

Índice

Agradecimientos	8
Prólogo	22
Resumen / Resum / Abstract	26
1. Introducción	44
1. Introducción al mundo de los virus.	46
2. Clasificación de los virus.	47
3. Virus de ARN.	49
3.1 Arquitectura del genoma.	49
3.2 Ciclo de vida.	52
3.3 La familia <i>Potyviridae</i> .	56
4. Mutaciones como fuente de adaptación y evolución.	62
4.1 Estimaciones de la tasa de mutación de los virus.	63
4.2 Interacciones entre mutaciones.	65
5. Los paisajes adaptativos de eficacia.	67

2. Objetivos	80
3. Material y métodos	86
1. Generación de clones infecciosos de TEV.	88
1.1 Origen.	88
1.2 Vector plasmídico.	88
1.3 Generación de los clones por mutagénesis dirigida.	90
1.3.1 Mutagénesis dirigida.	91
1.3.2 Genotipos de virus.	93
1.4 Generación de los clones por evolución mediante pases seriados en <i>Arabidopsis thaliana</i> .	95
1.4.1 Evolución mediante pases seriados.	95
1.4.2 Generación de los clones por preparación de una población clonal inicial de TEV.	97
2. Hospedadores. Condiciones de crecimiento e inoculación.	97
2.1 <i>Nicotiana tabacum</i> var. Xanthi.	98
2.2 <i>Arabidopsis thaliana</i> ecotipo Ler-0.	101
2.3 <i>Chenopodium quinoa</i> .	102

3. Purificación, cuantificación de la carga viral y secuenciación del ARN genómico del virus.	105
4. Evaluación de la eficacia y análisis estadísticos.	108
4.1 Eficacia relativa.	109
4.2 Análisis estadísticos.	110
5. Paisajes de eficacia.	113
5.1 Representación de los paisajes de eficacia.	113
5.2 Evaluación de la robustez del paisaje de eficacia.	114
5.3 Cálculo de la epistasia.	116
6. Análisis transcriptómico.	118
6.1 Hibridación de micromatrices.	118
6.2 Análisis de genes expresados diferencialmente.	119
6.3 Análisis funcional a partir de los listados de genes.	120
6.4 Validación de la expresión génica mediante RT-qPCR.	122

4. Resultados y discusión _____ 126

Capítulo 1. Las poblaciones de virus de ARN pueden escapar eficientemente de un óptimo local de eficacia. _____ 128

- 1. Paralelismo y divergencia en la eficacia. _____ 132
- 2. Contribuciones de la selección, la casualidad y la historia al resultado de la evolución. _____ 133
- 3. Diversificación genotípica. _____ 137
- 4. Discusión. _____ 141

Capítulo 2. Efecto de la especie huésped en la topografía del paisaje de eficacia para un virus vegetal de ARN. _____ 144

- 1. Correlaciones físicas y pleiotropía entre los huéspedes. _____ 149
- 2. Diferencias en la epistasia del paisaje entre los huéspedes. _____ 152
- 3. Relación entre la pleiotropía antagonista y las interacciones epistáticas. _____ 158
- 4. Discusión. _____ 159

Capítulo 3. Cambios en la eficacia debidos a la variación genética dentro de una población clonal de un virus de ARN. _____ 166

1. La eficacia promedio de los subclones no predice la eficacia de toda la población clonal de forma temprana. _____ 170
2. Las diferencias en la eficacia entre los subclones y la población clonal desaparecen después de largos períodos de replicación. _____ 172
3. Discusión. _____ 173

Capítulo 4. Factores del huésped *N. tabacum* que determinan la eficacia viral de TEV. _____ 180

1. Las diferencias en la eficacia están asociadas a diferencias en los perfiles transcriptómicos del huésped. _____ 185
2. El número y categoría funcional de los genes dependen de la eficacia viral. _____ 194
3. Correlación entre la expresión génica y la eficacia viral. _____ 203
4. Validación de los valores de expresión normalizados para ocho genes mediante RT-qPCR. _____ 207
5. Discusión. _____ 216

5. Conclusiones _____ **228**

6. Publicaciones _____ **234**

7. Referencias _____ **238**

Índice