otros virus progenie o incluso frente a los virus que infectaron inicialmente la célula. Para tener en cuenta el efecto de los defectores generados *de novo* durante la infección, en el capítulo 12 se estudió un modelo anidado en el que una dinámica de formación de grupos con tamaño variable en función del tamaño poblacional (como análogo de la dinámica extracelular en una infección lítica) se acopla con una dinámica de cuasiespecies que interactúan en *trans*, que se considera como una aproximación a la reproducción intracelular del virus. En este caso, se comprueba que, aun teniendo en cuenta el efecto de la densidad, la disminución

del factor de interacción en *cis* aumenta el umbral de extinción y disminuye el tamaño poblacional para cualquier valor de la tasa de mutación. Este efecto, que se podría denominar *autodefeción* hace que cuanto mayores sean las interacciones en *trans*, menor sea la producción total de individuos por un grupo y, también, mayor sea la proporción de fenotipo defector en dicha producción. Al considerar un modelo anidado, no es necesario que la población se extinga en los grupos individuales, sino que basta con que la producción neta disminuya por debajo de un valor umbral que viene determinado, entre otros parámetros, por la producción máxima del grupo, b_0 , y la tasa de degradación de los individuos fuera de los grupos, d .

Por simplicidad, en el capítulo 12 se ha mostrado este efecto utilizando como condición final de la dinámica intracelular el alcanzar el estado estacionario. Sin embargo, aunque no se muestre en este trabajo, este resultado también se ha obtenido para diferentes condiciones finales que tratan de reproducir, de una manera u otra, la condición de lisis en una infección real.

Estos resultados muestran que es posible distinguir dos componentes en la defeción letal. Una que depende de la formación de grupos por individuos defectores y no defectores (que en virus equivaldría a la coinfección) y que se produce a tamaños poblacionales altos (a altas MOI) y otra relacionada con el efecto interferente de la fracción defectora de la progenie sobre el resto de dicha progenie cuando se considera más de una ronda de replicación. Esta “autodefeción” no es dependiente de densidad y, por tanto, aumenta el efecto de la tasa de mutación siempre que existan interacciones en *trans*. Ahora bien, puesto que esta componente depende del número de rondas de replicación de un individuo dentro de un grupo, sí que puede verse afectada por el llamado *modo de replicación* del virus (Sardanyés et al., 2009). Esta posibilidad se considerará más adelante en el caso particular de los virus RNA.

13.5. Dificultades de la teoría

En ciencia, el crítico más despiadado del trabajo de un científico debería ser su propio autor aunque, dada la cercanía del trabajo, esta tarea no siempre es fácil. Revisar con escepticismo y espíritu crítico el trabajo propio debería ocupar un lugar principal en la biología evolutiva, aunque sólo sea por razones históricas. En el que, sin duda, puede considerarse documento fundador de la biología evolutiva moderna, el *Origen de las especies*, Charles Darwin dedicó el capítulo VI, y siguientes, a analizar las “dificultades” de la teoría presentada en dicho libro y, en ediciones posteriores, también incluyó, y rebatió, gran parte de las objeciones realizadas por otros científicos. En esta misma línea, esta sección de la discusión repasa críticamente las principales limitaciones del trabajo realizado en esta Tesis, esperando que eso ayude a resaltar sus logros y, sobre todo, a desarrollarlo en un futuro cercano.

Estudio de estados estacionarios y sistemas deterministas

A lo largo de esta Tesis, los modelos planteados se han estudiado desde una perspectiva determinista que se ha limitado al estudio de los estados estacionarios de los sistemas de EDO planteados. Las limitaciones de esta aproximación, que debe ser considerada siempre como una primera aproximación, son de sobra conocidas. El estudio determinista de los sistemas dinámicos considera implícitamente que los tamaños poblacionales son extremadamente grandes y, en último término, infinitos. De esta forma se desestiman todos los fenómenos de tipo estocástico que se producen cuando se consideran poblaciones finitas y, especialmente, poblaciones cuyo tamaño no es demasiado grande. Si bien esta limitación es remarcable en cualquier condición, puede ser especialmente problemática en el estudio de fenómenos como la extinción que, por definición, suponen una disminución progresiva del tamaño poblacional. Es decir, a lo largo del proceso, los fenómenos estocásticos van cobrando

cada vez más importancia. Esta consideración no invalida la aproximación y los resultados de esta Tesis, pero sí los contextualiza. Es muy probable que, debido a la no consideración de los fenómenos estocásticos, el umbral de extinción este sobreestimado en todos los casos, ya que, al considerar población finita, el efecto de las fluctuaciones puede hacer que la extinción se produzca a tasas de mutación menores. Esto equivale a decir que, tal y como muestra el modelo Iranzo-Manrubia (Iranzo y Manrubia, 2009), cuando el tamaño poblacional se hace lo suficientemente pequeño es necesario considerar, entre otros, fenómenos de tipo deriva génica que pueden afectar considerablemente al equilibrio de selección-mutación, pudiendo llegar a cambiar parcialmente los resultados obtenidos bajo una perspectiva determinista.

En segundo lugar, la aplicación de una aproximación determinista se ha limitado al estudio de los estados estacionarios del sistema. Por supuesto, es muy difícil, por no decir imposible, que un sistema biológico cualquiera alcance una situación de estado estacionario. Mucho más aún cuando el sistema en cuestión está sometido a evolución biológica y, por tanto, a posibles cambios estructurales del propio sistema. No hay que olvidar que cuando se plantean este tipo de modelos mínimos, de alguna forma se están prefijando unos límites a la evolución de nuevas formas, agentes, etc. dentro del sistema, que es, precisamente, lo que permite estudiarlos. Plantear estos modelos obliga a cerrar o limitar el espacio de lo posible, mientras que, por su propia naturaleza, la evolución biológica es capaz de aumentar progresiva pero indefinidamente su grado de complejidad, característica que algunos autores han denominado *open-ended* (Ruiz-Mirazo et al., 2008). Lo más probable, por tanto, es que los sistemas biológicos se encuentren permanentemente en una situación transitoria, alejados del estado estacionario. El estudio de los estados estacionarios de un sistema biológico debe tomarse no tanto como una aproximación a lo que está ocurriendo sino a las tendencias del sistema, hacia donde se dirige, por decirlo de algún modo.

Paisajes de Eficacia biológica

A día de hoy, el desconocimiento de la estructura de los paisajes de eficacia biológica en virus reales es todavía considerable, aunque existen esfuerzos en este sentido, tanto en relacionar secuencias con eficacias biológicas (Lorenzo-Redondo, 2011) como en cuantificar el efecto de las mutaciones en diferentes especies virales (Sanjuán, 2010). Debido a este desconocimiento, el “problema” de los paisajes de eficacia biológica es quizá uno de los mayores retos a los que se enfrenta la biología evolutiva teórica. Entrecomillamos la palabra “problema” porque buena parte de estos problemas son creados por los propios científicos cuando hacemos un uso inadecuado de los modelos teóricos y sus resultados. Dado el desconocimiento de la estructura de los paisajes de eficacia reales, cualquier ejemplo de paisaje que se utilice queda en el terreno de la hipótesis y de la particularidad y, por tanto, los resultados que se derivan de ellos deben ser manejados con precaución. Se utilicen paisajes extremadamente simplistas como el *Single-Peak* o los de tipo multiplicativo, o ligeramente más complejos como los paisajes *NK*, hay que tener siempre en mente que, trabajando con casos particulares, es muy probable obtener resultados particulares, que no tienen por qué ser fácilmente generalizables. Es un error tentador en biología teórica tratar de generalizar resultados particulares sin un estudio exhaustivo de la legitimidad de dicha generalización, y es un error que se ha tratado de no cometer en este trabajo. Esto no significa que las conclusiones obtenidas a partir de un modelo simple no sean extrapolables o generalizables, sino que su extrapolación debe realizarse con precaución y, además, siendo tremendamente cuidadosos de no desligar las conclusiones del modelo de las suposiciones y condiciones del mismo, lo que suele ocurrir con relativa frecuencia. En este sentido, nunca se debe dejar de subrayar que los modelos son prisioneros de sus suposiciones iniciales, especialmente cuando dichos modelos pueden ser posteriormente utilizados por científicos no habituados al desarrollo y estudio de modelos teóricos.

La elección de paisajes de eficacia biológica simples suele deberse a la posibilidad de aplicar determinadas técnicas matemáticas que es imposible aplicar en casos más complejos y que permiten obtener un conocimiento muy completo de los mismos⁶. Su elección es, por tanto, perfectamente legítima en ciencia. Es más, el desarrollo de modelos básicos y sencillos no sólo es científicamente legítimo sino incluso esencial, en tanto que son una herramienta fundamental para la comprensión básica de los fenómenos biológicos. El problema surge cuando se pretende ampliar el rango de validez y aplicabilidad de dichos modelos más allá de lo que dicho modelo permite. Cuando esto ocurre, es cuando los modelos dan “problemas” de verdad.

Dicho esto, el paisaje de eficacias biológicas tipo *Single-Peak* en ausencia de *back-mutation* (el paisaje estándar, por así decirlo, en teoría de cuasiespecies) presenta ciertas particularidades que no se han dejado de señalar a lo largo del trabajo. Quizás la más importante es la aparición de un umbral de error más allá del cual la población es insensible al efecto de las mutaciones, al estar exclusivamente compuesta por un fenotipo infinitamente robusto. La principal consecuencia de este fenómeno es que, en todos los casos analizados excepto en uno, se ha obtenido que la entrada en catástrofe de error impide que la población se extinga por acumulación de mutaciones.

Ahora bien, el paisaje de eficacias biológicas tipo *Single-Peak* tiene una serie de características que lo hacen especialmente interesante en el estudio de las cuasiespecies en general y, en concreto, las de los virus RNA. En primer lugar, su gran simplicidad, que permite estudiarlo analíticamente. En segundo lugar, como se ha mencionado anteriormente en la discusión, en ausencia de *back-mutation* los resultados obtenidos antes del umbral de error son idénticos a los obtenidos en otros paisajes de eficacia biológica como el multiplicativo en ausencia de *back-mutation* (Bull et al., 2007). De hecho, para longitudes de secuencia grandes y coeficientes de selección por mutación, s , no muy pequeños, el equilibrio de mutación obtenido en paisajes de eficacia multiplicativos en puede aproximarse a un *Single-peak*, incluso aunque la *back-mutation* no se desestime.

Por último, los virus RNA presentan epistasis antagonista (Holmes, 2009), debido seguramente a que, por el carácter multifuncional de sus proteínas y por la importancia de las estructuras secundarias del RNA, las mutaciones puntuales tienen grandes efectos. De hecho, los virus RNA presentan un alto porcentaje de mutaciones letales (Sanjuán, 2010). El paisaje *Single-peak* es un ejemplo extremo de epistasis antagonista puesto que mutaciones posteriores a la primera no tienen efecto sobre la eficacia biológica (Bull et al., 2007), por lo que, en tanto que *toy model*, quizás represente mejor el comportamiento de los virus RNA que un paisaje de tipo multiplicativo o aditivo. A pesar de esto, sin duda una de las grandes limitaciones de este trabajo es no haber considerado otros tipos de epistasis (sinérgica o ausencia de epistasis) o bien haber considerado diferentes grados de epistasis antagonista.

Modelos *multiloci* vs. interacciones pleiotrópicas

En este trabajo se han considerado especies autorreplicantes con un único *locus*, que podría expresarse en dos rasgos diferentes: la capacidad replicativa en *cis* (expresada en parte a través de una ventaja selectiva en *cis*) y la contribución al bien público (B_i). De esta manera el tratamiento del modelo se simplificaba considerablemente. Aun así, la posible extensión de este modelo a situaciones *multiloci* no presentaría mayor problema. La consideración de un único *locus* que afecta a varios rasgos que determinan la eficacia biológica se fundamenta en el hecho de que la mayoría de mutaciones que sufre un virus RNA tienen un carácter pleiotrópico, es decir, afectan simultáneamente a diferentes rasgos. Aunque la pleiotropía es ubicua en los seres vivos, debería ser especialmente importante en virus RNA debido al pequeño tamaño de sus genomas y al carácter multifuncional de la mayoría

⁶No deja de ser paradójico que las herramientas matemáticas que permiten obtener resultados más generales (las técnicas analíticas) sólo puedan aplicarse a modelos sencillos de difícil generalización, mientras que en los modelos más complejos y generales la mayoría de las veces sólo se puedan aplicar técnicas (de simulación o resolución numérica) que sólo aportan resultados particulares.

de sus proteínas. Por este motivo, se ha considerado un único *locus* cuya mutación afecta tanto a funciones que pueden actuar en *trans*, como a funciones que sólo actúan en *cis*. En un virus RNA la situación será mucho más compleja y es de esperar que los valores equivalentes a c , v y B_i sean específicos de cada mutación.

La relación o, quizás más correctamente, la correlación entre ambos efectos es un punto importante que parece interesante destacar: en el modelo Iranzo-Manrubia (Iranzo y Manrubia, 2009) se asumía que las mutaciones que afectan a la infectividad llevaban consigo un coste en la capacidad replicativa del individuo. En el contexto del modelo presentado en este trabajo esto es equivalente a asumir que $v < 0$. Sin embargo, esto no tiene por qué ser siempre así. Pueden existir mutaciones que provocando pérdidas totales o parciales de infectividad supongan un aumento de la capacidad replicativa del virus. Las deleciones implicadas en la formación de las *DIP* serían el ejemplo más clásico, pero también se conocen mutaciones puntuales capaces de tener este doble efecto (Meyer y Southern, 1997), en este último caso, la defectividad se produce por mutaciones en regiones implicadas en el reconocimiento por el ribosoma, de manera que el virus no puede ser traducido, de manera que es defectivo. Sin embargo, el no poder unirse a ribosomas le confiere una ventaja replicativa ya que, en teoría, aumenta su concentración efectiva para unirse a las replicasas virales.

Esta correlación entre el efecto de las mutaciones sobre la contribución al bien público y la capacidad replicativa en *cis* puede tener importancia puesto que, como se ha visto a lo largo de este trabajo, si una mutación deletérea en la contribución al bien público está asociada a una ventaja selectiva en *cis* la defeción letal se ve favorecida, mientras que si, por el contrario, dicha mutación implica una pérdida adicional de capacidad replicativa, la defeción letal se ve perjudicada. Este efecto puede ser relevante si en determinados virus RNA existe alguna correlación global entre las mutaciones deletéreas en factores que interactúan en *trans* y su efecto sobre la capacidad replicativa en *cis*. Si esta correlación es negativa, por ejemplo, es probable que la defeción letal se vea favorecida en dichos virus.

Limitaciones de considerar un juego de bienes públicos

A lo largo de este trabajo se han considerado las interacciones en *trans* como el grado en que depende la eficacia biológica de un individuo de la interacción en un juego de bienes públicos. De esta forma se definió un factor de interacción en *cis*, c , que varía entre 0 y 1 dependiendo de si todas las interacciones son en *trans* o en *cis*, respectivamente.

En primer lugar, se podría cuestionar hasta que punto una infección viral puede plantearse como un juego de bienes públicos. Como se vio en la introducción, para que un bien producido colectivamente sea considerado un bien público debe carecer de rivalidad, es decir, su uso por parte de un individuo no debe disminuir el uso por parte de otros individuos, y de exclusividad: todos los individuos tienen que tener el mismo acceso al bien público. Como se mostró en el capítulo 5, la idea de considerar las interacciones en *trans* entre virus RNA desde la perspectiva de los juegos de bienes públicos tiene como fundamento molecular el hecho de que los genomas virales codifican proteínas que pueden compartirse en *trans*. Estas proteínas pueden considerarse, por tanto, un bien producido colectivamente por los diferentes virus que están infectando la célula. Ahora bien, a nivel molecular, la interacción entre genomas y proteínas tiene más de bien común que de bien público, puesto que mientras un genoma está siendo replicado por una enzima, ésta no puede unirse a otro genoma. Aun así, al haber considerado en este trabajo la replicación como si fuese una reacción bimolecular, la interacción genoma-proteína puede considerarse desde la perspectiva de un juego de bienes públicos.

En condiciones de población constante, al considerar la existencia de un juego de bienes públicos en presencia de dos únicos fenotipos, éste se convertía en un juego tipo 2×2 . Por supuesto, el estudio de este modelo también puede llevarse a cabo considerando múltiples fenotipos con diferentes contri-

buciones diferentes al bien público, en los que la contribución de cada fenotipo vendría determinada por el equivalente a un paisaje de eficacias biológicas, en este caso de contribuciones.

En condiciones de población variable, considerar un juego de bienes públicos implica suponer que la cantidad total de dicho bien permanece constante o que tiene una escala temporal diferente de la producción y degradación de los genomas (ecu. 5.14). Precisamente es el caso contrario a suponer que el recurso puede considerarse en estado cuasiestacionario, lo que da lugar a un sistema tipo hiperciclo (ecu. 5.12). Ambas suposiciones son claramente poco realistas. Sin embargo, la consideración del juego de bienes públicos permite resolver analíticamente los casos más sencillos de dicho modelo. Es interesante estudiar la relación entre el modelo tipo hiperciclo, ecu. 5.12, y el modelo que considera enzima constante, ecu. 5.14, en lo que al proceso de extinción se refiere. En el primero, puesto que se supone que la escala de producción de enzima replicasa es mucho más rápida que la de la replicación, los cambios en la población de genomas se transmiten rápidamente a la concentración de enzimas y, por tanto, la disminución en el número de genomas se retroalimenta con la disminución en la concentración total de enzima. En el modelo que considera una concentración de enzima constante, o una cinética de producción y eliminación de enzima replicasa mucho más lenta que la replicación y degradación de los genomas, la disminución del número de genomas no se transmite, o lo hace muy lentamente, a la concentración total de enzimas, por lo que el proceso no se retroalimenta. La consecuencia es que al disminuir la eficacia biológica de los genomas, la extinción va a ocurrir antes y de forma más brusca en el modelo tipo hiperciclo que en el modelo que considera la concentración de enzima constante. Es decir, *el modelo estudiado en esta Tesis subestima sistemáticamente el umbral de extinción*. Si se supusiese una relación más compleja entre la cantidad de genomas y la cantidad de recurso, el umbral de extinción sería mayor, tendría lugar a menores tasas de mutación. Los hiperciclos, puesto que la concentración de recurso o proteína disminuye instantáneamente al disminuir el genoma, no sólo se extinguen a menores tasas de mutación sino que la hacen de forma brusca, características de sistemas que tienen efectos tipo Allee. Todo esto hace necesario señalar otra suposición del modelo que es, como mínimo, complicada de justificar a un nivel molecular. Por un lado, el modelo supone que la cantidad de bien público es constante, es decir, no depende de la concentración total de especies autorreplicantes. Por otro lado, la composición de dicho bien público sí cambia con las fracciones poblacionales respectivas de dicha especie autorreplicante, lo que, al menos aparentemente, parece contradictorio con la primera suposición. Sin embargo, desde un punto de vista operativo, esta suposición es muy útil para simplificar el tratamiento analítico de los modelos, lo que, por sí mismo, es suficiente justificación para su uso.

Por último, a lo largo de este trabajo se ha considerado que el juego de bienes públicos seguía una estructura de pagos lineal, puesto que la cantidad de recurso que experimenta un individuo es el promedio de las contribuciones de los diferentes fenotipos. Como se vio en la introducción, los juegos de bienes públicos no se limitan al estudio del caso lineal sino que pueden considerarse otro tipo de estructuras de pagos no lineales: tipo umbral, sigmoideas, etc. En el contexto del modelo presentado en este trabajo, este tipo de estructuras no lineales sería equivalente a considerar algún tipo de *dominancia genética* en la interacción entre los diferentes recursos. Así, por ejemplo, si para una misma proporción de fenotipo mutante, el efecto sobre la eficacia biológica fuese menor que en el caso lineal se estaría ante un caso de dominancia del fenotipo maestro, mientras que si en ese caso el efecto fuese mayor que en el caso lineal, sería un caso de dominancia del fenotipo mutante. Aunque finalmente no se ha tenido en cuenta en este trabajo, estudios preliminares con el modelo de cuasiespecies que interaccionan en *trans* muestran que aumentar la dominancia del fenotipo maestro disminuye el lastre mutacional, mientras que aumentar la dominancia del fenotipo mutante aumenta dicho lastre. Un estudio más detallado del efecto de la dominancia en el modelo de las cuasiespecies que interaccionan en *trans* es una de las tareas que podrían derivarse de este trabajo.

Objetivo y utilidad de los modelos mínimos

Uno de los objetivos de esta Tesis ha sido el desarrollo de una serie de modelos mínimos para el estudio de la defeción letal. En tanto que modelos mínimos son tremendamente simples en relación a los virus RNA. Sin embargo, El objetivo de los modelos mínimos no es reflejar detalladamente el sistema experimental que modelizan, sino tratar de localizar y comprender los aspectos más esenciales del mismo. De esta manera, intentan construir una base o un marco conceptual sólido sobre el que poder desarrollar modelos teóricos y computacionales más complejos, así como poder abordar más eficazmente el estudio experimental de las situaciones que se han tratado de modelizar. Se podría llegar a decir que el desarrollo de modelos mínimos es, por tanto, casi más una forma de hacer “ciencia básica” que una aproximación computacional o matemática a un problema. Por eso, aunque los modelos mínimos pueden ser utilizados en ocasiones para la obtención de parámetros experimentales (como se ha mostrado en la sección 7.5) o incluso para hacer predicciones experimentales concretas, ese no es, desde nuestro punto de vista, su objetivo fundamental. Siguiendo con la idea de que el principal objetivo de los modelos mínimos es permitir una mejor comprensión de las características esenciales de los fenómenos estudiados, en la siguiente sección se tratará de relacionar los resultados obtenidos a través de dichos modelos mínimos con los virus RNA y la posibilidad de extinguirlos mediante mutagénesis letal.

13.6. Modelos mínimos de defeción letal y virus RNA

Mutagénesis letal e interacciones en *trans* en virus RNA

Uno de los principales resultados de esta Tesis es el desarrollo de un modelo básico que explica y confirma el núcleo principal sobre el que se asienta la hipótesis de defeción letal: que cuanto mayores sean las interacciones en *trans* en un virus RNA, más susceptible será a la mutagénesis letal. Su principal novedad radica en explicar este hecho debido a la acción de la defeción sobre el equilibrio selección-mutación. Este resultado implica que aquellas familias o especies virales que, por sus características biológicas o por su historia evolutiva, tengan una mayor tendencia a interactuar en *trans* serán más susceptibles a la acción antiviral de un fármaco mutágeno. En la introducción se comentó que diferentes familias virales tienen diferente tendencia a interactuar en *trans*. Sobre esta base es posible, en principio, intuir que aquellas familias con mayor tendencia a interactuar en *trans*, por ejemplo las familias de virus RNA de cadena negativa, serían más susceptibles a mutagénesis letal que, por ejemplo, los virus RNA de cadena positiva. Aunque, a día de hoy, parece que existen ciertos indicios que demuestran este comportamiento (Moreno et al., 2012), desgraciadamente, esta hipótesis no es fácil de comprobar rigurosamente, puesto que no es fácil comparar la acción mutagénica sobre dos especies virales diferentes.

En primer lugar, actualmente no existe ningún medio para estudiar cuantitativamente el grado de interacción en *trans* en una especie viral. En este sentido, los resultados presentados en la sección 7.5, para el fago $\phi 6$, pueden ser una manera de intentar obtener un primer resultado cuantitativo aproximado para el valor de c , a partir de un modelo muy sencillo. En segundo lugar, el carácter mutagénico de un fármaco depende de cada especie viral o incluso de la concentración de dicho fármaco. Véase, por ejemplo, lo que ocurre con la ribavirina, que ha sido descrita como mutagénica para ciertas especies virales, pero no para otras (Graci y Cameron, 2006; Parker, 2005) y, que también puede comportarse como mutágeno o inhibidor para una misma especie dependiendo de su concentración (Moreno et al., 2011). Esto implica que, para comparar el efecto mutagénico de dos fármacos hay que comparar el efecto del fármaco en base a las frecuencias de mutaciones que dichos fármacos producen en cada uno de los virus RNA, tal y como hacen, por ejemplo, Graci et al. (2012).

Finalmente, habría que descartar que un efecto diferente del mutágeno se debiese a otros fenó-

menos como la robustez mutacional (Graci et al., 2012) u otras características del virus que pueden condicionar el efecto de la mutagénesis letal, algunas de las cuales se considerarán a continuación.

Efecto pleiotrópico de las mutaciones

En esta Tesis se ha estudiado un modelo que considera un único *locus* que presenta efectos tanto en la cantidad de recurso que el individuo aportaba al bien público, B_i , como en la capacidad replicativa en *cis*, v o w . Por supuesto, en un virus RNA la situación es mucho más compleja. Como se vio en la introducción, dentro de una misma especie viral no sólo existen *loci* complementables en *trans* y *loci* que no lo son, sino que incluso dentro de un mismo *loci* existen mutaciones complementables y mutaciones no complementables, presumiblemente debido al carácter multifuncional de las proteínas virales. Esto implica que lo que se tendría en realidad en un virus RNA, desde la perspectiva de un juego de bienes públicos, es que cada mutación tendría asociada un determinado valor de c , y unos determinados cambios en B_i y en v_i . Por supuesto, al hablar de “cada mutación”, habría que tener en cuenta los efectos epistáticos de interacción entre diferentes mutaciones o, como a veces se denomina en los modelos de cuasiespecies, la dependencia de su efecto respecto al contexto de secuencia. Es decir, existirá un conjunto de mutaciones deletéreas no complementables ($c = 1$) además de toda una serie de mutaciones que presentarían grados variables de complementación ($c < 1$). Cuando en el apartado anterior se consideraba que diferentes especies virales presentan diferentes grados de interacción en *trans*, en realidad se estaba considerando tanto la proporción de mutaciones cuyo efecto ocurre tanto en *cis* como en *trans*, como el grado de interacción promedio de las mismas.

Al considerar dos posibles fenotipos, maestro y mutante, se ha considerado que el paso de uno a otro fenotipo implicaba cambios en uno o en los dos rasgos. El caso más simple, $v = 0$, implica que ambos rasgos son independientes. La mutación disminuye la aportación al bien público, pero no afecta a la capacidad replicativa en *cis* del mutante. También se ha considerado el caso en que la mutación afecta a ambos rasgos y, a la vez que disminuye el recurso aportado al bien público, disminuye ($v < 0$) o aumenta ($v > 0$) la capacidad replicativa en *cis* del mutante respecto al fenotipo maestro. Es decir, fundamentalmente se está considerando que las mutaciones pueden tener un efecto pleiotrópico sobre varios rasgos que condicionan la eficacia biológica. En este caso, puesto que uno de los rasgos actúa exclusivamente en *cis* y el otro puede hacerlo tanto en *cis* como en *trans*, la relación entre los efectos en ambos rasgos tiene gran importancia para determinar el resultado del dilema social, o incluso si éste existe, en presencia o ausencia de mutaciones. En los capítulos 6, 7 y 8 se ha observado que cuando la disminución de B_i está asociada a una mayor ventaja selectiva en *cis*, $v > 0$, la existencia de un dilema social aumenta el lastre mutacional y, en condiciones de población variable, favorece la extinción. Sin embargo, si un menor B_i se asocia a una menor capacidad replicativa, $v < 0$, entonces el efecto de las interacciones en *trans* es menor, lo que dificulta la defección letal. En un virus RNA cada mutación tendrá un efecto determinado sobre la aportación en *trans* y sobre la capacidad replicativa en *cis* y lo más probable es que, globalmente, no exista una correlación clara entre ambos efectos (es decir, que las mutaciones que disminuyan B_i aumenten v_i o viceversa). Ahora bien, si en un virus RNA existen regiones importantes del genoma en la que sí exista una correlación, esto puede favorecer o dificultar la acción de la defección letal. Anteriormente se comentó el ejemplo de los mutantes defectivos interferentes de LCMV causados por pequeñas deleciones que alteran la región de reconocimiento del ribosoma, de manera que no se traducen (motivo por el que son defectivos) y además tienen una ventaja replicativa, puesto que tienen más probabilidad de unirse a la polimerasa viral, al no tener que competir el genoma con los ribosomas (Meyer y Southern, 1997). Este caso particular puede darnos una idea del tipo de mutaciones que se están considerando. Por poner el ejemplo contrario, se cree que en *Picornavirus*, existen funciones asociadas a la replicación estrictamente necesarias en *cis*, de forma que un genoma incapaz de traducirse no puede replicarse (Ehrenfeld et al., 2010).

Letalidad, defección y mutagénesis

En el capítulo 8 se estudió el efecto de la letalidad sobre la defección letal. En dicho capítulo se demostró que, más allá de la llamada letalidad crítica, la presencia de posiciones letales en la secuencia disminuía el umbral de extinción. Es decir, en presencia de letalidad, la tasa de mutación necesaria para extinguir a una población es mayor. Este efecto *a priori* contraintuitivo se debe, como se ha comentado anteriormente, a que la letalidad disminuye el efecto de la defección, al disminuir la cantidad de fenotipo mutante-defector en la población, sin aumentar el efecto deletéreo de la tasa de mutación, puesto que éste, en ausencia de *back-mutation*, éste sólo depende de la tasa de mutación y no del coste de eficacia biológica de las mutaciones. En un virus RNA es esperable que este último efecto no ocurra y que una mayor proporción de posiciones letales en la secuencia se traduzca en un mayor lastre mutacional⁷.

Por tanto, en un virus RNA una mayor fracción de mutaciones letales tendrá dos efectos opuestos. Por un lado, aumentará el lastre mutacional debido al mayor efecto deletéreo de estas mutaciones. Por otro lado, disminuirá el efecto de la defección letal y, por tanto, el lastre mutacional. El balance entre ambos fenómenos dependerá, sobre todo, del grado de interacción en *trans* en el virus.

El que la defección letal se ve perjudicada por mutaciones letales es un hecho que ha sido comprobado experimentalmente en el estudio de la interferencia ejercida por mutantes puntuales de FMDV (Perales et al., 2007). En dicho estudio se comprobó que la coinfección con mutantes de la polimerasa incapaces de replicarse no ejercía ningún efecto interferente. A partir de este estudio se consideró necesario que los defectores pudieran ser capaces de replicarse por sí mismos (o al menos de ser replicados en presencia de otros virus).

Los estudios más recientes de la fracción de mutaciones letales en virus RNA muestran que para VSV y el TEV (*Tobacco Etch virus*) dicha fracción ronda el 40 %, mientras que en los fagos $Q\beta$, $\Phi X174$ y $F1$ se sitúa en torno del 20 % (Sanjuán, 2010). Sin embargo, estos estudios se llevan a cabo en condiciones en las que no es posible la complementación y, por tanto, bajo la denominación de mutaciones letales incluyen tanto mutaciones letales como mutaciones “defectivas”, en el sentido de que podrían ser complementadas en presencia de un virus *helper*.

Suponiendo que no exista una correlación entre el efecto deletéreo de una mutación y la complementabilidad de la misma, es evidente que un mutágeno debería tratar de optimizar el efecto deletéreo de las mutaciones en un virus determinado. De existir dicha correlación, es decir, que las mutaciones que tienen un mayor efecto sobre la eficacia biológica tienen una menor tendencia a ser complementadas en *trans*, este resultado aparentemente obvio podría ser cuestionable, ya que podría depender del grado de interacción en *trans* global o promedio del virus.

Defección letal y MOI: Componentes de la defección letal

En esta Tesis se ha demostrado que en la defección letal pueden distinguirse dos componentes: por un lado, las dinámicas de coinfección entre virus viables y virus defectores, que tienen lugar exclusivamente a altas multiplicidades de infección. Por otro lado, la acción interferente que los defectores producidos durante el proceso de replicación intracelular del virus pueden ejercer sobre ese mismo proceso de replicación. Este último mecanismo, que probablemente sea el mecanismo clave de la defección letal, es independiente de la multiplicidad de infección y, por tanto, en principio, actuaría bajo cualquier condición. Este resultado demuestra que aunque la defección letal se ve afectada por los cambios de tamaño poblacional que ella misma induce, su efecto puede continuar siendo relevante incluso a bajas multiplicidades de infección. Aun así, teniendo en cuenta estas dos compo-

⁷Estudios preliminares en paisajes *NK* en ausencia de interacciones en *trans* llevados a cabo por el autor apuntan en esta dirección.

nentes, podría pensarse que aquellas infecciones que tengan lugar en condiciones que permitan una mayor multiplicidad de infección local serán más susceptibles a la mutagénesis. Así, por ejemplo, la mutagénesis letal sería en principio más eficaz en aquellas infecciones que se desarrollen en tejidos frente a las que tengan lugar en el torrente sanguíneo, y presumiblemente también será más eficaz en órganos y tejidos poco irrigados que en aquellos con gran irrigación sanguínea, ya que en esos casos la multiplicidad de infección local sería, presumiblemente, más alta.

Por otro lado, es posible que en cada virus RNA, debido a sus características biológicas particulares, pueda tener un mayor peso una u otra de las componentes de la defeción letal. Aún en el caso de que la autodefeción sea la componente de menor peso, el efecto de la defeción letal no puede ser simplemente descartado. Aunque cuando no se considera esta componente, el umbral de extinción no depende del grado de interacción en *trans*, el tamaño poblacional a tasas de mutación bajas o intermedias sí que lo hace, por lo que cuanto mayores sean las interacciones en *trans*, menor sería la carga viral del virus RNA. Al hacer modelos teóricos de mutagénesis letal se ha tendido a pensar en la eficacia de una terapia en términos de su umbral de extinción, sin embargo, una bajada significativa de la carga viral, aun sin conseguir la extinción de la población, puede ser un avance clínico muy importante, debido a la mejora y alargamiento de la vida de los pacientes. En realidad, esto es precisamente lo que ha conseguido la terapia *HAART* en los pacientes infectados con HIV-1. Es decir, aún en el caso en que no fuese posible extinguir un virus RNA utilizando simplemente un mutágeno, los fármacos mutágenos podrían ser usados como fármacos adyuvantes en combinación con otros fármacos (aunque hay que considerar los límites de las terapias de combinación que implican mutágenos, (Iranzo et al., 2011)) o incluso con inmunoterapia (Domingo et al., 2012). En estas condiciones, cuanto mayor fuese la componente de defeción letal en un virus RNA, mayor sería el efecto de la mutagénesis sobre el mismo, incluso aunque el efecto atenuante de la densidad sobre la defeción letal fuese significativo .

Infecciones persistentes y líticas. Modos de replicación

Algunos autores han criticado la posibilidad de defeción letal afirmando que sólo podría tener lugar en infecciones persistentes, pero no en infecciones líticas (Steinmeyer y Wilke, 2009). Por otra parte, la defeción letal debida a extinción estocástica o inducida por ruido (Iranzo y Manrubia, 2009) no puede explicar la extinción de la población cuando se producen cuellos de botella de forma continuada (Manrubia et al., 2010). Sin embargo, como se comentó en la introducción, existen evidencias experimentales que indican que la defeción letal puede actuar también en infecciones líticas. El modelo presentado en el capítulo 12, en el que se considera que la población interacciona en grupos de tamaño variable, podría representar un ejemplo de infecciones líticas, comprobándose que la defeción puede favorecer la extinción por la alteración del equilibrio de selección/mutación aun en infecciones líticas, algo que no había sido mostrado hasta ahora. En este sentido sería interesante desarrollar modelos más avanzados que tuviesen en cuenta de forma explícita la dinámica celular para poder comparar si la defeción letal es más eficaz en infecciones líticas o en infecciones persistentes.

Recientemente, diferentes trabajos han estudiado la importancia del modo de replicación de los virus RNA en la acumulación de mutaciones en su genoma, el umbral de error, etc. (Sardanyés et al., 2009; Sardanyés y Elena, 2011; Sardanyés et al., 2012). Básicamente, existen dos posibles modos extremos de replicación: el llamado *stamp-machine* (*SMR*) en el que todos los genomas proceden de un único genoma original que es replicado en serie, y el modo geométrico (*GR*) en el que cada genoma da lugar a una copia de sí mismo, esa copia a otra y así sucesivamente. Para una misma tasa de mutación por nucleótido, en el *SMR* las mutaciones se acumulan en los genomas replicados según una distribución de *Poisson*, mientras que en el *GR* lo hacen según una distribución Luria-Delbrück (Sardanyés et al., 2009), siendo la frecuencia de mutación media por genoma mucho mayor en este segundo caso. En general, los virus tienen modos de replicación “intermedios”, en parte *SMR* y en

parte *GR*, pero la contribución de cada modo depende del virus en cuestión (Sanjuán et al., 2010) y, en teoría, dichas contribuciones pueden estimarse a partir de la distribución de mutaciones que da lugar el virus.

Aunque en este trabajo no se hayan tenido en cuenta los posibles modos de replicación, evidentemente pueden ser un factor importante en la extinción de los virus por mutagénesis letal. En primer lugar, suponiendo una tasa de mutación por nucleótido similar, cuanto más componente *GR* tenga el modo de replicación de un virus, más mutaciones acumulará en la población (Sardanyés et al., 2009) y, por tanto, más susceptible será a un aumento en la tasa de mutación. Es decir, aquellos virus con mayor componente *GR* serían un target más prometedor para terapias de mutagénesis letal. Sin embargo, la comparación entre ambos sistemas en ausencia de mutaciones (Sardanyés et al., 2012) ha mostrado que el modo de replicación *SMR* es más sensible a cambios en la eficacia biológica, de manera que el sistema se extingue antes cuanto mayor sea su componente *SMR*.

Por otro lado, el modo de replicación puede afectar también a la defeción letal en dos sentidos. En primer lugar, en principio parece que los modos de replicación tipo *SMR* tienen más probabilidad de presentar un menor grado de interacción en *trans* que los modos de replicación tipo *GR*. En segundo lugar, también parece probable que cuanto mayor sea la componente *SMR* del modo de replicación, menor será el efecto de la autodefeción, la defeción causada por mutantes que interfieren en el propio proceso de replicación. Es decir, el modo de replicación puede ser una de las condiciones que hagan que en un virus RNA tenga mayor o menor importancia cada una de las componentes de la defeción letal. Sin embargo, hasta donde sabemos, la relación entre modo de replicación e interacciones en *trans* no se ha estudiado. La inclusión del efecto del modelo de replicación en los modelos de cuasiespecies que interactúan en *trans*, así como el estudio de sus consecuencias para la extinción, es una de las perspectivas para ampliar este trabajo en un futuro.

13.7. Algunas reflexiones sobre la mutagénesis letal

Si en la sección 5 de esta discusión se repasaron críticamente los modelos y suposiciones utilizadas a lo largo de esta Tesis y en la sección 6 se ha tratado de extrapolar los resultados obtenidos con dichos modelos a los virus RNA, el objetivo de esta última sección es considerar algunas de las posibles limitaciones y dificultades que puede plantear el propio concepto de mutagénesis letal, los posibles mecanismos contrarrestantes a estas dificultades y, finalmente, algunas soluciones que pueden intuirse a la luz de éste y otros trabajos. La mayor parte de lo presentado en esta sección no se deriva directamente de los resultados presentados en esta Tesis, sino que surge de una forma más tangencial, a partir de la contextualización de los mismos y, en general, del contacto del autor con el campo más amplio que supone el estudio de la mutagénesis letal. Por este motivo, se ha decidido presentarlas al final del trabajo, como una serie de reflexiones sobre la temática general del mismo.

Posibles problemas de la mutagénesis letal

La extinción de los virus RNA mediante la acumulación de mutaciones se presenta como una prometedora terapia antiviral, principalmente porque su aproximación es completamente diferente y, por tanto, también complementaria a las terapias clásicas basadas en inhibidores de la replicación o de otros procesos virales. Sin embargo, como cualquier otra posible terapia antiviral, no está exenta de problemas, algunos de los cuales deben ser planteados y tenidos en cuenta a la hora de buscar implementaciones clínicas que sean más eficaces y seguras.

Resistencias

Al igual que cualquier otra terapia antiviral conocida hasta ahora, la mutagénesis letal no está exenta del riesgo de aparición de mutantes resistentes. Básicamente, se podrían definir dos posibles tipos generales de resistencia a mutágeno: las resistencias fármaco-específicas y las resistencias fármaco-inespecíficas. Entre las primeras estarían los mutantes clásicos de resistencia a fármaco, en este caso, un mutágeno, en los que la polimerasa viral es capaz de reconocer y discriminar el fármaco en cuestión, evitando su incorporación (Sierra et al., 2007). Existe además otro mecanismo de resistencia fármaco-específico que se basa en la modulación del tipo de transición inducida por un mutágeno, aunque hasta la fecha sólo ha sido descrito una vez (Agudo et al., 2010). Entre los posibles mecanismos de resistencia fármaco-inespecíficos estarían los llamados “mutantes de fidelidad” que son virus cuya RNA polimerasa es capaz de introducir un menor número de mutaciones en el genoma tanto en presencia como en ausencia de fármaco mutágeno (Pfeiffer y Kirkegaard, 2003, 2005; Vignuzzi et al., 2006; Coffey et al., 2011), y la llamada supervivencia del más robusto, que implica la evolución del virus hacia regiones más robustas mutacionalmente del espacio de secuencias. Sin embargo, aunque este último fenómeno como tal sí ha sido observado experimentalmente (Codoñer et al., 2006; Sanjuán et al., 2007; Graci et al., 2012), no se ha comprobado que el tratamiento con mutágenos aumente la robustez mutacional de LCMV (Martín et al., 2008), ni tampoco que un virus haya escapado a tratamientos mutagénicos aumentando su robustez. Por otro lado, un reciente modelo teórico considera difícil que pueda tener importancia frente a la mutagénesis letal, debido, fundamentalmente, a la diferencia en las escalas de tiempo de ambos fenómenos (O’Dea et al., 2010).

Merece la pena destacar que si bien todos los tipos de resistente deben presentar una mayor eficacia biológica que el genoma *wild-type* en presencia de mutágeno, entre ellos pueden presentar diferencias en la acumulación de mutaciones en el virus, debido a sus diferentes mecanismos. Un resistente “clásico” que evita la incorporación de mutágenos hace que la tasa de mutación del virus no varíe y, por tanto, que no existan diferencias entre la frecuencia de mutaciones respecto a la situación en la que no hay mutágeno⁸. Los resistentes basados en modulación del tipo de mutaciones presentan una tasa de mutación aumentada pero, además, un cambio claro en el tipo de mutaciones inducidas por el mutágeno en cuestión (Agudo et al., 2010). Un mutante de fidelidad presentará una menor frecuencia de mutaciones que el *wild-type* tanto en presencia como en ausencia del fármaco mutágeno. Por último, los mutantes de mayor robustez deberían presentar frecuencias de mutación comparables al *wild-type* en presencia y ausencia de mutágeno, pero dichas frecuencias deberían tener efectos completamente distintos sobre la eficacia biológica del mismo (Graci et al., 2012).

Existe además una diferencia crucial entre los dos mecanismos de resistencia. La resistencia específica a fármacos puede, en principio, combatirse utilizando combinaciones de mutágenos, tal y como se ha hecho exitosamente para los inhibidores de la replicación y la proteasa en el caso del HIV (la llamada HAART, *Highly Active Anti-Retroviral Therapy*). Sin embargo, debido a su carácter teóricamente inespecífico, los mutantes de fidelidad podrían ser inmunes a los efectos de la terapia de combinación de mutágenos, ya que un aumento inespecífico de la fidelidad podría afectar de forma similar a los diferentes mutágenos. La base de la terapia de combinación es que es altamente improbable que se encuentren en la población o que aparezcan dobles o triples mutantes resistentes a dos o tres fármacos. Sin embargo, si la mutación de fidelidad es suficientemente inespecífica (ya que, al menos sobre el papel, es posible pensar que los incrementos de fidelidad podrían ser parciales, por ejemplo frente a transiciones, transversiones o cambios específicos de nucleótidos) no sería necesario un doble mutante. Por otro lado, si se tiene en cuenta el fenómeno de la memoria de cuasiespecies (Ruiz-Jarabo et al., 2000; Domingo et al., 2001b), la aparición de mutantes de fidelidad no podría ser combatida retirando el fármaco mutágeno, ya que esto podría dar lugar a que la población fuese

⁸Por simplificar se supone que el efecto de la resistencia es total. Por supuesto, podría ser parcial y, por tanto, disminuir el efecto del mutágeno presentando una tasa de mutación mayor que en ausencia del mismo

rápidamente dominada por una variante de alta tasa de mutación y, viceversa, al aplicar de nuevo cualquier otro mutágeno tendría el riesgo de que la variante de mayor fidelidad volviese a ser mayoritaria en la población.

Debido a su altísima variabilidad genética, sus altos tamaños poblacionales y su relativa simplicidad genética, la aparición de resistencias a fármacos en virus RNA debería ser asumido, a día de hoy, como un proceso prácticamente inevitable. Los problemas planteados por la aparición de resistencias no presentan, por tanto, ninguna diferencia con respecto al resto de terapias antivirales. Sin embargo, la cuestión se complica cuando se considera el fenómeno que se ha denominado mutagénesis subletal.

Mutagénesis subletal

El segundo gran problema que presentan las terapias basadas en mutágenos es la llamada “mutagénesis subletal”, es decir, un aumento de la tasa de mutación pero sólo hasta niveles inferiores a los necesarios para extinguir al virus. Teniendo en cuenta el papel de las mutaciones en la evolución, algunos autores han planteado que dosis subletales de un fármaco mutágeno pueden aumentar la adaptabilidad del virus, lo que puede ser clínicamente contraproducente (Pillai et al., 2008). Esto puede ser especialmente importante en el caso de tratamientos prolongados en pacientes crónicos, en los que aumenta la probabilidad de que se produzcan saltos en las tomas de fármacos o interrupciones puntuales del tratamiento. Debido al carácter esencialmente básico del trabajo presentado en esta Tesis, la mutagénesis subletal no se ha considerado explícitamente en el desarrollo de los modelos, pero es un fenómeno que se ha tenido en mente durante gran parte del trabajo.

La mutagénesis subletal tiene una relación muy estrecha con el primero de los problemas señalados, la mayor probabilidad de aparición de fenotipos resistentes. En primer lugar, dosis subletales de mutágeno podrían aumentar la probabilidad de que aparezcan variantes resistentes a mutágenos, tal y como ocurre para otros fármacos (Iranzo et al., 2011; Perales et al., 2011a) y como ha sido demostrado experimentalmente en el caso de las mutaciones que insensibilizan a ribavirina en el virus de la fiebre aftosa. Así, mientras que es posible obtener un mutante resistente a ribavirina (denominado *M296I*, por la mutación que confiere tal resistencia) cuando se le somete a pases seriados en presencia de concentraciones crecientes de ribavirina (Sierra et al., 2007), cuando el virus se enfrenta a altas concentraciones de ribavirina desde un inicio, dicho virus no se impone y la población se extingue (Perales et al., 2009), a pesar de que dicha mutación puede encontrarse en bajas proporciones en poblaciones que no han sido tratadas en presencia de ribavirina (Perales et al., 2011b).

Adicionalmente, la relación entre resistencia y mutagénesis subletal también funciona en la otra dirección, ya que una de las posibles consecuencias de los mutantes resistentes (bien los de fidelidad o bien los farmacoespecíficos) sería hacer que dosis letales de mutágeno se conviertan en dosis subletales, con los riesgos mencionados previamente. Las resistencias a fármacos no son absolutas, sino, como buen ejemplo de la acción de la selección natural, son resistencias parciales que suelen ir ganando eficacia biológica gracias a mutaciones compensatorias. La consecuencia de un mutante de resistencia o de fidelidad es que incorporaría menos mutaciones por genoma, lo que desplazaría a la cuasiespecie a una región de mutagénesis subletal, con el problema adicional, al menos sobre el papel, de que en dicha región el aumento de la adaptabilidad haría más probable la adquisición de mutaciones compensatorias.

Uno de los puntos clave de la teoría de cuasiespecies es que, debido a la enorme variabilidad genética de los virus RNA, los fenotipos resistentes pueden estar presentes en la población antes de que ésta entre en contacto con el fármaco (Najera et al., 1995; Domingo et al., 2006). La expansión del espectro de mutantes que implicaría una situación de mutagénesis subletal podría acentuar este proceso, con sus indeseables consecuencias a nivel clínico. El problema se agrava porque la relación entre mutaciones deletéreas y beneficiosas en una cuasiespecie depende del grado de adaptación de

una cuasiespecie a su entorno (Stich et al., 2010; Lalic et al., 2011), de forma que la proporción de mutaciones beneficiosas potenciales aumentará al ir acumulando la cuasiespecie mutaciones deletéreas. De esta forma, cuanto más mutaciones deletéreas acumule un individuo, más probable es que aparezca una mutación beneficiosa, claro que, como se verá, más adelante, el efecto *diamante en la basura*, predice que menos probable será que dicha mutación se imponga. Teniendo esto en cuenta, existe un problema adicional en el caso de la mutagénesis subletal, y es que el riesgo de la aparición de resistencia se extiende a otros fármacos además del mutágeno al que se está enfrentando el virus RNA lo que, como se verá a continuación, puede dar lugar a interacciones antagonistas entre fármacos.

Interacciones antagonistas entre fármacos

Otro ejemplo reciente de las consecuencias que pueden tener las dosis subletales de mutágenos es cambiar el resultado de la interacción con otros fármacos, por ejemplo, los inhibidores de la replicación (Iranzo et al., 2011). En este caso, para determinadas dosis de mutágeno e inhibidor se observa que su acción combinada es antagonista -el mutágeno disminuye el efecto del inhibidor-, en vez de sinérgica, debido, fundamentalmente, a la mayor probabilidad de aparición de mutantes resistentes al inhibidor a tasas de mutación subletales. Este fenómeno es uno de los primeros ejemplos que considera que una interacción entre fármacos puede estar mediada no por interacciones entre ambos a nivel químico o bioquímico, sino a un nivel evolutivo (Iranzo, *Comunicación Personal*). En principio, este mecanismo de interferencia entre mutágenos y otros fármacos debido a un incremento en la probabilidad de que surjan mutaciones de resistencia debería ser universal, aunque, por supuesto, el rango de parámetros en el que se manifestaría sería diferente en cada caso (Iranzo et al., 2011).

También existen indicios de que pueden existir mecanismos adicionales de interferencia entre fármacos. Por ejemplo, el tratamiento con un inhibidor como el cloruro de Guanidinio disminuye el efecto interferente de mutantes puntuales defectores cuando estos se transfectan junto a mutantes viables (Perales et al., 2009), aunque se desconocen las causas y mecanismos implicados en este fenómeno.

Fenómenos que contrarrestan los problemas de la mutagénesis letal. Limitaciones a la adaptabilidad

Los problemas planteados hasta ahora consideraban el efecto que la evolución puede tener a la hora de dificultar la acción de los fármacos mutágenos y, como tales, deberían ser tenidos en cuenta a la hora de investigar tanto los fármacos como las terapias antivirales basadas en la mutagénesis letal. Sin embargo, también existen mecanismos a través de los cuales la evolución puede contrarrestar, aunque sea parcialmente, los problemas planteados anteriormente. Dichos problemas surgían, esencialmente, del teórico aumento de adaptabilidad que podría causar el aumento (subletal o no) de la tasa de mutación. La adaptación es el resultado de la aparición e imposición en la población de mutaciones beneficiosas, es decir, que aumenten la eficacia biológica. Sin embargo, es posible considerar diferentes mecanismos por los que la adaptación puede verse dificultada en condiciones de mutagénesis letal.

Constricciones evolutivas

Por alta que sea la capacidad adaptativa de los virus RNA, en todos los virus existen constricciones evolutivas que pueden hacerles incapaces de desarrollar resistencias a un fármaco u otra terapia concreta. El caso de la vacuna contra la poliomielitis es paradigmático en este sentido, pero, desgraciadamente, casi sesenta años después de su desarrollo parece ser más la excepción que la regla.

Igualmente, por ejemplo, ocurre con los mutantes de fidelidad: mientras que en poliovirus surgen gracias a una única mutación en la polimerasa (por lo que aparecen con relativa facilidad), no se ha conseguido obtener mutantes de fidelidad en el virus de la fiebre aftosa, a pesar de que ambos virus pertenecen a la familia *Picornaviridae*. De hecho, el que dos grupos obtuviesen de forma independiente el mismo mutante de fidelidad de poliovirus (el mutante con la substitución *G64S* en la polimerasa) ha sido tomado como ejemplo de que las opciones para escapar a los fármacos mutágenos aumentando la fidelidad de la polimerasa pueden ser limitadas (Vignuzzi y Andino, 2010).

Tamaño poblacional

Al aumentar la tasa de mutación de un virus RNA, la población de dicho virus disminuye, debido al aumento del lastre mutacional. Por supuesto, la disminución de la población será mayor o menor dependiendo de cuánto aumente la tasa de mutación. La disminución de la población necesariamente va a disminuir la capacidad adaptativa de la población, puesto que disminuye la ocupación del espacio de secuencias. Además, un menor tamaño poblacional va a dificultar la imposición de las mutaciones beneficiosas que surjan y puede aumentar la fijación de mutaciones deletéreas por efectos de tamaño finito tipo trinquete de Müller (Cuevas et al., 2009).

Efecto *Diamante en la basura*

El efecto *diamante en la basura* (del inglés, *Ruby in the Rubbish*) (Peck, 1994) considera que la probabilidad de que una mutación beneficiosa de pequeño efecto se imponga en una población depende del contexto de mutaciones en la que surja. Así, por ejemplo, si una mutación beneficiosa surge en un individuo con varias mutaciones deletéreas la probabilidad de que dicha mutación se fije es menor. Precisamente esto es lo que se esperaría encontrar en un caso de mutagénesis subletal en el que la mayoría de las mutaciones beneficiosas surgirían en el contexto de genomas con una o más mutaciones deletéreas, impidiendo que se imponga en la población. Es decir, el efecto diamante en la basura puede disminuir considerablemente la adaptabilidad causada por la mutagénesis subletal, sea ésta causada por concentraciones subóptimas de fármaco o por la aparición de mutantes resistentes. De hecho, recientemente se ha observado que una historia de mutagénesis previa con ribavirina dificulta que se impongan los resistentes a cloruro de Guanidinio en el virus FMDV (Perales et al., 2011a), lo que podría suponer un ejemplo de este efecto.

Sin embargo, esta hipótesis no tiene en cuenta que, como se comentó anteriormente, la relación entre mutaciones deletéreas y beneficiosas depende crucialmente del grado de adaptación del individuo en dicho momento, es decir, de su posición relativa en el paisaje de eficacia biológica (Stich et al., 2010; Lalic et al., 2011), lo que podría alterar las conclusiones de la misma.

Interferencia clonal

La interferencia clonal es un fenómeno por el cual, en ausencia de recombinación o mecanismos sexuales, la competición entre dos o más mutaciones beneficiosas puede llevar a la pérdida de una por imposición de la otra, así como a que la mutación que finalmente se impone tarde más en hacerlo. En aquellos virus RNA que no presenten una gran tendencia a la recombinación, este fenómeno puede ser importante a la hora de minimizar el efecto de la mutagénesis subletal.

Mutagénesis subletal y defeción

El rango de tasas de mutación en el que el virus se encuentra en una situación de mutagénesis subletal estará situado, aproximadamente, entre el umbral de extinción y la tasa de mutación basal de dicho virus. Puesto que la defeción letal hace que el virus se extinga a menores tasas de mutación, en teoría debería reducir el rango de mutagénesis subletal. Es decir, si las tasas de mutación y el

efecto de las mutaciones son comparables, el riesgo de mutagénesis subletal será menor en los virus con mayor grado de interacción en *trans*. Hasta la fecha no se han obtenido diferencias significativas en la tasa de mutación, o en el efecto promedio de las mutaciones en la eficacia biológica, entre los virus ssRNA(+) y los virus ssRNA(-) (Holmes, 2009; Sanjuán et al., 2010). Sin embargo, sí parece claro que estos últimos virus tienen más tendencia a producir partículas defectivas interferentes, de donde es posible inferir que durante un proceso de mutagénesis la componente de defeción letal será mayor, lo que, al menos en teoría, podría disminuir el riesgo asociado a la mutagénesis subletal.

Posibles soluciones para maximizar el efecto de la mutagénesis letal

En la sección 13.2.1 de la discusión se han visto los tres principales problemas que se le plantean a la mutagénesis letal: la posible aparición de resistencias, la mutagénesis subletal y la interacción antagonista entre fármacos que, como se vio, no son ni mucho menos fenómenos independientes. Además de los fenómenos evolutivos que pueden contrarrestar, al menos en teoría, estos problemas, es posible proponer algunas posibles soluciones para que las terapias antivirales basadas en mutágenos traten de minimizarlos.

A la vista de los resultados de esta Tesis, estas soluciones podrían implementarse según dos posibles líneas. Por un lado, maximizar el efecto de la defeción, ya que ésta favorece la extinción por mutagénesis. Por otro lado, tratar de maximizar el efecto deletéreo de las mutaciones así como tratar de maximizar la proporción de mutaciones deletéreas que puede inducir el fármaco, ya que esto minimiza la posibilidad de que aparezcan y se impongan mutantes resistentes. A la luz de lo visto en los capítulos 8 y 9 de esta Tesis, ambas líneas podrían actuar de forma antagónica, puesto que un mayor efecto deletéreo de las mutaciones no complementables (o una mayor fracción de mutaciones letales) disminuye el efecto de la defeción. Debido a esto, cuál de las dos líneas debería tener más peso debería ser función de lo propenso que sea el virus a la defeción letal, lo que se discutió anteriormente en esta discusión.

Interacciones sinérgicas con fármacos mutágenos

Anteriormente se ha visto que Iranzo et al. (2011) presentaron un ejemplo de interacción antagonista entre fármacos debido a interacciones de tipo evolutivo. Esta idea permite plantear si es posible que ocurra lo contrario, es decir, si existen fármacos capaces de actuar sinérgicamente al combinarse con fármacos mutágenos debido a interacciones de tipo evolutivo. Por supuesto, esta pregunta puede extenderse a otras combinaciones de fármacos no mutagénicos, pero dada la temática de esta Tesis esta sección se limitará en el primer caso.

Teniendo en cuenta lo visto a lo largo de esta Tesis, un fármaco que aumentase el efecto de la defeción actuaría de forma sinérgica con un fármaco mutágeno. El efecto de la defeción depende de varios factores, siendo mayor cuanto:

- más interaccionan en *trans* los virus dentro de la célula,
- mayor es la ventaja selectiva en *cis* de los mutantes defectores respecto a los mutantes viables
- mayor sea el número de virus que interaccionan por célula,
- mayor sea el efecto deletéreo de las mutaciones complementables, y menor el efecto de las mutaciones no complementables.

Desde mediados de los años 70 se sabe que existen diferentes tratamientos que aumentan la proporción de *DIP* (*defective interfering particles*, partículas defectivas interferentes) que se producen

en poliovirus: las disminuciones de temperatura 150 minutos después de la infección (pero no la replicación a baja temperatura desde un principio, que disminuye la proporción de *DIP*), o el tratamiento con cicloheximida, un potente inhibidor de la síntesis de proteínas (Cole y Baltimore, 1973). Es decir, existen condiciones y tratamientos que aumentan la producción de *DIP* cuando coinfectan con su virus *helper*. Por supuesto, está por ver si esto es verdad para todo tipo de defector o sólo para las *DIP*, ya que las *DIP* suelen ser genomas con grandes deleciones, mientras que lo lógico es que la mayor parte de los defectores producidos durante la mutagénesis letal se deban a mutaciones puntuales. Sin embargo, dicho resultado al menos señala que quizás sea posible actuar farmacológicamente para aumentar la producción de defectivos, aunque, en realidad, a día de hoy parezca difícil imaginar cómo.

Anteriormente se ha comentado que el tratamiento con cloruro de Guanidinio reduce la interferencia ejercida por mutantes defectores puntuales (Perales et al., 2009). Esto sugiere que, en presencia de mutantes defectores, inhibir la replicación del RNA viral puede tener efectos contradictorios. Por supuesto, reducirá la carga viral, pero al inhibir la replicación de los defectores reduce su acción interferente y, por tanto, puede disminuir la acción de la defeción letal. Aunque este fenómeno no ha sido estudiado con más detalle, teóricamente, si un inhibidor de la replicación fuese capaz de inhibir preferentemente las funciones que pueden actuar en *trans* de la replicación frente a las funciones de la replicación que actúan exclusivamente en *cis* estaría dificultando la acción de aquellos defectores que necesiten replicarse en *trans*. Y viceversa, si un inhibidor de la replicación fuese capaz de inhibir preferentemente las funciones en *cis* frente a las funciones en *trans*, estaría favoreciendo la acción de la defeción letal.

En LCMV, se ha descrito una clase de partículas defectoras interferentes producidas por pequeñas deleciones que impiden su traducción, de forma que podrían adquirir una ventaja selectiva frente a los genomas que deben traducirse (Meyer y Southern, 1997). Por otro lado, anteriormente se ha señalado que en poliovirus, la inhibición tardía de la traducción celular favorece la producción de *DIP* (Cole y Baltimore, 1973), a pesar de que en picornavirus la replicación parece ser dependiente de funciones que actúan exclusivamente en *cis*. Estos resultados apuntan a qué, especialmente en virus de cadena negativa, los inhibidores de la traducción viral podrían actuar sinérgicamente con mutágenos aumentando la eficacia de la defeción letal. En este sentido es necesario remarcar que los virus presentan muchas veces, aunque no siempre, mecanismos alternativos de iniciación de la traducción (como los *IRES*), mecanismos para evitar la traducción de mRNAs celulares (el denominado *shut-off*), o mecanismos para “secuestrar” (*hijacking*) la traducción celular.

Todas estas posibilidades indican que quizás sea necesario intentar abordar el diseño de las terapias antivirales desde una perspectiva racional, buscando combinaciones de fármacos que tengan mayor probabilidad de actuar sinérgicamente. Sin embargo, a día de hoy las posibilidades de llevar a cabo este tipo de abordaje parecen, por el momento, seriamente limitadas.

Mutágenos óptimos

Otra posibilidad para aumentar la eficacia de la mutagénesis letal es tratando de aumentar el daño causado por los fármacos mutágenos. Esto implica tratar de aumentar la fracción de mutaciones deletéreas así como el coste medio de eficacia biológica de dichas mutaciones. Esta posibilidad tiene dos objetivos: minimizar el riesgo de la mutagénesis subletal y, a la vez, minimizar la posibilidad de que aparezca resistencias al mutágeno u a otros fármacos. Es en este sentido en el que se plantea la posibilidad de buscar mutágenos “óptimos” para cada virus, entendiendo por mutágeno óptimo aquel que maximiza el daño sobre el virus.

Existen diferentes características virales que pueden ser consideradas a la hora de maximizar el daño que un mutágeno causa en un virus RNA. Una primera opción sería aquel que maximizase la probabilidad de que aparezcan codones *STOP*, que darían lugar a mutantes seriamente dañados:

letales o defectivos. Una segunda opción sería maximizar el daño producido por el cambio de codones, es decir, intentar maximizar el número de mutaciones no sinónimas y que además produzcan grandes cambios en el tamaño y características químicas de los aminoácidos codificados.

Ahora bien, en principio podría dudarse de si este tipo de efectos serían lo suficientemente significativos como para que deban considerarse a la hora de seleccionar o diseñar un mutágeno. Existen algunos indicios de que el tipo de mutaciones que genere un mutágeno puede ser importante. En primer lugar, se sabe que la frecuencia de nucleótidos y dinucleótidos de un virus RNA está sujeta a evolución (Greenbaum et al., 2008), al igual que la distribución de codones (Pintó et al., 2007), lo que indica que modificar ambas características pueden tener consecuencias para la eficacia biológica del virus. Mucho más importante, se sabe que el tipo de transiciones que causa un mutágeno puede ser crucial a la hora de inducir la extinción o no del virus. Uno de los mecanismos de resistencia a mutágenos comentados anteriormente, la modulación del tipo de transiciones (Agudo et al., 2010), se basa precisamente en esto. En el trabajo que describe este fenómeno es posible observar que para una frecuencia de mutaciones similar, el tipo de transiciones inducidas por el mutágeno es lo que determina si el virus se extingue o no.

Por último, el carácter óptimo de un mutágeno podría destacarse delimitando el rango de actuación en el que se quiere que actúe de forma óptima. Por ejemplo, podrían buscarse mutágenos cuyo efecto sea especialmente deletéreo (proporcionalmente) a bajas tasas de mutación, con el objetivo de minimizar el riesgo de la mutagénesis subletal. O también podrían buscarse fármacos mutágenos que actuaran de forma óptima en regiones concretas del virus, por ejemplo en la polimerasa viral para minimizar el surgimiento de resistencias a inhibidores, o en regiones con alta tendencia a interactuar en *trans*, para maximizar la defeción.

También se puede intentar optimizar no ya la acción de un mutágeno concreto, sino de combinaciones de mutágenos. En vista de la posibilidad de que dos fármacos interactúen de forma antagónica o sinérgica debido a causas evolutivas, a la hora de diseñar posibles combinaciones habría que tener en cuenta, además de, obviamente, las posibles interacciones de tipo químico o farmacológico, las posibles interacciones genéticas y evolutivas. Es posible identificar al menos dos posibles interacciones de este tipo. En primer lugar, sería interesante estudiar *in silico* qué combinaciones de mutágenos podrían actuar de manera sinérgica o antagónica a nivel de cambios en el genoma. En segundo lugar, habría que intentar minimizar las resistencias cruzadas entre ellos. Es decir, tratar de evitar que una variante resistente a un primer mutágeno sea resistente a otro mutágeno, por ejemplo, utilizando mutágenos con estructuras químicas lo más diferentes posibles.

Incluso, en un futuro, si se llegasen a conocer con mayor precisión las bases moleculares que determinan la fidelidad de las RNA polimerasas virales, se podría llegar a intentar diseñar mutágenos estructuralmente antagónicos, de manera que la resistencia específica a uno de ellos aumentase la acción mutagénica del otro. Sin embargo, dado el conocimiento actual de dichos mecanismos moleculares y teniendo en cuenta que los determinantes de fidelidad no tienen por qué estar en las cercanías del centro activo, seguramente esta posibilidad sea bastante remota.

Mutágenos que desplazan el marco de lectura

Otra estrategia que puede utilizarse para maximizar la eficacia de la mutagénesis letal es el desarrollo de fármacos mutágenos que desplazan el marco de lectura (MDML, en inglés *frameshift mutagens*) específicos para dsRNA. Los MDML son mutágenos que introducen pequeñas deleciones o inserciones en el genoma desplazando el marco de lectura abierta (*open reading frame*) del RNA, de forma que las proteínas que se expresan son completamente aberrantes (Roth, 1974). Las mutaciones inducidas por los MDML dan lugar, por lo tanto, o bien a mutantes letales o bien a mutantes defectivos, dependiendo de si la lesión producida es complementable en *trans* o no. Es decir, los MDML son un tipo de mutágenos que producen, simultáneamente, genomas defectivos que favorecen la com-

ponente de defeción letal de la mutagénesis letal y genomas con mutaciones letales que, en teoría, disminuyen la acción de la misma.

Sin embargo, como se comentó anteriormente, es bastante probable que el hecho de que la letalidad disminuya la acción de la defeción letal se compense, en parte, con el efecto que tendría una mayor producción de mutantes letales frente a la producción de mutantes deletéreos que conserven su capacidad replicativa⁹. Sin embargo, los MDML presentan *a priori* otra serie de propiedades que pueden hacerles muy interesantes para el desarrollo de terapias antivirales basadas en mutagénesis letal.

Por supuesto, lo más probable es que la acción de este tipo de mutágenos no escape a la posible evolución de resistencias. Sin embargo, puesto que las mutaciones que desplazan el marco de lectura dan lugar mayoritariamente a mutantes letales o defectivos, es difícil que la adición de este tipo de mutágenos aumente la capacidad de generar resistencias. Es decir, la aparición de resistencias dependería exclusivamente de la tasa de mutación basal del virus RNA. De esta forma se minimiza, al menos en teoría, el problema que supone la posible interacción antagónica entre fármacos inhibidores y mutágenos debido a la sobreproducción de resistencias descrita por Iranzo et al. (Iranzo et al., 2011). Por otro lado, debido a la propia naturaleza de las mutaciones que producirían este tipo de fármacos, es muy probable que el riesgo de mutagénesis subletal se minimizase. En última instancia, ésta se basa en que concentraciones bajas de fármaco mutágeno, al aumentar sólo ligeramente la tasa de mutación del virus, podrían aumentar su adaptabilidad sin llegar a extinguirlo. Sin embargo, aunque una menor tasa de mutaciones letales o defectivas debido a concentraciones subóptimas de mutágenos podría no llegar a extinguir el virus, no parece probable que aumentase la adaptabilidad del mismo. Si se tienen en cuenta estos dos aspectos conjuntamente, se observa además que los mutágenos MDML podrían eliminar la retroalimentación que se establece entre mutagénesis subletal y aparición de resistencias a mutágenos.

Sin embargo, ni la adaptabilidad ni la aparición de resistencias pueden ser completamente descartadas ya que si las deleciones o inserciones ocurren sin alterar el marco de lectura (es decir, si, por azar, son múltiplos de tres nucleótidos) pueden contribuir a ambos fenómenos. De hecho, se conocen mutaciones de resistencia a fármacos mediadas por la deleción o inserción de uno o dos aminoácidos en la enzima RT de HIV (Menendez-Arias et al., 2006).

En general, muchos MDML son agentes intercalantes (Hoffmann y Fuchs, 1997). Los agentes intercalantes son compuestos químicos que se insertan entre los pares de bases de la doble hélice bien de DNA o de RNA. Ejemplos de agentes intercalantes son el bromuro de etidio, la acridina y sus derivados, etc. Debido a su acción intercalante en el DNA muchos de estos compuestos son extremadamente tóxicos o cancerígenos (Roth, 1974). Sin embargo, puesto que la doble hélice del dsRNA se encuentra en conformación A mientras que la doble hélice del dsDNA se presenta mayoritariamente en las células en forma B, quizás sea posible diseñar fármacos intercalantes que maximicen su afinidad por el dsRNA, característico de la infección viral.

Sin embargo, también existen otros MDML que no son agentes intercalantes, como por ejemplo la 2-hidroxiadenina, o isoguanina, que puede actuar sobre el DNA bien como un mutágeno tradicional, fundamentalmente dando lugar a transiciones $A \rightarrow G$, o bien produciendo una deleción $\Delta - 1$ gracias a un mecanismo tipo *loop-out* (Kamiya y Kasai, 1997) dependiendo del contexto de secuencia en el que se inserte.

Teniendo todo esto en cuenta, la investigación en MDML específicos para RNA puede ser una nueva vía interesante para desarrollar fármacos mutágenos antivirales.

⁹Actualmente el estudio de este efecto está siendo llevado a cabo por nuestro grupo.

*En efecto, la cosa no se reduce a su fin, sino que se halla en su desarrollo,
ni el resultado es el todo real, sino que lo es en unión con su devenir*

Capítulo 14

Conclusiones

A continuación se presentan las principales conclusiones del estudio realizado a lo largo de esta Tesis:

1. En el paisaje de eficacia biológica tipo *Single-Peak*, y similares, el umbral de error surge a consecuencia de la acción de la selección natural sobre las diferencias de robustez mutacional y capacidad replicativa de los fenotipos maestro y mutante. Por tanto, en este paisaje de eficacia biológica, la llamada *entrada en catástrofe de error* es equivalente a un fenómeno de *supervivencia del más robusto* en el seno de la cuasiespecie. En los modelos más simples de cuasiespecies, dicho fenómeno de supervivencia del más robusto más allá del umbral de error impide que la población se extinga por acumulación de mutaciones, contrariamente a la idea tradicional y generalizada, tal y como se expresa en virología. Aunque la existencia de una tasa de mutación máxima más allá de la cual un virus RNA se extingue sea un hecho comprobado y fuera de toda discusión, debería ser desligado de los fenómenos conocidos como “umbral de error” y “catástrofe de error”, independientemente del uso que quiera darse a dicha nomenclatura. Igualmente, es necesario reconsiderar si la idea de una “paradoja de Eigen” en el origen de los sistemas prebióticos puede basarse en el dichos conceptos.
2. La consideración de l “posiciones letales” en la secuencia disminuye el umbral de error en un paisaje *Single-Peak*, al disminuir la robustez mutacional del fenotipo mutante, e introduce la posibilidad de que la población se extinga más allá del umbral de error. La introducción de mutaciones letales en los modelos de cuasiespecies hace que aparezca lo que se ha denominado *letalidad crítica*, es decir, un valor máximo de letalidad más allá del cual desaparece el umbral de error. En ausencia de interacciones en *trans*, no se ha observado que la letalidad afecte al umbral de extinción más allá de la letalidad crítica. Sin embargo, investigaciones en curso del autor indican que esto se debe a la simplicidad de los modelos utilizados (posiblemente, a suponer la ausencia de *back-mutation*) y que, en modelos más complejos, la consideración de letalidad hace que la población se extinga a menores tasas de mutación.
3. Aplicando conceptos derivados de la teoría de juegos evolutiva se ha observado que la consideración de interacciones en *trans* en el seno de la cuasiespecie hace que aparezcan fenómenos de complementación y defección que alteran la interacción entre selección y mutación que da lugar a la cuasiespecie. La defección disminuye las diferencias de eficacias biológicas entre los fenotipos que componen la cuasiespecie, disminuyendo la presión de selección, lo que aumenta el efecto deletéreo de las mutaciones. Esto implica que la defección aumenta la ya de por sí alta diversidad genética de las cuasiespecies y que disminuye la eficacia biológica absoluta de la población, es decir, aumenta su llamado *lastre mutacional*. Si se considera que las interacciones en el seno de la cuasiespecie no dependen de la densidad poblacional, estos efectos de la

defección aumentan el umbral de extinción, disminuyendo la tasa de mutación necesaria para que la población se extinga. Para este mecanismo de extinción se propone el término *defección letal por alteración del equilibrio selección-mutación*, para distinguirlo de otros mecanismos de extinción por acción de defectores como la extinción estocástica o inducida por ruido (Iranzo y Manrubia, 2009). En presencia de interacciones en *trans*, la consideración de mutaciones letales en el fenotipo mutante-defector aumenta la tasa de mutación necesaria para extinguir a la población, al disminuir la capacidad interferente de dicho fenotipo.

4. Una descripción completa de la defección letal por alteración del equilibrio selección-mutación tiene que tener en cuenta dos componentes fundamentales:
 - Por un lado, las interacciones en *trans* entre fenotipos defectores y viables cuando ambos forman un nuevo grupo de interacción (o, en el caso de los virus RNA, infectan una nueva célula). Esta componente es claramente dependiente de densidad poblacional, de manera que al disminuir el tamaño de la misma se atenúa su contribución a la extinción. En último término, de sólo actuar esta componente, el umbral de extinción no dependería de la presencia de interacciones en *trans*.
 - Por otro lado, existe una segunda componente de la defección letal que depende del efecto interferente que ejercen los mutantes defectores producidos durante el proceso de replicación dentro del grupo sobre los individuos viables producidos en ese mismo proceso. Esta componente no se ve atenuada al disminuir el tamaño poblacional por lo que, cuando se tiene en consideración, se observa que la defección aumenta el umbral de extinción. Es decir, las interacciones en *trans* y la defección favorecen la extinción de las cuasiespecies por mutagénesis letal.
5. Los resultados obtenidos y las conclusiones a las que han llevado, deben permitir una mejor comprensión de la mutagénesis letal en virus RNA. Ello dependerá de que, en el futuro, puedan plantearse experimentos que confirmen y validen la extrapolación de los modelos mínimos a los virus RNA presentada en la discusión. De ser así, los resultados de esta Tesis podrían contribuir a caracterizar qué virus o familias de virus RNA podrían ser más susceptibles, *a priori*, a tratamientos basados en fármacos mutágenos.

Apéndice A

El modelo de cuasiespecies

Como se ha comentado en la sección 1.1.3. de la introducción, el modelo de cuasiespecies fue desarrollado por Eigen (1971) para estudiar el origen de la información genética en poblaciones de especies prebióticas con capacidad autorreplicativa. El modelo de cuasiespecies trata de representar la evolución de este tipo de especies suponiendo que se están replicando en un reactor de flujo como el que muestra la figura A.1. Para ello tiene en cuenta una serie de reacciones químicas fundamentales que se detallan a continuación.

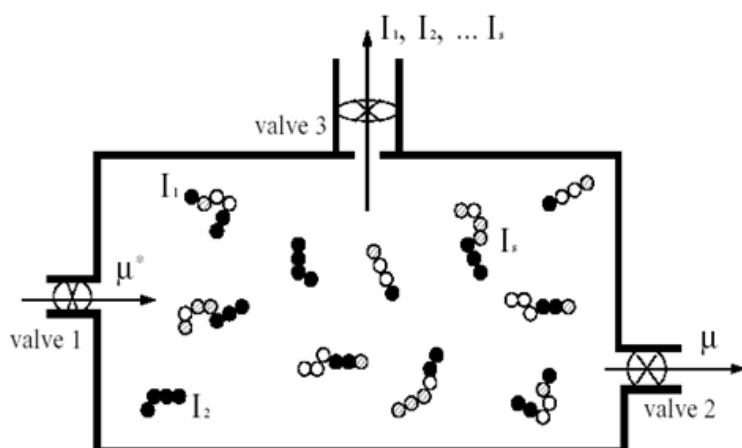


Figura A.1: Representación gráfica del modelo clásico de cuasiespecies en un reactor de flujo. Las moléculas I_i son representadas por polímeros de diversa longitud y composición. Existe un flujo de entrada de monómeros activados μ^* , un flujo de salida de monómeros desactivados μ , y un flujo de salida de especies autorreplicantes, que se ajusta en función de la restricción aplicada al crecimiento. (Tomada de (Küppers, 1983))

En primer lugar las especies poliméricas pueden replicarse mediante un mecanismo *template*. Este proceso, en realidad mucho más complejo, puede representarse de una manera simplificada mediante la reacción bimolecular:



Donde μ_a representa los monómeros energéticamente activados necesarios para la formación de la nueva especie autorreplicativa, I_i es la especie que actúa como molde para la replicación e I_j la especie producida por replicación, errónea o no, de I_i . La constante A_i es el llamado factor de amplificación de la copia i , y es la constante cinética del proceso de replicación. Por supuesto, el proceso

de replicación no tiene por qué ocurrir de forma exacta, pudiéndose producir mutaciones durante el proceso. Esta posibilidad viene determinada por el factor Q_{ji} , que determina la probabilidad de obtener la especie j a partir de la especie i . Si no se produce ninguna mutación, la especie j es la misma que la especie i y la reacción puede expresarse de la siguiente forma:



La tercera reacción es la degradación de la especie autorreplicante I_i , que viene determinada por el factor de degradación D_i :



Donde μ_d son los monómeros energéticamente desactivados. Además de estas reacciones, existe un flujo de salida de moléculas I_k del reactor, ϕ_0 , a través de la válvula 3, y un flujo de entrada de monómeros activados en el reactor a través de la válvula 1, a partir de los cuales uno puede controlar las condiciones del reactor. Sin embargo, las tres reacciones de replicación con y sin mutación, y degradación pueden considerarse las fundamentales del modelo de cuasiespecies que, por tanto, pueden expresarse en el siguiente sistema general de ecuaciones diferenciales ordinarias:

$$\frac{dx_i}{dt} = \mu_a \sum_j A_j Q_{ij} x_j - D_i x_i \quad (\text{A.4})$$

que habitualmente también se expresa de esta otra forma, sustituyendo el término Q_{ii} por Q_i , que se denomina *factor de calidad por secuencia*:

$$\frac{dx_i}{dt} = (\mu_a A_i Q_i - D_i) x_i + \mu_a \sum_{j \neq i} A_j Q_{ij} x_j \quad (\text{A.5})$$

recibiendo el primer factor del lado derecho de la ecuación diferencial el término de *valor selectivo* de la copia en cuestión, al que se le representa por la letra W_i :

$$W_i = A_i Q_i - D_i \quad (\text{A.6})$$

En general, suponiendo que los factores de amplificación son mayores que los factores de degradación, y siempre que se le suministre monómero activado, este sistema crece indefinidamente hasta el infinito con una cinética exponencial o *malthusiana*. Para reproducir el comportamiento de un sistema real es necesario establecer algún tipo de restricción al crecimiento de la población. Las tres restricciones más utilizadas son, a) suponer que la concentración de las especies autorreplicativas dentro del reactor es constante, b) suponer la entrada de un flujo constante de monómero activado en el reactor de flujo y c) suponer que la suma de las concentraciones de las especies autorreplicativas más las concentraciones de monómero activado y desactivado es constante y, además, que existe una fuente de energía externa que convierte el monómero inactivo en monómero energéticamente activado. Sin duda, la más común de todas ellas es la primera, llamada de población u organización constante ya que matemáticamente es más fácil de analizar. A continuación se presentará el modelo de cuasiespecies suponiendo la restricción de población constante.

A.1. Modelo de cuasiespecies con población constante

Al aplicar esta restricción, se está suponiendo que la suma de las concentraciones de todas las especies autorreplicativas es igual a N :

$$\sum_i x_i = N \quad (\text{A.7})$$

Para que la suma de las concentraciones de todas las especies en el reactor sea constante, el flujo de salida debe encargarse de eliminar todas las especies que se produzcan en exceso. Este flujo de salida, que puede expresarse en forma de reacción química de la forma:



se introduce en el sistema de EDO A.5 obteniéndose:

$$\frac{dx_i}{dt} = (\mu_a A_i Q_i - D_i) x_i + \mu_a \sum_{j \neq i} A_j Q_{ij} x_j - \phi_0 x_i \quad (\text{A.9})$$

Al aplicar la condición de restricción constante es común suponer que la concentración de monómero activado dentro del reactor es bastante superior a la de las concentraciones de especies autorreplicantes y que, además, puede mantenerse tamponada mediante los flujos de entrada y salida. De esta forma puede considerarse aproximadamente constante e introducirse dentro de los factores de amplificación como si estos fuesen constantes de una reacción química de pseudo-primer orden. Teniendo esto en cuenta, el sistema de EDO A.9 se reduce a:

$$\frac{dx_i}{dt} = (A_i Q_i - D_i) x_i + \sum_{j \neq i} A_j Q_{ij} x_j - \phi_0 x_i \quad (\text{A.10})$$

La condición de población constante $\sum_i x_i = N$ implica que $\frac{d \sum_i x_i}{dt} = \sum_i \frac{dx_i}{dt} = 0$. Operando sobre el sistema de EDO A.9 es sencillo obtener el valor que tiene que adoptar el flujo de salida del reactor

$$\phi_0 = \frac{\sum_i (A_i - D_i) x_i}{\sum_i x_i}$$

Que se corresponde con la llamada productividad media del sistema, \bar{E} , de forma que el sistema de EDO resultante sería, introduciendo el término del valor selectivo, A.6:

$$\frac{dx_i}{dt} = (W_i - \bar{E}) x_i + \sum_{j \neq i} A_j Q_{ij} x_j \quad (\text{A.11})$$

El sistema de ecuaciones diferenciales A.11 puede ser linealizado según se muestra en (Schuster y Stadler, 2008) y posteriormente transformado en un problema de autovalores y autovectores de la forma:

$$W \lambda = \lambda v \quad (\text{A.12})$$

La matriz W viene definida por $W = QA - D$, donde las matrices A y D son matrices diagonales cuyos elementos son los factores de amplificación, A_i , y degradación, D_i , de las diferentes especies I_i . Por su parte, la matriz Q es la matriz de probabilidades de mutación, cuyos elementos determinan la probabilidad de obtener a la especie i a partir de la especie j . El autovalor principal del sistema, λ , es la eficacia biológica promedio de la población en el estado estacionario, y su autovector derecho asociado ν es la distribución de población en dicho estado estacionario. Es precisamente esta distribución de poblaciones en el estado estacionario lo que recibe el nombre de cuasiespecies. Como se ha mostrado recientemente (Wilke, 2005), la cuasiespecie no es más que lo que en genética de poblaciones se denomina equilibrio de selección-mutación (ver 1.1.3 para una discusión más detallada).

A.1.1. Clasificación según distancias de Hamming

En general, los modelos de cuasiespecies suelen considerar como especies autorreplicativas cadenas binarias, es decir, secuencias de unos y ceros. Si se considera que todas las posiciones de la secuencia tienen la misma tasa de mutación, lo que es una simplificación de lo que ocurre en realidad puesto que la tasa de mutación puede estar influida por el contexto de secuencia, es posible definir un factor de calidad por dígito promedio, q , de forma que la probabilidad de que una secuencia i se forme por mutación a partir de una secuencia j viene determinada por:

$$Q_{ij} = q^{\nu - H(i,j)} (1 - q)^{H(i,j)} \quad (\text{A.13})$$

Donde $H(i, j)$ es la distancia de Hamming entre las secuencias i y j , es decir el número de posiciones distintas de ambas secuencias. Al tener un alfabeto compuesto por dos únicos dígitos, 0 y 1, el número de secuencias posibles de longitud ν es 2^ν , que se hace inmanejable incluso para longitudes de secuencia relativamente pequeñas. Una de las soluciones más habituales es clasificar las secuencias en función de su distancia de Hamming $H(i, j)$ respecto a la secuencia con mayor factor de amplificación, la secuencia maestra, en las llamadas clases de Hamming o clases de error. Así, las 2^ν posibles secuencias binarias de longitud ν pueden clasificarse en $\nu + 1$ clases de Hamming, H_i . De esta forma y siguiendo a Nowak y Schuster (1989) la probabilidad de producir una secuencia de la clase de Hamming H_k a partir de una secuencia de la clase de Hamming H_l viene determinada por:

$$Q_{kl} = \sum_{i=l-\nu+k}^{\min(k,l)} \binom{k}{i} \binom{\nu-k}{l-i} q^\nu \left(\frac{1-q}{q}\right)^{k+l-2i} \quad (\text{A.14})$$

La clasificación según clases de Hamming no es homogénea sino que el número de secuencias por clase de Hamming viene definido por el número combinatorio:

$$n_{seq}(H_i) = \binom{\nu}{i} \quad (\text{A.15})$$

La distribución de individuos por clases de Hamming se observa en la figura A.2, donde se aprecia que ésta alcanza un máximo para $i = \frac{\nu}{2}$.

A.1.2. Modelo simplificado en el paisaje tipo *Single-Peak*

Un paisaje de eficacia biológica especialmente sencillo y habitualmente estudiado en la literatura de cuasiespecies es el llamado *Single-Peak*, o paisaje de un único pico. Este paisaje está formado únicamente por dos fenotipos: el maestro (m) y el mutante (k), con diferentes factores de amplificación

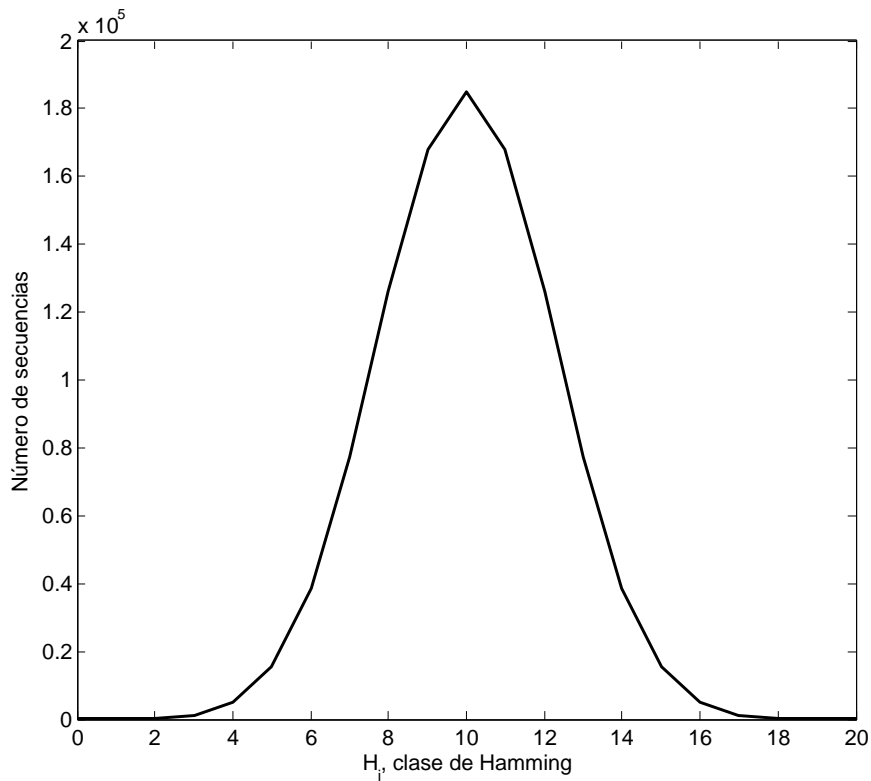


Figura A.2: Distribución del número de secuencias en función de la clase de Hamming para $\nu = 20$. En la figura se observa que el máximo número de secuencias se alcanza a $H_i = \frac{\nu}{2} = 10$. Cuando la población entra en catástrofe de error, la distribución uniforme de secuencias, al ser expresada en clases de Hamming adopta esta forma.

A_m y A_k , respectivamente. El fenotipo maestro está formado exclusivamente por aquella secuencia que tiene mayor eficacia biológica. El fenotipo mutante está formado por el resto de secuencias que conforman el espacio de secuencias. Por esto motivo, la probabilidad de que se produzca la secuencia maestra por mutación a partir de una secuencia cualquiera del fenotipo mutante es muy baja, siendo posible desestimarla, es decir se considera que no hay *back-mutation* del fenotipo mutante al fenotipo maestro. Esto quiere decir que el fenotipo maestro tiene un factor de calidad Q_m mientras que el fenotipo mutante tiene un factor de calidad $Q_k = 1$. También es bastante habitual y útil considerar que el factor de degradación de ambos fenotipos es el mismo $D_m = D_k = D$, ya que en este caso, las diferencias reproductivas sólo dependen de la diferencia entre los factores de amplificación, A_i .

El sistema general de EDO que define el modelo de cuasiespecies para el paisaje de eficacia biológica *Single-Peak* viene definido por:

$$\begin{aligned} \frac{dx_m}{dt} &= A_m Q_m x_m - D x_m - \phi_0 x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= A_m (1 - Q_m) x_m + A_k x_k - D x_k - \phi_0 x_k \end{aligned} \quad (\text{A.16})$$

Particularizando para el caso concreto en el que la concentración de especies autorreplicantes es constante, el flujo de salida del reactor (ϕ_0), igual a la productividad media del sistema, \bar{E} , viene definido por:

$$\phi_0 = \bar{E} = \frac{(A_m - D)x_m + (A_k - D)x_k}{x_m + x_k} = \bar{A} - D \quad (\text{A.17})$$

Este sistema de ecuaciones presenta dos estados estacionarios. En el primero están presentes ambos fenotipos y es la distribución de población que se denomina *cuasiespecie*. Este estado estacionario viene definido por:

$$\begin{aligned} x_m &= N \frac{A_m Q_m}{A_m - A_k} \\ x_k &= N \frac{A_m(1 - Q_m)}{A_m - A_k} \end{aligned} \quad (\text{A.18})$$

El otro estado estacionario viene definido por:

$$\begin{aligned} x_m &= 0 \\ x_k &= N \end{aligned} \quad (\text{A.19})$$

Es decir, sólo está presente el fenotipo mutante, o cola de error, de la cuasiespecie. A partir de un análisis de estabilidad de los estados estacionarios puede mostrarse que el primer estado estacionario es asintóticamente estable cuando $Q_m > \frac{A_k}{A_m}$ mientras que el segundo estado estacionario sólo es asintóticamente estable cuando $Q_m < \frac{A_k}{A_m}$. De esta forma puede establecerse un valor umbral para el factor de calidad que determina si la población presenta una u otra distribución. Este valor recibe el nombre de *umbral de error* de la población:

$$Q_c = \frac{A_k}{A_m} = \frac{1}{\sigma} \quad (\text{A.20})$$

donde $\sigma = \frac{A_m}{A_k}$ recibe el nombre de superioridad del fenotipo maestro sobre el mutante. Puesto que el segundo estado estacionario sólo es estable a altas tasas de mutación e implica la desaparición del fenotipo maestro y la presencia exclusiva de la llamada cola de error, suele recibir el nombre de *catástrofe de error* (ver sección 1.1.4 de la Introducción).

Una manera muy habitual de medir el efecto de las mutaciones sobre una población es a través del *lastre mutacional*. Los llamados *lastres genéticos* representan la diferencia normalizada entre una la eficacia biológica promedio de una población, y dicha propiedad en una situación idealizada en la que uno o más mecanismos genéticos están ausentes. El lastre mutacional es el lastre genético cuando el mecanismo genético considerado es la mutación. Es decir, es la diferencia entre la eficacia biológica media que tendría una población si la mutación no actuase, es decir, la eficacia biológica del mejor fenotipo presente en dicha población W_0 , y la que presenta población en presencia de mutación, \bar{W} .

$$L = \frac{W_0 - \bar{W}}{W_0} \quad (\text{A.21})$$

Como se está considerando que la tasa de degradación D es la misma para los dos fenotipos, en el modelo de cuasiespecies clásico con paisaje *Single-peak* es más útil definir el lastre mutacional respecto al factor de amplificación según:

$$L_A = \frac{A_0 - \bar{A}}{A_0} \quad (\text{A.22})$$

Antes del umbral de error ($Q_m > Q_c$), el valor del lastre mutacional es:

$$L_A = 1 - Q_m \quad (\text{A.23})$$

Pero más allá del umbral de error es:

$$L_A = 1 - \frac{A_k}{A_m} = 1 - \frac{1}{\sigma} \quad (\text{A.24})$$

A.2. Modelo de cuasiespecies con población variable

Como se ha comentado en la introducción, el modelo de cuasiespecies se ha estudiado principalmente considerando la restricción de población constante. Es obvio que en este contexto la extinción, es decir, la desaparición de la población, no está permitida por definición. El estudio de la extinción de una cuasiespecie necesita, por tanto, que se consideren otro tipo de restricciones, en particular aquellas que permitan variaciones en la población de especies autorreplicativas. Como se comentó anteriormente, dos son las restricciones más utilizadas en este sentido: a) considerar que la población se replica en un reactor de flujo en el cual hay un flujo de entrada constante de monómeros energéticamente activados, y b) considerar que la suma de las concentraciones de los monómeros activados, desactivados y las especies autorreplicativas es constante, existiendo además un proceso de activación de los monómeros independiente de la replicación. A lo largo de esta Tesis se ha optado por utilizar esta última restricción para el estudio del modelo de cuasiespecies en condiciones que permitan la extinción. El modelo considera las siguientes reacciones. En primer lugar las reacciones de replicación sin y con mutación:



La degradación de las especies I_i , da como resultado la producción de monómeros energéticamente desactivados, con una tasas de degradación D_i



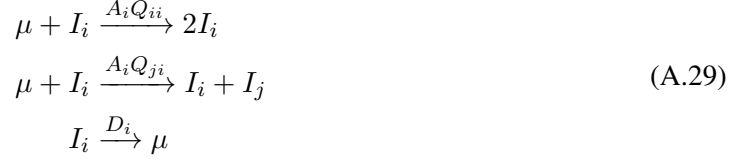
Donde μ_d representa el estado energéticamente inactivo del monómero μ . Los monómeros inactivos dan lugar a monómeros activados gracias a una aportación constante de energía externa, con una tasa k_{act} .



Finalmente, los monómeros activados pueden desactivarse espontáneamente, según una constante k_{des} para dar lugar a los monómeros inactivos.



Para simplificar el sistema es posible considerar que la activación del monómero es mucho más rápida que su desactivación espontánea, es decir que $k_{act} \gg k_{des}$, en cuyo caso, asumiendo una hipótesis de estado cuasiestacionario, es posible reducir el sistema a las siguientes reacciones:



El sistema de ecuaciones diferenciales general resultante es:

$$\begin{aligned} \frac{dx_i}{dt} &= \mu \sum_j A_j Q_{ij} x_j - D_i x_i \\ \frac{d\mu}{dt} &= \sum_i D_i x_i - \mu \sum_i A_i x_i \end{aligned} \quad (\text{A.30})$$

Donde μ es la concentración de monómero activado y x_i la concentración de las diferentes especies autorreplicantes. En este caso, se impone la restricción $\mu + \sum_i x_i = N$, es decir, que la concentración de moléculas autorreplicativas más la concentración de monómero es constante. Utilizando esta restricción es posible reducir la dimensión del sistema ya que, en todo momento, $\mu = N - \sum_i x_i$. De esta forma el sistema de ecuaciones diferenciales resultante queda:

$$\frac{dx_i}{dt} = (N - \sum_i x_i) \sum_j A_j Q_{ij} x_j - D_i x_i \quad (\text{A.31})$$

Que tiene la forma de una ecuación de tipo *logístico*.

A lo largo de esta sección, se utilizará, al igual que en la sección anterior, como paisaje de eficacia biológica el denominado paisaje *Single-Peak*. Aplicando este paisaje y suponiendo que el factor de degradación, D , es el mismo para ambos fenotipos, el sistema general de ecuaciones diferenciales ordinarias viene definido por:

$$\begin{aligned} \frac{dx_m}{dt} &= (N - x_m - x_k) A_m Q_m x_m - D x_m \\ \frac{dx_k}{dt} &= (N - x_m - x_k) [A_m (1 - Q_m) x_m + A_k x_k] - D x_k \end{aligned} \quad (\text{A.32})$$

Los resultados obtenidos al hallar los estados estacionarios del sistema de ecuaciones diferenciales A.32 vienen resumidos en la tabla A.1.

El modelo presenta tres estados estacionarios. El primero es el equilibrio de selección-mutación o cuasiespecie en el que están presentes ambos fenotipos. En segundo lugar, la llamada catástrofe de error, en la que sólo está presente el fenotipo mutante y, por último, la extinción de la población, en la que, obviamente, no existe ninguna especie con capacidad autorreplicativa. Comparando los resultados con los obtenidos en el modelo de cuasiespecies bajo condiciones de población constante se observa que, exceptuando lógicamente el estado estacionario de extinción, los estados estacionarios de cuasiespecie y catástrofe de error son equivalentes en ambos casos. De hecho, las fracciones molares son las mismas. Esto es una prueba de que, tal y como han señalado otros autores anteriormente (Bull et al., 2007), es posible hasta cierto punto desacoplar la dinámica genético-evolutiva, que depende de

Estado Estacionario	Propiedades	
Estado estacionario I. Coexistencia. Equilibrio selección-mutación (Cuasiespecies)	Población	$x_m = \frac{(A_m Q_m - A_k)(A_m Q_m N - D)}{A_m Q_m (A_m - A_k)}$ $x_k = \frac{(1 - Q_m)(A_m Q_m N - D)}{Q_m (A_m - A_k)}$
	Fracción poblacional	$y_m = 0$ $y_k = 1$
	Estabilidad	$A_m Q_m N > D$ $A_m Q_m > A_k$
	Lastre mutacional	$L = 1 - Q_m$
Estado estacionario II. Sólo fenotipo mutante (Catástrofe de error)	Población	$x_m = 0$ $x_k = N$
	Fracción poblacional	$y_m = \frac{(A_m Q_m - A_k)}{(A_m - A_k)}$ $y_k = \frac{A_m (1 - Q_m)}{(A_m - A_k)}$
	Estabilidad	$A_k N > D$ $A_m Q_m < A_k$
	Lastre mutacional	$L_A = 1 - \frac{A_k}{A_m}$
Estado estacionario III. Extinción	Población	$x_m = 0$ $x_k = 0$
	Estabilidad	$A_k N < D$ $A_m Q_m N < D$
	Lastre mutacional	$L_A = 1$

Tabla A.1: Resumen de los resultados para el modelo de cuasiespecies en condiciones de población variable Los valores se han obtenido hallando la solución de estado estacionario del sistema A.32. La fila llamada “Estabilidad” muestra las condiciones necesarias para que dicho estado estacionario sea asintóticamente estable. Las condiciones se han hallado sustituyendo los valores del estado estacionario en el Jacobiano que se obtiene a partir del sistema A.32

las eficacias biológicas relativas, de la dinámica demográfica, que depende de las eficacias biológicas absolutas¹. En este caso, la dinámica genética determinada por la acción simultánea de la selección y la mutación es exactamente la misma que en el caso en el que se considera población constante. Ahora bien, al haber considerado la restricción de tipo logístico, a esa dinámica genética se suma una dinámica demográfica de la población. Esta dinámica demográfica, que depende obviamente de la composición genética de la población, es la que determina el tamaño poblacional y, eventualmente, si la población se extingue.

De hecho, valor de las concentraciones de ambos fenotipos puede descomponerse de la siguiente forma:

$$\begin{aligned} x_m &= \frac{(A_m Q_m - A_k)(A_m Q_m N - D)}{A_m Q_m (A_m - A_k)} = y_m \left(N - \frac{D}{A_m Q_m} \right) = y_m (N - \mu^{SS}) \\ x_k &= \frac{(1 - Q_m)(A_m Q_m N - D)}{Q_m (A_m - A_k)} = y_k \left(N - \frac{D}{A_m Q_m} \right) = y_k (N - \mu^{SS}) \end{aligned} \quad (\text{A.33})$$

A.2.1. Estabilidad genética y estabilidad demográfica

La distinción entre dinámica evolutiva y dinámica demográfica puede trasladarse a las condiciones que se derivan del análisis de estabilidad de los estados estacionarios. En el caso en el que la población se considera constante, la estabilidad de los estados estacionarios I y II depende de una única condición, que es la que determina el umbral de error de la población. Por el contrario, en este caso, junto a dicha condición, aparece una nueva condición adicional para cada estado estacionario. Esta condición adicional surge de la consideración de la dinámica demográfica de la población y simplemente expresa si dicha la población es viable² cuando tiene esa composición genética.

Teniendo esto en cuenta es posible considerar dos tipos de condiciones de estabilidad. Por un lado, una *estabilidad genética*, que determina en qué condiciones se va a encontrar una u otra distribución poblacional. En este caso, al igual que en el caso en el que se consideraba población constante, la estabilidad de una u otra composición genética depende si el factor de calidad por secuencia Q_m es mayor o menor que el umbral de error, Q_c , que a su vez depende de la relación entre las eficacias biológicas efectivas de los fenotipos maestro y mutante:

$$Q_c = \frac{A_k}{A_m} = \frac{1}{\sigma} \quad (\text{A.34})$$

donde $\sigma = \frac{A_m}{A_k}$ es la llamada superioridad del fenotipo maestro sobre el fenotipo mutante.

Por otro lado, existe una *estabilidad demográfica* que da cuenta de la viabilidad demográfica de una determinada distribución poblacional. En el caso del estado estacionario I esa condición es $A_m Q_m N > D$ y en el caso del estado estacionario II, la condición es $A_k N > D$. En este punto es interesante considerar la eficacia biológica absoluta del fenotipo i :

$$R_i = \frac{A_i}{D_i} \quad (\text{A.35})$$

¹Esto es interesante ya que, en determinadas ocasiones, se pueden derivar resultados al ámbito demográfico, como el umbral de extinción, simplemente estudiando la dinámica genético-evolutiva y extrapolando. Por supuesto, esto es posible siempre y cuando las eficacias biológicas no dependan de condiciones demográficas como la densidad de población.

²Es decir, si es capaz de mantenerse en el tiempo reproduciéndose por sí misma.

que es equivalente al producto de la fecundidad (proporcional a A_i) y la supervivencia (proporcional a $\frac{1}{D_i}$). En este modelo, la eficacia biológica absoluta es equivalente a la *relación básica reproductiva* de otros modelos (Bull et al., 2007). Teniendo esto en cuenta las condiciones de estabilidad demográfica de los estados estacionarios I y II pueden expresarse como $R_m Q_m N > 1$ y $R_k N > 1$, respectivamente.

A partir de estas condiciones de estabilidad demográfica es posible obtener un umbral de extinción para la tasa de mutación en el estado estacionario I, pero no para el estado estacionario II, cuya productividad media no depende la tasa de mutación. Este umbral de extinción viene definido por:

$$Q_{ex} = \frac{D}{A_m N} = \frac{1}{R_m N} \quad (\text{A.36})$$

y es totalmente equivalente al obtenido por Bull et al. (2007), puesto que, en ausencia de *back-mutation*, antes del umbral de error el lastre mutacional sólo depende de la tasa de mutación y no del coste de las mutaciones (Kimura y Maruyama, 1966). El umbral de extinción A.36 puede expresarse también como un lastre mutacional máximo L_{ex} que puede tolerar una población, más allá del cual la población se extingue. Este lastre mutacional vendría definido por:

$$L_{ex} = 1 - \frac{1}{R_m N} \quad (\text{A.37})$$

Es fácil ver que, en ambos estados estacionarios, la estabilidad demográfica depende de la eficacia biológica absoluta promedio de la población, y más concretamente de la relación entre el factor de amplificación medio de la población en el estado estacionario, \bar{A} , la concentración total de moléculas en el reactor, N , y el factor de degradación D . De hecho, ambas condiciones son expresiones particulares de la condición general de estabilidad demográfica que sería:

$$\bar{A}N > D \quad (\text{A.38})$$

Al igual que en los casos particulares de los estados estacionarios I y II, la condición de extinción A.38 puede expresarse en función de la eficacia biológica absoluta:

$$\bar{R}N < 1 \quad (\text{A.39})$$

donde $\bar{R} = \frac{\bar{A}}{D}$

A.2.2. Umbral de extinción y umbral de error en el paisaje *Single-peak*

¿Qué es lo que ocurre, por tanto, cuando se aumenta la tasa de error en el modelo de cuasiespecies en un paisaje tipo *Single-Peak* cuando la población de especies autorreplicativas no es constante? La respuesta depende de la relación entre el umbral de error, ecu. A.34, y el umbral de extinción definido por el estado estacionario I, ecu. A.36. Si el umbral de extinción es mayor que el umbral de error, la cuasiespecie se extinguirá antes de que el fenotipo mutante se imponga al fenotipo maestro. Si, por el contrario, el umbral de error es mayor que el umbral de extinción, el fenotipo mutante desplazará al fenotipo maestro antes de que la cuasiespecie se extinga. Esta condición crítica puede expresarse como:

$$Q_{ex} = Q_c \quad (\text{A.40})$$

Que sustituyendo por las expresiones A.34 y A.36 puede expresarse como:

$$R_m N = \sigma \quad (\text{A.41})$$

Teniendo en cuenta que $\sigma = \frac{A_m}{A_k} = \frac{R_m}{R_k}$, la expresión A.41 se transforma en:

$$R_k N = 1 \quad (\text{A.42})$$

Que es precisamente la condición de estabilidad demográfica del fenotipo mutante. Es decir, si el fenotipo mutante es demográficamente estable, el umbral de error será mayor que el umbral de extinción y, por tanto, el fenotipo mutante podrá imponerse al fenotipo maestro antes de que la población se extinga. Puesto que en el paisaje *Single-Peak*, la eficacia biológica promedio más allá del umbral de error no depende de la tasa de mutación, esto implica que la población no puede extinguirse por mucho que se siga aumentando la tasa de mutación. Sin embargo, si el fenotipo mutante no es demográficamente estable, el umbral de extinción será superior que el umbral de error, y la población se extinguirá antes de que el fenotipo maestro sea desplazado por el fenotipo mutante. Es posible demostrar que esta dependencia con la viabilidad del fenotipo mutante también se produce cuando ambos fenotipos tienen factores de degradación diferentes.

Esto muestra es que, en un paisaje *Single-Peak* “puro”, extinción y catástrofe de error son mutuamente excluyentes, tal y como habían sugerido Bull et al. (2005, 2007).

Apéndice B

Teoría de juegos evolutiva y definición de defectores

En este apéndice se presentarán algunas de las ideas más importantes de la Teoría de Juegos Evolutiva (TJE) en relación con lo estudiado a lo largo de esta Tesis. No pretende ser, por tanto, una presentación exhaustiva de las aplicaciones de la teoría de juegos al estudio de la evolución biológica. En la primera sección se presentará la ecuación central de la rama de la TJE que estudia la dinámica de las poblaciones biológicas: la llamada *ecuación del replicador*, así como los posibles juegos concretos que pueden definirse para el caso particular de juegos con dos jugadores y dos estrategias (juegos 2x2). En la segunda sección se ha tratado de obtener una definición de lo que se entiende por defección en función de los valores que adoptan los pagos del sistema, tanto en juegos 2x2 como en juegos de n jugadores. Finalmente, en la tercera sección se muestra que es posible obtener una ecuación del replicador homogénea cuyos estados estacionarios son iguales, en condiciones de población constante, a los estados estacionarios de una ecuación diferencial de tipo replicador inhomogéneo, como las utilizadas a lo largo de esta Tesis.

B.1. Teoría de juegos evolutiva. La ecuación del replicador

La teoría de juegos surgió a mediados de los años 40 como un formalismo matemático para el estudio de la toma de decisiones por individuos racionales que interaccionan entre sí. Un juego se define por los *pagos* que recibe cada jugador en función de la *estrategia* que elijan tanto él como el resto de jugadores. Puesto que el objetivo de cada jugador es maximizar el pago que recibe, la decisión “óptima” de cada individuo va a depender de las decisiones que tomen o puedan tomar los demás.

Aplicada originalmente al campo de la economía y los estudios sociales, y aunque otros autores habían sugerido antes la aplicación de la teoría de juegos a la biología evolutiva (Lewontin, 1961), John Maynard Smith y George Price fueron los primeros en trasladar los conceptos de la teoría de juegos para explicar la evolución del comportamiento animal (Smith y Price, 1973). La aplicación a la biología cambia por completo las premisas sobre las que se fundamenta la teoría de juegos, aunque no su formalismo. En el estudio de las interacciones sociales, los jugadores deben elegir racionalmente entre un determinado conjunto de estrategias, teniendo en cuenta que el otro jugador también puede elegir entre un determinado conjunto de estrategias y que el pago que recibe cada jugador depende de las estrategias que haya elegido cada uno. En el contexto de la evolución biológica, los jugadores son los diferentes individuos de una población, las estrategias son fenotipos o rasgos heredables, y el pago es una determinada cantidad de eficacia biológica. Teniendo esto en cuenta, la Teoría de Juegos

Evolutiva (TJE) estudia la evolución de poblaciones en las que la eficacia biológica de los individuos depende de su interacción con otros individuos de la población. Estudia, por tanto, situaciones de selección dependiente de frecuencia (Nowak, 2006b). Aunque existen variantes de la TJE que estudian los problemas desde una perspectiva estática, bien con interacciones repetidas o sin ellas, en este apéndice se presentará exclusivamente la rama de la TJE que estudia la dinámica poblacional. Esta rama de la TJE tiene como piedra angular la llamada *ecuación del replicador*. En su forma general, la ecuación del replicador viene definida por:

$$\frac{dx_i}{dt} = \left(\sum_j a_{ij} x_j \right) x_i - \bar{a} x_i \quad (\text{B.1})$$

Donde \bar{a} es la productividad media del sistema¹, necesaria para que la población total permanezca constante, cuya expresión viene definida por:

$$\bar{a} = \frac{\sum_i \left(\sum_j a_{ij} x_j \right) x_i}{\sum_i x_i} \quad (\text{B.2})$$

En este apéndice sólo se estudiarán los juegos más sencillos, y más habituales, en los que interaccionan dos tipos de individuos, I_1 e I_2 , cada uno con dos posibles estrategias, los llamados juegos 2x2. En este caso, la ecuación B.1 se reduce a:

$$\begin{aligned} \frac{dx_1}{dt} &= (a_{11}x_1 + a_{12}x_2) x_1 - \bar{a}x_1 \\ \frac{dx_2}{dt} &= (a_{21}x_1 + a_{22}x_2) x_2 - \bar{a}x_2 \end{aligned} \quad (\text{B.3})$$

que, generalmente se expresa de la siguiente forma:

$$\begin{aligned} \frac{dx_1}{dt} &= (ax_1 + bx_2) x_1 - \bar{a}x_1 \\ \frac{dx_2}{dt} &= (cx_1 + dx_2) x_2 - \bar{a}x_2 \end{aligned} \quad (\text{B.4})$$

donde, en este caso, la productividad media \bar{a} viene definida por:

$$\bar{a} = \frac{(ax_1 + bx_2) x_1 + (cx_1 + dx_2) x_2}{x_1 + x_2} \quad (\text{B.5})$$

En estas ecuaciones, x_1 y x_2 son las concentraciones de los individuos de tipo 1 y 2 en la población. Los parámetros a , b , c y d son los pagos, y representan la eficacia biológica que “recibe” cada jugador cuando interacciona con otro de los posibles jugadores. Así, cuando un individuo I_1 interacciona con otro individuo I_1 , ambos reciben como pago a unidades de eficacia biológica. Cuando un individuo I_1 interacciona con un individuo I_2 , I_1 recibe b y I_2 recibe c unidades de eficacia biológica, etc. De esta manera, cada juego viene definido por estos parámetros que se recogen en la denominada *matriz de pagos*, de la forma:

¹Esta productividad es completamente equivalente a la \bar{E} de los modelos de cuasiespecies (**ecu. X**)

(B.6)

	I_1	I_2
I_1	a	b
I_2	c	d

Al considerar la población constante, es posible suponer, sin pérdida de generalidad, que $x_1 + x_2 = 1$ de forma que el sistema de EDO B.4 puede reducirse a una única ecuación diferencial de la forma:

$$\dot{x}_1 = x_1(1 - x_1)((a - b - c + d)x + b - d) \tag{B.7}$$

La ecuación del replicador puede considerarse una ecuación evolutiva bastante general. Tanto el modelo de cuasiespecies (explicado en detalle en el apéndice A) como la ecuación de Price (Price, 1970) pueden considerarse casos particulares de la misma (Page y Nowak, 2002) y, además, es formalmente equivalente tanto a los modelos Lotka-Volterra de ecología, como al modelo de hiperciclos (Hofbauer y Sigmund, 1988).

El comportamiento del sistema definido por la ecuación B.7 depende de los valores que adopten los parámetros a, b, c y d . A partir de la ecuación B.7 se obtienen tres posibles estados estacionarios. La estabilidad de cada uno de ellos va a depender de los valores que adopte el jacobiano de B.7 en el estado estacionario que, a su vez, va a depender de los valores que adopten los parámetros $a, b, c, y d$. Al derivar la expresión B.7 con respecto a x , se obtiene el correspondiente jacobiano:

$$J = 3(b - a + c - d)x^2 + 2(a - 2b - c + 2d)x + b - d \tag{B.8}$$

En la tabla B.1 se muestran los resultados obtenidos al hallar los estados estacionarios así como la dependencia de su estabilidad respecto de los valores de la matriz de pagos.

Estado Estacionario	Propiedades	
I.	Población	$x_1 = 0$
	Estabilidad	$d > b$
II.	Población	$x_1 = 1$
	Estabilidad	$a > c$
III.	Población	$x_1 = \frac{d - b}{(a - b - c + d)}$
	Estabilidad	$c > a$ $b > d$

Tabla B.1: Resumen de resultados obtenidos al hallar los estados estacionarios de la ecuación del replicador B.7. La fila “Estabilidad” muestra la condición para que dicho estado estacionario sea asintóticamente estable, obtenida como aquella condición que hace que el valor del jacobiano B.8 en dicho estado estacionario sea menor que cero.

A los estados estacionarios asintóticamente estables presentados en la tabla B.1 se les denomina *estados evolutivamente estables*, que no deben confundirse con las llamadas *estrategias evolutiva-*

mente estables (Smith y Price, 1973), o *ESS* por sus siglas en inglés, equivalentes a los equilibrios de Nash de la teoría de juegos clásica. A pesar de que todas las *ESS* deben ser estados evolutivamente estables, no todos los estados evolutivamente estables tienen por qué ser *ESS* (para una discusión en detalle ver Hofbauer and Sigmund (Hofbauer y Sigmund, 1988).

Como se vio en la sección 1.4 de la introducción, la TJE ha sido extensamente aplicada al estudio del origen de la cooperación. En este caso, los individuos de tipo 1 se consideran cooperadores y los individuos de tipo 2 se consideran defectores, según la definición planteada en dicha sección.

Como se dijo anteriormente, cada juego viene definido por una determinada matriz de pagos, es decir, por un determinado valor de los parámetros a , b , c y d . En la tabla B.2 se presentan los cuatros juegos 2x2 más comunes.

Nombre del juego	Matriz de Pagos	Resultado evolutivo
Dilema del Prisionero	$c > a$ $b > d$	Sólo es estable el estado estacionario I. <i>Se impone la defección</i>
Armonía	$a > c$ $b > d$	Sólo es estable el estado estacionario II. <i>Se impone la cooperación</i>
<i>Snowdrift</i> o Halcones y Palomas	$c > a$ $b < d$	Sólo es estable el estado estacionario III. <i>Cooperadores y defectores coexisten.</i>
Stag-Hunt	$a > c$ $d > b$	Son estables los estados estacionario I y II. El estado estacionario III es inestable y actúa como separatriz <i>Se imponen los cooperadores o los defectores dependiendo de las condiciones iniciales</i>

Tabla B.2: Juegos 2x2 más característicos. La tabla recoge el nombre, las condiciones que debe cumplir la matriz de pagos 2x2 de tipo B.6 y el resultado evolutivo de los juegos más 2x2 más característicos.

El primer juego, el conocido dilema del prisionero, implica que el estado evolutivamente estable es el estado estacionario I, formado exclusivamente por individuos defectores. El dilema del prisionero es el caso más conocido de dilema social, puesto que la población tendría mayor eficacia biológica media si estuviese formada por individuos cooperadores, pero la acción de la selección natural a nivel individual hace que se impongan los individuos defectores, generando una población con menor eficacia biológica media.

También pueden existir situaciones en las que no se plante un dilema social en absoluto: cuando la ventaja de la cooperación es suficientemente alta para compensar la ventaja de la defección. Esta situación, que algunos han denominado *armonía*, se produce cuando sólo es estable el estado

estacionario II, formado exclusivamente por los individuos cooperadores.

El juego del *snowdrift* es un juego de “anti-coordinación”, es decir, la eficacia biológica de un individuo es mayor cuanto mayor sea la fracción de individuos con la estrategia contraria. Esto implica que la selección natural actúa en favor de los defectores o los cooperadores en función de la fracción poblacional de cada uno de ellos. El resultado, por tanto, es que la selección natural estabiliza la coexistencia entre cooperadores y defectores. El juego del *snowdrift* representa correctamente aquellos casos en los que se produce *selección dependiente de frecuencia negativa o diversificante*. En este caso, sigue existiendo un dilema social en el sentido de que la eficacia biológica media de la población final es subóptima respecto a la población exclusivamente compuesta por cooperadores, pero el resultado final ya no es la imposición de la defección.

El juego del *stag-hunt*, por el contrario, es un juego de coordinación, la eficacia biológica de un individuo aumenta cuanto mayor sea el número de individuos que utiliza su misma estrategia. En este caso, la selección natural también favorece a cooperación o defección dependiendo de la composición poblacional, pero el resultado es una situación de biestabilidad: dependiendo de las condiciones iniciales, la población final estará compuesta exclusivamente por defectores o por cooperadores. El juego del *stag-hunt* representa una situación de *selección dependiente de frecuencia positiva o purificadora*, que tiende a disminuir la variabilidad en las poblaciones. En este juego, por ejemplo, sólo en caso de que la población esté compuesta exclusivamente por defectores el resultado es un dilema social.

B.2. Hacia una definición de defector en juegos de 2 y n participantes

Como se vio en la sección 1.4 de la introducción, los defectores suelen ser definidos como aquellos individuos que no producen un beneficio asociado a la cooperación, ni pagan el coste asociado a la producción de dicho beneficio, pero sí que pueden aprovecharse del mismo. En nuestra opinión, esta definición es demasiado descriptiva y, por eso, en esta sección se ha intentado encontrar una definición más estricta de defector en juegos de 2 y n participantes que, biológicamente, represente la situación de interacción antagonista intraespecífica que, en la introducción, se ha asociado a la idea de defección (ver sección 1.5 de la introducción).

Juegos de 2 participantes

En primer lugar se considerarán los juegos de 2 participantes, que, tal y como se vio en la sección anterior, vienen definidos por una matriz de pagos de tipo:

$$\begin{pmatrix} a & b \\ c & d \end{pmatrix} \quad (\text{B.9})$$

Donde, como antes, a es el pago que recibe un individuo I_1 cuando interacciona con otro individuo de tipo I_1 , b es el pago que recibe un individuo I_1 cuando interacciona con un individuo de tipo I_2 , y c y d son los pagos que recibe un individuo I_2 cuando interacciona con individuos de tipo I_1 o I_2 respectivamente. Es decir, las eficacias biológicas de los individuos I_1 e I_2 vienen definidas por:

$$\begin{aligned} f_1 &= ax_1 + bx_2 \\ f_2 &= cx_1 + dx_2 \end{aligned} \quad (\text{B.10})$$

Donde, según B.4, x_1 y x_2 son las fracciones poblacionales de los individuos de tipo I_1 e I_2 , respectivamente. Teniendo en cuenta lo expresado en la sección 1.5. de la Introducción, dado este

Orden	Consecuencia Evolutiva	Nombre del Juego
$a > b > c > d$	Se impone el no defector	Armonía
$a > c > d > b$	El resultado depende de las condiciones iniciales	<i>Stag-Hunt</i>
$a > c > b > d$	Se impone el no defector	Armonía
$c > a > b > d$	Coexistencia	<i>Snowdrift</i>
$c > a > d > b$	Se impone la defección	Dilema del prisionero

Tabla B.3: Posibles “juegos” 2x2 en los que la especie I_2 se comporta como un defector.

La tabla muestra los cinco ordenamientos posibles, el nombre que suele recibir dicho juego y el resultado evolutivo del mismo.

formalismo, las condiciones que hacen que el individuo I_2 sea un defector cuando interacciona con I_1 son las que se describen a continuación.

En primer lugar, es necesario que $a > d$, lo que implica que el individuo no defector tiene una mayor eficacia biológica que el individuo defector cuando interaccionan con individuos de su mismo tipo. En términos generales esto puede interpretarse como que los individuos defectores tienen menor eficacia biológica que los individuos no defectores cuando se reproducen por separado, sin interaccionar. Esta condición puede expresarse también como:

$$\left(\frac{df_1}{dx_1}\right) > \left(\frac{df_2}{dx_2}\right) \quad (\text{B.11})$$

En segundo lugar, el defector se aprovecha de su interacción con el individuo no defector, lo que implica que $c > d$. Es decir, el individuo defector tiene mayor eficacia biológica cuando interacciona con el individuo no defector que cuando interacciona consigo mismo (o no interacciona). Esta condición puede expresarse también como:

$$\left(\frac{df_2}{dx_1}\right) > \left(\frac{df_2}{dx_2}\right) \quad (\text{B.12})$$

Por último, la replicación del defector perjudica al individuo no defector, lo que se expresa como $b < a$, lo que implica que el individuo no defector se replica peor en presencia del defector que en su ausencia, es decir:

$$\left(\frac{df_1}{dx_1}\right) > \left(\frac{df_1}{dx_2}\right) \quad (\text{B.13})$$

Desde esta perspectiva, un virus defectivo sería un caso particular de virus defector en el que además $d = 0$.

Estas tres condiciones ($a > d$; $c > d$ y $a > b$) son las que, de acuerdo con nuestra definición, harían que un individuo fuese defector.

Merece la pena destacar que, tal y como se desprende de la tabla B.1, por sí sola ninguna de estas condiciones determina cuál es el estado evolutivamente estable del sistema. Esto implica que es posible encontrar individuos defectores que no serán evolutivamente estables y serán desplazados por el individuo “altruista”, o bien individuos defectores que desplazarán o coexistirán con el individuo no defector, dando lugar a situaciones en las que se produce un dilema social. La tabla B.3 recoge los diferentes ordenamientos posibles de los valores de la matriz de pagos que cumplen las condiciones presentadas de defección y su resultado evolutivo (así como el nombre del juego asociado).

Juegos de n participantes

Los juegos de 2 participantes pueden considerarse, en el fondo, como un caso particular de los juegos de n participantes cuando $n = 2$. Por tanto, las condiciones que se han obtenido para el caso de 2 participantes pueden extenderse al caso de n participantes. Denominando k al número de individuos defectores, I_2 , e I_1 a los individuos cooperadores en un grupo de tamaño n se obtiene que la primera condición es:

$$f_1(k = 0) > f_2(k = n) \quad (\text{B.14})$$

Es decir, un cooperador en un grupo de cooperadores tiene más eficacia biológica que un defector en un grupo formado exclusivamente por defectores.

La condición de que un defector se aprovecha de los cooperadores para ganar eficacia biológica puede expresarse así:

$$\left(\frac{df_2}{dk} \right) < 0 \quad (\text{B.15})$$

Lo que indica que la eficacia biológica del defector es mayor cuanto mayor sea el número de cooperadores que le rodea. Por último, el que los cooperadores pierdan eficacia biológica en presencia de los defectores implica que:

$$\left(\frac{df_1}{dk} \right) < 0 \quad (\text{B.16})$$

De forma que cuanto mayor es el número de defectores en un grupo, menor es la eficacia biológica de los cooperadores en dicho grupo.

Al igual que en el caso anterior, estas tres condiciones por sí mismas no determinan si la defección o la cooperación es evolutivamente estable.

B.3. Replicadores inhomogéneos y matriz de pagos

En condiciones de población constante y ausencia de mutación, el modelo de cuasiespecies que interaccionan en *trans* presentado en el capítulo 5 de esta Tesis se transforma en una *inhomogeneous replicator equation* (Andrade et al., 1991; Stadler, 1991; Gerstung et al., 2011). Los sistemas de replicadores inhomogéneos reciben dicho nombre porque están formados por especies que tienen simultáneamente capacidad autocatalítica y autorreplicativa, por lo que tienen la forma general:

$$\frac{dx_i}{dt} = f_i(\mathbf{x})x_i - \bar{f}x_i \quad (\text{B.17})$$

donde

$$f_i(\mathbf{x})$$

es una función que determina la eficacia biológica según

$$f_i(\mathbf{x}) = \sum_{j=1}^{n_{ind}} m_{ij}x_j + r_i \quad (\text{B.18})$$

en la que r_i es la capacidad autorreplicativa del individuo i y $\sum_{j=1}^{n_{ind}} m_{ij}x_j$ es la suma de las constantes catalíticas multiplicadas por las concentraciones de los n_{ind} tipos de especies de la población, incluido él mismo, que pueden actuar como catalizadores. Esta función puede expresarse de forma general como:

$$f(\mathbf{x}) = \mathbf{M}\mathbf{x} + \mathbf{r} \quad (\text{B.19})$$

donde \mathbf{M} es la matriz de interacciones, equivalente a la matriz de pagos de la TJE, y \mathbf{r} es el vector de constantes de autoreplicación. Lo interesante de los replicadores inhomogéneos es que puede demostrarse (Gerstung et al., 2011) que, en condiciones de población constante, los estados estacionarios de un sistema de replicadores inhomogéneos de la forma B.19 son equivalentes a los de un sistema de replicadores homogéneos de la forma

$$f'(\mathbf{x}) = \mathbf{M}'\mathbf{x} \quad (\text{B.20})$$

Donde los elementos de la matriz \mathbf{M}' vienen determinados por

$$m'_{ij} = m_{ij} + r_i \quad (\text{B.21})$$

De esta forma, siempre va a ser posible obtener una matriz de pagos \mathbf{M} que defina una ecuación del replicador homogénea cuyos estados evolutivamente estables son equivalentes a los del sistema de replicadores homogéneos inicial. Esto va a permitir estudiar el comportamiento de dicho sistema en el estado estacionario bien como un sistema de ecuaciones diferenciales o bien desde la perspectiva de la teoría de juegos 2x2.

Apéndice C

Variables utilizadas a lo largo de la Tesis

A_{Am}, A_{Ak}	Factores de amplificación de los fenotipos maestro y mutante, respectivamente, de la cuasiespecie A
A_{Bm}, A_{Bk}	Factores de amplificación de los fenotipos maestro y mutante, respectivamente, de la cuasiespecie B
A_k	Factor de amplificación del fenotipo mutante en el paisaje <i>Single-Peak</i>
A_m	Factor de amplificación del fenotipo maestro en el paisaje <i>Single-Peak</i>
B_k	Contribución al bien público del fenotipo mutante
B_l	Contribución al bien público del fenotipo letal en el paisaje <i>Single-Peak</i>
B_m	Contribución al bien público del fenotipo maestro en el paisaje <i>Single-Peak</i>
D_i	Factor de Degradación del fenotipo i
\bar{E}	Productividad media de la población
H_i	Clase de Hamming i respecto a la secuencia de referencia
I_i	Especie autorreplicante
K_q	Constante de que determina el cambio del factor de calidad q_i más allá de k_c
L_A	Lastre mutacional referido al factor de amplificación, A_i
N	Concentración total en el reactor de flujo
Q_c	Umbral de error expresado según el factor de calidad por secuencia del fenotipo maestro, Q_m
Q_{ex}	Umbral de extinción expresado según el factor de calidad por secuencia del fenotipo maestro, Q_m
\tilde{Q}_i	factor de calidad fenotípico del fenotipo i , $Q_i = \exp(ai*(1-q))$
Q_{ij}	Probabilidad de obtener una secuencia de la clase de Hamming i a partir de la clase de Hamming j
Q_m	Factor de calidad por secuencia del fenotipo maestro en el paisaje <i>Single-Peak</i>
R_k	Eficacia biológica absoluta del fenotipo mutante en el paisaje <i>Single-Peak</i> $R_k = \frac{A_k}{D}$
R_m	Eficacia biológica absoluta del fenotipo maestro en el paisaje <i>Single-Peak</i> $R_m = \frac{A_m}{D}$
R	eficacia biológica absoluta “extra-grupo” en el modelo anidado $R = \frac{b_0}{d}$
T_c	Tiempo característico de llegada al estado estacionario dentro de un grupo en el modelo anidado
W_i	Valor selectivo de la copia i , $W_i = A_i Q_i - D - i$
a_{Ki}	Factor que determina el factor de calidad fenotípico del fenotipo i , \tilde{Q}_i
b_0	Máxima producción teórica de individuos que puede dar un grupo en el modelo anidado
c	Factor de interacción en <i>cis</i>

c_0	Concentración equivalente a un único individuo en un grupo en el modelo anidado
d	Factor de degradación extracelular a los grupos en el modelo anidado
ϕ_0	Flujo de salida del reactor de flujo
k_{des}	Constante de desactivación espontánea de los monómeros energéticamente activados
i	Número de mutaciones respecto a la secuencia de referencia
k	Constante cinética de producción de individuos por los grupos (cap. 12)
k_c	Umbral de distancia de Hamming más allá del cual cambia q_i
l	Número de posiciones letales en una secuencia
l_c	Letalidad crítica
μ_a	Monómero energéticamente activado
μ_d	Monómero energéticamente desactivado
μ	Monómero energéticamente activado
n	Tamaño de grupo cuando las cuasiespecies interactúan en tamaños de grupo constante
$n_{seq}(H_i)$	Número de secuencias que componen la clase de Hamming, H_i
n_{max}	Límite de coinfección (tamaño de grupo máximo) cuando las cuasiespecies interactúan en grupos de tamaño variable o en el modelo anidado
ν	Longitud de secuencia
ν_{ef}	Longitud de secuencia efectiva
p	fracción de mutantes no letales en el esquema de letalidad uniformemente distribuido
q	Factor de calidad por dígito
q_c	Umbral de error expresado según el factor de calidad por dígito, q
q_{ex}	Umbral de extinción expresado según el factor de calidad por dígito, q
q_i	Factor de calidad por dígito asociado a la clase de Hamming i
k_{act}	Constante de activación de los monómeros energéticamente desactivados
s	coeficiente de selección del fenotipo mutante respecto al fenotipo maestro
σ	Superioridad ($\sigma = \frac{A_m}{A_k}$)
σ_B	Superioridad en las contribuciones al bien público ($\sigma_B = \frac{B_m}{B_k}$)
t	tiempo
v	Ventaja o desventaja selectiva en <i>cis</i> de tipo multiplicativo
w	Ventaja o desventaja selectiva en <i>cis</i> de tipo aditivo
x_k	Concentración del fenotipo mutante
x_l	Concentración del fenotipo letal
x_m	Concentración del fenotipo mutante
y_k	Fracción poblacional del fenotipo mutante
y_l	Fracción poblacional del fenotipo letal
y_m	Fracción poblacional del fenotipo maestro
z	Fracción de espacios vacíos

Bibliografía

- Agudo, R., Ferrer-Orta, C., Arias, A., de la Higuera, I., Perales, C., Pérez-Luque, R., Verdaguer, N., y Domingo, E. A multi-step process of viral adaptation to a mutagenic nucleoside analogue by modulation of transition types leads to extinction-escape. *PLoS Pathogens*, 6(8):e1001072, 2010.
- Aguirre, J. y Manrubia, S. C. Out-of-equilibrium competitive dynamics of quasispecies. *Europhysics Letters*, 77(3):38001, 2007.
- Anderson, J. P., Daifuku, R., y Loeb, L. A. Viral error catastrophe by mutagenic nucleosides. *Annual Review of Microbiology*, 58(1):183–205, 2004.
- Andrade, M. A., García-Tejedor, A. J., y Montero, F. Study of an error-prone hypercycle formed from two kinetically distinguishable species. *Biophysical Chemistry*, 40(1):43–57, 1991.
- Apestequia, J. y Maier-Rigaud, F. P. The role of rivalry. *Journal of Conflict Resolution*, 50(5):646–663, 2006.
- Archetti, M. y Scheuring, I. Review: Game theory of public goods in one-shot social dilemmas without assortment. *Journal of Theoretical Biology*, 299(0):9–20, 2012.
- Baake, E. y Gabriel, W. Biological evolution through mutation, selection, and drift: An introductory review. In Stauffer, D., editor, *Annual Review in Computational Physics VII*, pages 203–264. World Scientific, Singapore, 2000.
- Baake, E. y Georgii, H. O. Mutation, selection, and ancestry in branching models: a variational approach. *Journal of Mathematical Biology*, 54(2):257–303, 2007.
- Biebricher, C. y Eigen, M. What is a quasispecies? *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 299:1–31, 2006.
- Biebricher, C. K. y Eigen, M. The error threshold. *Virus Research*, 107(2):117–27, 2005.
- Bloom, J. D., Arnold, F. H., y Wilke, C. O. Breaking proteins with mutations: threads and thresholds in evolution. *Molecular Systems Biology*, 3:76, 2007.
- Bonhoeffer, S. y Stadler, P. F. Error thresholds on correlated fitness landscapes. *Journal of Theoretical Biology*, 164(3):359–372, 1993.
- Bonnaz, D. About a three states molecular evolution model. *Journal of Theoretical Biology*, 197(3):415–23, 1999.
- Bonnaz, D. y Koch, A. J. Stochastic model of evolving populations. *Journal of Physics A: Mathematical and General*, 31:417–429, 1998.
- Brown, S. P. Collective action in an RNA virus. *Journal of Evolutionary Biology*, 14(5):821–828, 2001.

- Bull, J. J., Meyers, L. A., y Lachmann, M. Quasispecies made simple. *PLoS Computational Biology*, 1(6):e61, 2005.
- Bull, J. J., Sanjuan, R., y Wilke, C. O. Theory of lethal mutagenesis for viruses. *Journal of Virology*, 81(6):2930–9, 2007.
- Cameron, C. E. y Castro, C. The mechanism of action of ribavirin: lethal mutagenesis of RNA virus genomes mediated by the viral RNA-dependent RNA polymerase. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 14(6):757–64, 2001.
- Campos, P. R. A., Adami, C., y Wilke, C. O. Optimal adaptive performance and delocalization in NK fitness landscapes. *Physica A*, 304(3-4):495–506, 2002.
- Cases-González, C., Arribas, M., Domingo, E., y Lázaro, E. Beneficial effects of population bottlenecks in an RNA virus evolving at increased error rate. *Journal of Molecular Biology*, 384(5): 1120–1129, 2008.
- Cavalli-Sforza, L. L. y Feldman, M. W. Darwinian selection and “altruism”. *Theoretical Population Biology*, 14(2):268–280, 1978.
- Charpentier, N., Dávila, M., Domingo, E., y Escarmís, C. Long-term, large-population passage of aphthovirus can generate and amplify defective noninterfering particles deleted in the leader protease gene. *Virology*, 223(1):10–18, 1996.
- Chen, P. y Shakhnovich, E. Lethal mutagenesis in viruses and bacteria. *Genetics*, 183(2):639–50, 2009.
- Codoñer, F. M., Darós, J. A., Solé, R. V., y Elena, S. F. The fittest versus the flattest: experimental confirmation of the quasispecies effect with subviral pathogens. *PLoS Pathogens*, 2(12):e136, 2006.
- Coffey, L. L., Beeharry, Y., Bordería, A. V., Blanc, H., y Vignuzzi, M. Arbovirus high fidelity variant loses fitness in mosquitoes and mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(38):16038–16043, 2011.
- Cohen, D. y Eshel, I. On the founder effect and the evolution of altruistic traits. *Theoretical Population Biology*, 10(3):276–302, 1976.
- Cole, C. N. y Baltimore, D. Defective Interfering Particles of poliovirus IV. mechanisms of enrichment. *Journal of Virology*, 12(6):1414–1426, 1973.
- Cole, C. N., Smoler, D., Wimmer, E., y Baltimore, D. Defective Interfering Particles of poliovirus I. isolation and physical properties. *Journal of Virology*, 7(4):478–485, 1971.
- Coombs, D., Gilchrist, M. A., y Ball, C. L. Evaluating the importance of within- and between-host selection pressures on the evolution of chronic pathogens. *Theoretical Population Biology*, 72(4): 576–591, 2007.
- Cowperthwaite, M. C. y Meyers, L. A. How mutational networks shape evolution: Lessons from RNA models. *Annual review of ecology, evolution, and systematics*, 38:203–230, 2007.
- Cowperthwaite, M. C., Economo, E. P., Harcombe, W. R., Miller, E. L., y Meyers, L. A. The ascent of the abundant: how mutational networks constrain evolution. *PLoS Computational Biology*, 4(7): e1000110, 2008.
- Crotty, S., Cameron, C. E., y Andino, R. RNA virus error catastrophe: direct molecular test by using ribavirin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98 (12):6895–900, 2001.

- Cuevas, J. M., Domingo-Calap, P., Pereira-Gómez, M., y Sanjuán, R. Experimental evolution and population genetics of RNA viruses. *The Open Evolution Journal*, 3:9–16, 2009.
- Cullen, B. R. Role and mechanism of action of the APOBEC3 family of antiretroviral resistance factors. *Journal of Virology*, 80(3):1067–1076, 2006.
- Dawkins, R. *The selfish gene*. Oxford University Press, 1976.
- de la Torre, J. C. y Holland, J. J. RNA virus quasispecies populations can suppress vastly superior mutant progeny. *Journal of Virology*, 64(12):6278–81, 1990.
- Dennehy, J. J. y Turner, P. E. Reduced fecundity is the cost of cheating in RNA virus $\phi 6$. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 271(1554):2275–2282, 2004.
- Dionisio, F. y Gordo, I. The tragedy of the commons, the public goods dilemma, and the meaning of rivalry and excludability in evolutionary biology. *Evolutionary Ecology Research*, 8:321–332, 2006.
- Doebeli, M. y Hauert, C. Models of cooperation based on the prisoner's dilemma and the snowdrift game. *Ecology Letters*, 8(7):748–766, 2005.
- Domingo, E. y Wain-Hobson, S. The 30th anniversary of quasispecies. *EMBO Reports*, 10(5):444–448, 2009.
- Domingo, E., Biebricher, C. K., Eigen, M., y Holland, J. J. *Quasispecies and RNA virus Evolution: Principles and Consequences*. Landes Bioscience, Austin, TX, 2001a.
- Domingo, E., Ruiz-Jarabo, C. M., Sierra, S., Arias, A., Pariente, N., Baranowski, E., y Escarmís, C. Emergence and selection of RNA virus variants: memory and extinction. *Virus Research*, 82(1-2): 39–44, 2001b.
- Domingo, E., Martín, V., Perales, C., Grande-Pérez, A., García-Arriaza, J., y Arias, A. Viruses as quasispecies: biological implications. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 299:51–82, 2006.
- Domingo, E., Sheldon, J., y Perales, C. Viral quasispecies evolution. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, In Press, 2012.
- Ehrenfeld, E., Domingo, E., Roos, R., y Microbiology, A. S. f. *The Picornaviruses*. ASM Press, 2010.
- Eigen, M. Self-organization of matter and the evolution of biological macromolecules. *Naturwissenschaften*, 58(10):465–523, 1971.
- Eigen, M. The fifth Paul Ehrlich lecture. virus strains as models of molecular evolution. *Medicinal Research Reviews*, 13(4):385–398, 1993.
- Eigen, M. On the nature of virus quasispecies. *Trends in Microbiology*, 4(6):216–218, 1996.
- Eigen, M. Natural selection: a phase transition? *Biophysical Chemistry*, 85(2-3):101–123, 2000.
- Eigen, M. Error catastrophe and antiviral strategy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(21):13374–6, 2002.
- Eigen, M. y Schuster, P. *The hypercycle : a principle of natural self-organization*. Springer, Berlin, 1979.

- Eigen, M. y Schuster, P. Stages of emerging life: Five principles of early organization. *Journal of Molecular Evolution*, 19(1):47–61, 1982.
- Eigen, M., McCaskill, J. S., y Schuster, P. Molecular quasi-species. *Journal of Physical Chemistry*, 92(24):6881–6891, 1988.
- Elena, S. F., Miralles, R., y Moya, A. Frequency-dependent selection in a mammalian RNA virus. *Evolution*, 51(3), 1997.
- Eshel, I. On the founder effect and the evolution of altruistic traits: An ecogenetical approach. *Theoretical Population Biology*, 11(3):410–424, 1977.
- Fields, B., Knipe, D., y Howley, P. *Fields' virology*. Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
- Forster, R., Adami, C., y Wilke, C. O. Selection for mutational robustness in finite populations. *Journal of Theoretical Biology*, 243(2):181–90, 2006.
- Foster, K. R. Diminishing returns in social evolution: the not-so-tragic commons. *Journal of Evolutionary Biology*, 17(5):1058–1072, 2004.
- Frank, S. A. Within-host spatial dynamics of viruses and defective interfering particles. *Journal of Theoretical Biology*, 206(2):279–290, 2000.
- Froissart, R., Wilke, C. O., Montville, R., Remold, S. K., Chao, L., y Turner, P. E. Co-infection weakens selection against epistatic mutations in RNA viruses. *Genetics*, 168(1):9–19, 2004.
- Gao, H. y Feldman, M. W. Complementation and epistasis in viral coinfection dynamics. *Genetics*, 182(1):251–263, 2009.
- Gerstung, M., Nakhoul, H., y Beerenwinkel, N. Evolutionary games with affine fitness functions: Applications to cancer. *Dynamic Games and Applications*, 1(3):370–385, 2011.
- Giachetti, C. y Holland, J. J. Vesicular stomatitis virus and its defective interfering particles exhibit in vitro transcriptional and replicative competition for purified L-NS polymerase molecules. *Virology*, 170(1):264–267, 1989.
- Gilchrist, M. A. y Sasaki, A. Modeling host-parasite coevolution: A nested approach based on mechanistic models. *Journal of Theoretical Biology*, 218(3):289–308, 2002.
- Gonzalez-Lopez, C., Arias, A., Pariente, N., Gomez-Mariano, G., y Domingo, E. Preextinction viral RNA can interfere with infectivity. *Journal of Virology*, 78(7):3319–24, 2004.
- Gonzalez-Lopez, C., Gomez-Mariano, G., Escarmis, C., y Domingo, E. Invariant aphthovirus consensus nucleotide sequence in the transition to error catastrophe. *Infection, genetics and evolution*, 5(4):366–74, 2005.
- Gould, S. J. *The structure of evolutionary theory*. Harvard University Press, 2002.
- Graci, J. D. y Cameron, C. E. Mechanisms of action of ribavirin against distinct viruses. *Reviews in Medical Virology*, 16(1):37–48, 2006.
- Graci, J. D., Harki, D. A., Korneeva, V. S., Edathil, J. P., Too, K., Franco, D., Smidansky, E. D., Paul, A. V., Peterson, B. R., Brown, D. M., Loakes, D., y Cameron, C. E. Lethal mutagenesis of poliovirus mediated by a mutagenic pyrimidine analogue. *Journal of Virology*, 81(20):11256–11266, 2007.

- Graci, J. D., Gnadig, N. F., Galarraga, J. E., Castro, C., Vignuzzi, M., y Cameron, C. E. Mutational robustness of an RNA virus influences sensitivity to lethal mutagenesis. *Journal of Virology*, 86(5): 2869–2873, 2012.
- Grande-Perez, A., Sierra, S., Castro, M. G., Domingo, E., y Lowenstein, P. R. Molecular indetermina- tion in the transition to error catastrophe: systematic elimination of lymphocytic choriomeningitis virus through mutagenesis does not correlate linearly with large increases in mutant spectrum com- plexity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(20): 12938–43, 2002.
- Grande-Pérez, A., Gómez-Mariano, G., Lowenstein, P., y Domingo, E. Mutagenesis-induced, large fitness variations with an invariant arenavirus consensus genomic nucleotide sequence. *Journal of Virology*, 79(16):10451–9, 2005a.
- Grande-Pérez, A., Lázaro, E., Lowenstein, P., Domingo, E., y Manrubia, S. C. Suppression of viral infectivity through lethal defection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(12):4448–52, 2005b.
- Greenbaum, B. D., Levine, A. J., Bhanot, G., y Rabadan, R. Patterns of evolution and host gene mimicry in influenza and other RNA viruses. *PLoS Pathogens*, 4(6):e1000079, 2008.
- Hamilton, W. The genetical evolution of social behaviour. II. *Journal of Theoretical Biology*, 7(1): 17–52, 1964a.
- Hamilton, W. The genetical evolution of social behaviour. I. *Journal of Theoretical Biology*, 7(1): 1–16, 1964b.
- Hauert, C. Spatial effects in social dilemmas. *Journal of Theoretical Biology*, 240(4):627–636, 2006.
- Hauert, C., Holmes, M., y Doebeli, M. Evolutionary games and population dynamics: maintenance of cooperation in public goods games. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1600):2565–70, 2006a.
- Hauert, C., Michor, F., Nowak, M. A., y Doebeli, M. Synergy and discounting of cooperation in social dilemmas. *Journal of Theoretical Biology*, 239(2):195–202, 2006b.
- Hauert, C., Wakano, J. Y., y Doebeli, M. Ecological public goods games: cooperation and bifurcation. *Theoretical Population Biology*, 73(2):257–63, 2008.
- Heckathorn, D. D. The dynamics and dilemmas of collective action. *American Sociological Review*, 61(2):250–277, 1996.
- Heino, M., Metz, J. A. J., y Kaitala, V. The enigma of frequency-dependent selection. *Trends in ecology & evolution*, 13(9):367–370, 1998.
- Hermisson, J., Redner, O., Wagner, H., y Baake, E. Mutation-selection balance: ancestry, load, and maximum principle. *Theoretical Population Biology*, 62(1):9–46, 2002.
- Hofbauer, J. y Sigmund, K. *The theory of evolution and dynamical systems: mathematical aspects of selection*. Cambridge University Press, 1988.
- Hoffmann, G. R. y Fuchs, R. P. P. Mechanisms of frameshift mutations: Insight from aromatic amines. *Chemical Research in Toxicology*, 10(4):347–359, 1997.
- Holland, J. J. Transitions in understanding of RNA viruses: A historical perspective. In Domingo, E., editor, *Quasispecies: Concept and Implications for Virology*, volume 299 of *Current Topics in Microbiology and Immunology*, pages 371–401. Springer Berlin Heidelberg, 2006.

- Holland, J. J., Domingo, E., de la Torre, J. C., y Steinhauer, D. A. Mutation frequencies at defined single codon sites in vesicular stomatitis virus and poliovirus can be increased only slightly by chemical mutagenesis. *Journal of Virology*, 64(8):3960–2, 1990.
- Holmes, E. *The evolution and emergence of RNA viruses*. Oxford University Press, 2009.
- Holmes, E. C. Adaptation and immunity. *PLoS Biology*, 2(9):e307, 2004.
- Huynen, M. A., Stadler, P. F., y Fontana, W. Smoothness within ruggedness: the role of neutrality in adaptation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(1):397–401, 1996.
- Iranzo, J. y Manrubia, S. C. Stochastic extinction of viral infectivity through the action of defectors. *Europhysics Letters*, 85(1):18001, 2009.
- Iranzo, J., Perales, C., Domingo, E., y Manrubia, S. C. Tempo and mode of inhibitor-mutagen antiviral therapies: A multidisciplinary approach. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011.
- Janssen, M. A. y Goldstone, R. L. Dynamic-persistence of cooperation in public good games when group size is dynamic. *Journal of Theoretical Biology*, 243(1):134–142, 2006.
- Kamiya, H. y Kasai, H. Substitution and deletion mutations induced by 2-hydroxyadenine in *Escherichia coli*: effects of sequence contexts in leading and lagging strands. *Nucleic Acids Research*, 25(2):304–310, 1997.
- Kamp, C., Wilke, C. O., Adami, C., y Bornholdt, S. Viral evolution under the pressure of an adaptive immune system: optimal mutation rates for viral escape. *Complexity*, 8(2):28–33, 2002.
- Kauffman, S. A. *The origins of order: self organization and selection in evolution*. Oxford University Press, 1993.
- Keller, T. E., Wilke, C. O., y Bull, J. J. Interactions between evolutionary processes at high mutation rates. *Evolution*, page In press, 2012.
- Killingback, T., Bieri, J., y Flatt, T. Evolution in group-structured populations can resolve the tragedy of the commons. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1593):1477–1481, 2006.
- Kimura, M. y Maruyama, T. The mutational load with epistatic gene interactions in fitness. *Genetics*, 54(6):1337–51, 1966.
- Kirkwood, T. B. y Bangham, C. R. Cycles, chaos, and evolution in virus cultures: a model of defective interfering particles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(18):8685–9, 1994.
- Kollock, P. Social dilemmas: The anatomy of cooperation. *Annual Review of Sociology*, 24(1):183–214, 1998.
- Küppers, B. *Molecular Theory of Evolution*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, 1983.
- Krakauer, D. C. y Komarova, N. L. Levels of selection in positive-strand virus dynamics. *Journal of Evolutionary Biology*, 16(1):64–73, 2003.
- Krakauer, D. C. y Plotkin, J. Principles and parameters of molecular robustness. In Jen, E., editor, *Robust Design: a repertoire of biological, ecological and engineering case studies*., Santa Fe Institute Studies in the Science of Complexity. Oxford University Press, New York, 2005.

- Lalic, J., Cuevas, J. M., y Elena, S. F. Effect of host species on the distribution of mutational fitness effects for an RNA virus. *PLoS Genetics*, 7(11):e1002378, 2011.
- Lauring, A. S. y Andino, R. Quasispecies theory and the behavior of RNA viruses. *PLoS Pathogens*, 6(7):e1001005, 2010.
- Lewontin, R. C. Evolution and the theory of games. *Journal of Theoretical Biology*, 1(3):382–403, 1961.
- Llorens, M., Nuño, J. C., Rodríguez, Y., Melendez-Hevia, E., y Montero, F. Generalization of the theory of transition times in metabolic pathways: a geometrical approach. *Biophysical Journal*, 77(1):23–36, 1999.
- Loeb, L. A., Essigmann, J. M., Kazazi, F., Zhang, J., Rose, K. D., y Mullins, J. I. Lethal mutagenesis of HIV with mutagenic nucleoside analogs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(4):1492–7, 1999.
- Lorenzo-Redondo, R. *Evolución del VIH-1 durante el proceso de recuperación de la eficacia biológica in vitro*. PhD thesis, Universidad Autónoma de Madrid, 2011.
- Manrubia, S. C., Domingo, E., y Lázaro, E. Pathways to extinction: beyond the error threshold. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 365(1548):1943–52, 2010.
- Marín, A., Tejero, H., Nuño, J. C., y Montero, F. Characteristic time in quasispecies evolution. *Journal of Theoretical Biology*, 303(0):25 – 32, 2012.
- Marriott, A. C. y Dimmock, N. J. Defective interfering viruses and their potential as antiviral agents. *Reviews in Medical Virology*, 20(1):51–62, 2010.
- Martin, G. y Gandon, S. Lethal mutagenesis and evolutionary epidemiology. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 365(1548):1953–63, 2010.
- Martín, V., Grande-Pérez, A., y Domingo, E. No evidence of selection for mutational robustness during lethal mutagenesis of lymphocytic choriomeningitis virus. *Virology*, 378(1):185–92, 2008.
- Martín, V., Abia, D., Domingo, E., y Grande-Pérez, A. An interfering activity against lymphocytic choriomeningitis virus replication associated with enhanced mutagenesis. *Journal of General Virology*, 91(4):990–1003, 2010.
- McClure, M. A., Holland, J. J., y Perrault, J. Generation of defective interfering particles in picornaviruses. *Virology*, 100(2):408–418, 1980.
- McInerney, G. M., King, A. M. Q., Ross-Smith, N., y Belsham, G. J. Replication-competent foot-and-mouth disease virus RNAs lacking capsid coding sequences. *Journal of General Virology*, 81(7):1699–1702, 2000.
- Menendez-Arias, L., Matamoros, T., y Cases-González, C. Insertions and deletions in HIV-1 reverse transcriptase: Consequences for drug resistance and viral fitness. *Current Pharmaceutical Design*, 12(15):1811–1825, 2006.
- Meyer, B. J. y Southern, P. J. A novel type of defective viral genome suggests a unique strategy to establish and maintain persistent lymphocytic choriomeningitis virus infections. *Journal of Virology*, 71(9):6757–64, 1997.
- Michod, R. E. The theory of kin selection. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 13:23–55, 1982.

- Mitteldorf, J. y Wilson, D. S. Population viscosity and the evolution of altruism. *Journal of Theoretical Biology*, 204(4):481–496, 2000.
- Moreno, H., Gallego, I., Sevilla, N., de la Torre, J. C., Domingo, E., y Martín, V. Ribavirin can be mutagenic for arenaviruses. *Journal of Virology*, 85(14):7246–7255, 2011.
- Moreno, H., Tejero, H., de la Torre, J. C., Domingo, E., y Martín, V. Mutagenesis-mediated virus extinction: Virus-dependent effect of viral load on sensitivity to lethal defection. *PLoS One*, 7(3): e32550, 2012.
- Moscona, A. Global transmission of oseltamivir-resistant influenza. *New England Journal of Medicine*, 360(10):953–956, 2009.
- Más, A., López-Galíndez, C., Cacho, I., Gómez, J., y Martínez, M. A. Unfinished stories on viral quasispecies and darwinian views of evolution. *Journal of Molecular Biology*, 397(4):865–877, 2010.
- Mullins, J. I., Heath, L., Hughes, J. P., Kicha, J., Styrchak, S., Wong, K. G., Rao, U., Hansen, A., Harris, K. S., Laurent, J.-P., Li, D., Simpson, J. H., Essigmann, J. M., Loeb, L. A., y Parkins, J. Mutation of HIV-1 genomes in a clinical population treated with the mutagenic nucleoside KP1461. *PLoS One*, 6(1):e15135, 2011.
- Najera, I., Holguin, A., Quinones-Mateu, M. E., Munoz-Fernandez, M. A., Najera, R., Lopez-Galindez, C., y Domingo, E. Pol gene quasispecies of human immunodeficiency virus: mutations associated with drug resistance in virus from patients undergoing no drug therapy. *Journal of Virology*, 69(1):23–31, 1995.
- Novella, I. S., Reissig, D. D., y Wilke, C. O. Density-dependent selection in vesicular stomatitis virus. *Journal of Virology*, 78(11):5799–5804, 2004.
- Novick, A. y Szilard, L. Virus strains of identical phenotype but different genotype. *Science*, 113 (2924):34–35, 1951.
- Nowak, M. *Evolutionary dynamics: exploring the equations of life*. Belknap Press of Harvard University Press, 2006a.
- Nowak, M. A. Five rules for the evolution of cooperation. *Science*, 314(5805):1560–1563, 2006b.
- Nowak, M. A. y May, R. M. Evolutionary games and spatial chaos. *Nature*, 359(6398):826–829, 1992.
- Nowak, M. A. y Schuster, P. Error thresholds of replication in finite populations mutation frequencies and the onset of muller's ratchet. *Journal of Theoretical Biology*, 137(4):375–395, 1989.
- Obermayer, B. y Frey, E. Error thresholds for self- and cross-specific enzymatic replication. *Journal of Theoretical Biology*, 267(4):653–662, 2010.
- Ochoa, G. Error thresholds in genetic algorithms. *Evolutionary Computation*, 14(2):157–182, 2006.
- O'Dea, E. B., Keller, T. E., y Wilke, C. O. Does mutational robustness inhibit extinction by lethal mutagenesis in viral populations? *PLoS Computational Biology*, 6(6):e1000811, 2010.
- O'Fallon, B. D., Adler, F. R., y Proulx, S. R. Quasi-species evolution in subdivided populations favours maximally deleterious mutations. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 274(1629):3159–64, 2007.

- Ohtsuki, H., Hauert, C., Lieberman, E., y Nowak, M. A. A simple rule for the evolution of cooperation on graphs and social networks. *Nature*, 441(7092):502–505, 2006.
- Ojosnegros, S., Agudo, R., Sierra, M., Briones, C., Sierra, S., González-López, C., Domingo, E., y Cristina, J. Topology of evolving, mutagenized viral populations: quasispecies expansion, compression, and operation of negative selection. *BMC Evolutionary Biology*, 8:207, 2008.
- Ojosnegros, S., Beerenwinkel, N., Antal, T., Nowak, M., Escarmís, C., y Domingo, E. Competition-colonization dynamics in an RNA virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(5):2108–12, 2010.
- Ojosnegros, S., García-Arriaza, J., Escarmís, C., Manrubia, S. C., Perales, C., Arias, A., Mateu, M. G., y Domingo, E. Viral genome segmentation can result from a trade-off between genetic content and particle stability. *PLoS Genetics*, 7(3):e1001344, 2011.
- Okasha, S. *Evolution and the Levels of Selection*. Oxford University Press, USA, 2009.
- Olson, M. *The logic of collective action: public goods and the theory of groups*. Harvard University Press, 1965.
- Page, K. M. y Nowak, M. A. Unifying evolutionary dynamics. *Journal of Theoretical Biology*, 219(1):93–8, 2002.
- Pariante, N., Sierra, S., Lowenstein, P. R., y Domingo, E. Efficient virus extinction by combinations of a mutagen and antiviral inhibitors. *Journal of Virology*, 75(20):9723–9730, 2001.
- Pariante, N., Airaksinen, A., y Domingo, E. Mutagenesis versus inhibition in the efficiency of extinction of foot-and-mouth disease virus. *Journal of Virology*, 77(12):7131–8, 2003.
- Pariante, N., Sierra, S., y Airaksinen, A. Action of mutagenic agents and antiviral inhibitors on foot-and-mouth disease virus. *Virus Research*, 107(2):183–193, 2005.
- Parker, W. B. Metabolism and antiviral activity of ribavirin. *Virus Research*, 107(2):165–171, 2005.
- Peck, J. R. A ruby in the rubbish: Beneficial mutations, deleterious mutations and the evolution of sex. *Genetics*, 137(2):597–606, 1994.
- Perales, C., Mateo, R., Mateu, M. G., y Domingo, E. Insights into RNA virus mutant spectrum and lethal mutagenesis events: Replicative interference and complementation by multiple point mutants. *Journal of Molecular Biology*, 369(4):985–1000, 2007.
- Perales, C., Agudo, R., Tejero, H., Manrubia, S. C., y Domingo, E. Potential benefits of sequential inhibitor-mutagen treatments of RNA virus infections. *PLoS Pathogens*, 5(11):e1000658, 2009.
- Perales, C., Lorenzo-Redondo, R., Lopez-Galindez, C., Martinez, M. A., y Domingo, E. Mutant spectra in virus behavior. *Future Virology*, 5(6):679–698, 2010.
- Perales, C., Agudo, R., Manrubia, S. C., y Domingo, E. Influence of mutagenesis and viral load on the sustained low-level replication of an RNA virus. *Journal of Molecular Biology*, 407(1):60–78, 2011a.
- Perales, C., Henry, M., Domingo, E., Wain-Hobson, S., y Vartanian, J.-P. Lethal mutagenesis of foot-and-mouth disease virus involves shifts in sequence space. *Journal of Virology*, 85(23):12227–12240, 2011b.
- Peretó, J. Controversies on the origin of life. *International Microbiology*, 8:23 – 31, 2005.

- Pfeiffer, J. K. y Kirkegaard, K. A single mutation in poliovirus RNA-dependent RNA polymerase confers resistance to mutagenic nucleotide analogs via increased fidelity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(12):7289–7294, 2003.
- Pfeiffer, J. K. y Kirkegaard, K. Increased fidelity reduces poliovirus fitness and virulence under selective pressure in mice. *PLoS Pathogens*, 1(2):e11, 2005.
- Pillai, S., Wong, J., y Barbour, J. Turning up the volume on mutational pressure: Is more of a good thing always better? (a case study of HIV-1 Vif and APOBEC3). *Retrovirology*, 5(1):26, 2008.
- Pintó, R. M., Aragonès, L., Costafreda, M. I., Ribes, E., y Bosch, A. Codon usage and replicative strategies of hepatitis A virus. *Virus Research*, 127(2):158–163, 2007.
- Price, G. R. Selection and covariance. *Nature*, 227(5257):520–521, 1970.
- Reidys, C., Forst, C. V., y Schuster, P. Replication and mutation on neutral networks. *Bulletin of Mathematical Biology*, 63(1):57–94, 2001.
- Robertson, M. P. y Joyce, G. F. The origins of the RNA world. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2010.
- Roth, J. R. Frameshift mutations. *Annual Review of Genetics*, 8(1):319–346, 1974.
- Roux, L. Defective Interfering Viruses. In Granoff, A. y Webster, R., editors, *Encyclopedia of virology*, pages 371–375. Academic Press, 1999.
- Roux, L., Simon, A. E., y Holland, J. J. Effects of Defective Interfering Viruses on virus replication and pathogenesis in vitro and in vivo. In Maramorosch, K., Murphy, F. A., y Shatkin, A. J., editors, *Advances in Virus Research*, volume 40, pages 181–211. Academic Press, 1991.
- Ruiz-Jarabo, C. M., Arias, A., Baranowski, E., Escarmís, C., y Domingo, E. Memory in viral quasispecies. *Journal of Virology*, 74(8):3543–3547, 2000.
- Ruiz-Jarabo, C. M., Ly, C., Domingo, E., y de la Torre, J. C. Lethal mutagenesis of the prototypic arenavirus lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV). *Virology*, 308(1):37–47, 2003.
- Ruiz-Mirazo, K., Umeréz, J., y Moreno, A. Enabling conditions for ‘open-ended evolution’. *Biology and philosophy*, 23(1):67–85, 2008.
- Saakian, D. B., Biebricher, C. K., y Hu, C. K. Lethal mutants and truncated selection together solve a paradox of the origin of life. *PLoS One*, 6(7):e21904, 2011.
- Sanjuán, R. Mutational fitness effects in RNA and single-stranded DNA viruses: common patterns revealed by site-directed mutagenesis studies. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1548):1975–1982, 2010.
- Sanjuán, R., Cuevas, J. M., Furió, V., Holmes, E. C., y Moya, A. Selection for robustness in mutagenized RNA viruses. *PLoS Genetics*, 3(6):e93, 2007.
- Sanjuán, R., Nebot, M. R., Chirico, N., Mansky, L. M., y Belshaw, R. Viral mutation rates. *Journal of Virology*, 84(19):9733–9748, 2010.
- Sardanyés, J. y Elena, S. F. Error threshold in RNA quasispecies models with complementation. *Journal of Theoretical Biology*, 265(3):278–286, 2010.
- Sardanyés, J. y Elena, S. F. Quasispecies spatial models for RNA viruses with different replication modes and infection strategies. *PLoS One*, 6(9):e24884, 2011.

- Sardanyés, J., Elena, S. F., y Solé, R. V. Simple quasispecies models for the survival-of-the-flattest effect: The role of space. *Journal of Theoretical Biology*, 250(3):560–8, 2008.
- Sardanyés, J., Solé, R., y Elena, S. Replication mode and landscape topology differentially affect RNA virus mutational load and robustness. *Journal of Virology*, 83(23):12579–89, 2009.
- Sardanyés, J., Martínez, F., Daròs, J.-A., y Elena, S. F. Dynamics of alternative modes of RNA replication for positive-sense RNA viruses. *Journal of The Royal Society Interface*, 9(69):768–776, 2012.
- Sasaki, A. y Iwasa, Y. Optimal growth schedule of pathogens within a host: Switching between lytic and latent cycles. *Theoretical Population Biology*, 39(2):201–239, 1991.
- Sasaki, A. y Nowak, M. A. Mutation landscapes. *Journal of Theoretical Biology*, 224(2):241–247, 2003.
- Schoener, T. W. The newest synthesis: Understanding the interplay of evolutionary and ecological dynamics. *Science*, 331(6016):426–429, 2011.
- Schuster, P. The origin and processing of biological information. In Baltimore, D., Dulbecco, R., Jacob, F., y Levi-Montalcini, L., editors, *Frontiers of Life, Volume I: The origins of life*. Academic Press, 2001.
- Schuster, P. Mathematical modeling of evolution. solved and open problems. *Theory in biosciences*, 2010.
- Schuster, P. Lethal mutagenesis, error thresholds, and the fight against viruses: Rigorous modeling is facilitated by a firm physical background. *Complexity*, 17(2):5–9, 2011.
- Schuster, P. y Fontana, W. Chance and necessity in evolution: lessons from RNA. *Physica D*, 133(1-4):427–452, 1999.
- Schuster, P. y Stadler, P. F. Early replicons: Origin and evolution. In Domingo, E., Parrish, C., y Holland, J. J., editors, *Origin and Evolution of Viruses*, pages 1–42. Elsevier, Oxford, 2008.
- Schuster, P. y Swetina, J. Stationary mutant distributions and evolutionary optimization. *Bulletin of Mathematical Biology*, 50(6):635–60, 1988.
- Schuster, S., Kreft, J. U., Brenner, N., Wessely, F., Theissen, G., Ruppin, E., y Schroeter, A. Cooperation and cheating in microbial exoenzyme production - theoretical analysis for biotechnological applications. *Biotechnology Journal*, 5(7):751–8, 2010.
- Sella, G. U. Y. y Lachmann, M. On the dynamic persistence of cooperation: How lower individual fitness induces higher survivability. *Journal of Theoretical Biology*, 206(4):465–485, 2000.
- Shannon, C. E. y Weaver, W. *The Mathematical Theory of Communication*. University of Illinois Press, Urbana, 1949.
- Sierra, M., Airaksinen, A., Gonzalez-Lopez, C., Agudo, R., Arias, A., y Domingo, E. Foot-and-mouth disease virus mutant with decreased sensitivity to ribavirin: implications for error catastrophe. *Journal of Virology*, 81(4):2012–24, 2007.
- Sierra, S., Davila, M., Lowenstein, P. R., y Domingo, E. Response of foot-and-mouth disease virus to increased mutagenesis: influence of viral load and fitness in loss of infectivity. *Journal of Virology*, 74(18):8316–23, 2000.

- Simon, A. E., Roossinck, M. J., y Havelda, Z. Plant virus satellite and defective interfering RNAs: New paradigms for a new century. *Annual Review of Phytopathology*, 42(1):415–437, 2004.
- Smith, J. Models of the evolution of altruism. *Theoretical Population Biology*, 18(2):151–159, 1980.
- Smith, J. M. y Price, G. R. The logic of animal conflict. *Nature*, 246(5427):15–18, 1973.
- Stadler, P. F. Dynamics of autocatalytic reaction networks IV: Inhomogeneous replicator networks. *Biosystems*, 26(1):1–19, 1991.
- Steinmeyer, S. H. y Wilke, C. O. Lethal mutagenesis in a structured environment. *Journal of Theoretical Biology*, 261(1):67–73, 2009.
- Stich, M., Briones, C., y Manrubia, S. C. Collective properties of evolving molecular quasispecies. *BMC Evolutionary Biology*, 7(1):110, 2007.
- Stich, M., Lazaro, E., y Manrubia, S. C. Phenotypic effect of mutations in evolving populations of RNA molecules. *BMC Evolutionary Biology*, 10(1):46, 2010.
- Summers, J. y Litwin, S. Examining the theory of error catastrophe. *Journal of Virology*, 80(1): 20–26, 2006.
- Swetina, J. y Schuster, P. Self-replication with errors : A model for polynucleotide replication. *Biophysical Chemistry*, 16(4):329–345, 1982.
- Szathmáry, E. Natural selection and dynamical coexistence of defective and complementing virus segments. *Journal of Theoretical Biology*, 157(3):383–406, 1992.
- Szathmáry, E. y Smith, J. The major evolutionary transitions. *Nature*, 374(6519):227–32, 1995.
- Takeuchi, N. y Hogeweg, P. Error-threshold exists in fitness landscapes with lethal mutants. *BMC Evolutionary Biology*, 7(15), 2007. A response to Wilke C. O: Quasispecies theory in the context of population genetics, *BMC Evolutionary Biology* 2005, 5:44.
- Takeuchi, N., Poorthuis, P., y Hogeweg, P. Phenotypic error threshold; additivity and epistasis in RNA evolution. *BMC Evolutionary Biology*, 5(1):9, 2005.
- Tannenbaum, E. y Shakhnovich, E. I. Solution of the quasispecies model for an arbitrary gene network. *Physical review. E, Statistical, nonlinear, and soft matter physics*, 70(2 Pt 1):021903, 2004.
- Tejero, H., Marín, A., y Montero, F. Effect of lethality on the extinction and on the error threshold of quasispecies. *Journal of Theoretical Biology*, 262(4):733–41, 2010.
- Travisano, M. y Velicer, G. J. Strategies of microbial cheater control. *Trends in Microbiology*, 12(2): 72–8, 2004.
- Turner, P. E. y Chao, L. Sex and the evolution of intrahost competition in rna virus $\phi 6$. *Genetics*, 150 (2):523–532, 1998.
- Turner, P. E. y Chao, L. Prisoner's dilemma in an RNA virus. *Nature*, 398(6726):441–443, 1999.
- Turner, P. E. y Chao, L. Escape from prisoner's dilemma in RNA phage $\phi 6$. *The American Naturalist*, 161(3), 2003.
- Turner, P. E., Burch, C. L., Hanley, K. A., y Chao, L. Hybrid frequencies confirm limit to coinfection in the rna bacteriophage $\phi 6$. *Journal of Virology*, 73(3):2420–2424, 1999.

- van Nimwegen, E., Crutchfield, J. P., y Huynen, M. Neutral evolution of mutational robustness. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96:9716–9720, 1999.
- Velicer, G. J. Social strife in the microbial world. *Trends in Microbiology*, 11(7):330–7, 2003.
- Vignuzzi, M. y Andino, R. Biological implications of picornavirus fidelity mutants. In Ehrenfeld, E., Domingo, E., y Roos, R., editors, *The Picornaviruses*. ASM Press, 2010.
- Vignuzzi, M., Stone, J. K., Arnold, J. J., Cameron, C. E., y Andino, R. Quasispecies diversity determines pathogenesis through cooperative interactions in a viral population. *Nature*, 439(7074): 344–348, 2006.
- Waddington, C. H. Canalization of development and the inheritance of acquired characters. *Nature*, 150:563–565, 1942.
- Wagner, G. P. y Krall, P. What is the difference between models of error thresholds and muller's ratchet? *Journal of Mathematical Biology*, 32(1):33–44, 1993.
- Wakano, J. Y. y Hauert, C. Pattern formation and chaos in spatial ecological public goodsgames. *Journal of Theoretical Biology*, 268(1):30–8, 2011.
- Wakano, J. Y., Nowak, M. A., y Hauert, C. Spatial dynamics of ecological public goods. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(19):7910–4, 2009.
- Whitaker-Dowling, P. y Youngner, J. S. Viral interference-dominance of mutant viruses over wild-type virus in mixed infections. *Microbiology Reviews*, 51(2):179–91, 1987.
- Wilke, C. y Novella, I. Phenotypic mixing and hiding may contribute to memory in viral quasispecies. *BMC Microbiology*, 3(1):11, 2003.
- Wilke, C. O. Selection for fitness versus selection for robustness in RNA secondary structure folding. *Evolution*, 55(12):2412–20, 2001.
- Wilke, C. O. Quasispecies theory in the context of population genetics. *BMC Evolutionary Biology*, 5(44), 2005.
- Wilke, C. O. y Adami, C. Evolution of mutational robustness. *Mutation Research*, 522(1-2):3–11, 2003.
- Wilke, C. O., Wang, J. L., Ofria, C., Lenski, R. E., y Adami, C. Evolution of digital organisms at high mutation rates leads to survival of the flattest. *Nature*, 412(6844):331–333, 2001.
- Wolff, A. y Krug, J. Robustness and epistasis in mutation-selection models. *Physical Biology*, 6(3): 036007, 2009.
- Woodcock, G. y Higgs, P. G. Population evolution on a multiplicative single-peak fitness landscape. *Journal of Theoretical Biology*, 179(1):61–73, 1996.
- Youngner, J. S. y Whitaker-Dowling, P. Interference. In Granoff, A. y Webster, R., editors, *Encyclopedia of virology*, pages 850–854. Academic Press, 1999.
- Yuste, E., Moya, A., y López-Galíndez, C. Frequency-dependent selection in human immunodeficiency virus type 1. *Journal of General Virology*, 83(1):103–106, 2002.
- Zeldovich, K. B., Chen, P., y Shakhnovich, E. I. Protein stability imposes limits on organism complexity and speed of molecular evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(41):16152–7, 2007.