

Indagando aspectos evolutivos con filogenias: reloj molecular y otras técnicas útiles en biología comparada

Researching evolutionary aspects with phylogenies: molecular clock and other useful techniques in comparative biology

Carlos Luis Leopardi-Verde¹ y Guadalupe Jeanett Escobedo-Sarti^{1,2}

Fecha de recepción: 4 de diciembre de 2020

Fecha de aceptación: 6 de enero de 2021

Resumen - El primer paso para los estudios evolutivos suele ser establecer una hipótesis de relaciones entre los miembros del grupo de estudio. Luego de esto hay una amplia gama de posibilidades, según el interés del investigador. Esta contribución presenta las generalidades de algunas de las metodologías más utilizadas en los estudios macroevolutivos: el reloj molecular y la reconstrucción de caracteres ancestrales. También se ofrece información sobre otras técnicas útiles para estudios comparados que utilizan un marco de trabajo filogenético, como son la estimación de señal filogenética, los contrastes independientes, la descomposición ortonormal y el análisis de componentes principales filogenético.



Palabras clave: Evolución de caracteres, señal filogenética, macroevolución, máxima parsimonia, máxima verosimilitud.

Abstract - The first step for evolutionary studies is usually to establish a hypothesis of relationships between members of the study group. After this, there is a wide range of possibilities depending on the researcher's interest. This contribution presents the generalities of some of the methodologies most commonly used in macroevolutionary studies: the molecular clock and the reconstruction of ancestral characters. Information on other useful techniques for comparative studies that use a phylogenetic framework is also presented, such as phylogenetic signal estimation, independent contrasts, orthonormal decomposition, and phylogenetic principal component analysis.



Keywords: Character evolution, phylogenetic signal, macroevolution, maximum parsimony, maximum likelihood.

¹ Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima. Km. 40 Autopista Colima-Manzanillo, cruce de Tecmán, Tecmán, Colima, México, C.P. 28930. *email: cleopardi@ucol.mx ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5172-5114>

² ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4901-971X>

Introducción

Las comparaciones en temas de evolución, entre otras cosas, procuran elucidar los patrones que ha seguido la vida a través de su historia (Harvey & Pagel, 1991). La base para este tipo de investigaciones es el establecimiento de una hipótesis de ancestría entre los taxa investigados, una filogenia. Sin embargo, esto es sólo el inicio, pues a partir de la hipótesis, y con el uso de metodologías auxiliares, se pueden plantear preguntas más profundas o fijar metas más ambiciosas, como pueden ser generar un marco temporal de trabajo (p. e. Sauquet *et al.*, 2017; Schneider *et al.*, 2004).

Incluso es posible ir más allá e investigar cómo ha sido la evolución de un carácter (p. e. Gómez-Acevedo, Rico-Arce, Delgado-Salinas, Magallón & Eguiarte, 2010; Silvera, Santiago, Cushman & Winter, 2009), qué relación tiene dicha evolución con variaciones climáticas o lo que se desee (p. e. Evans, Smith, Flynn & Donoghue, 2009; Yesson & Culham, 2006). También se pueden abordar temas de investigación que planteen elucidar si hay varios caracteres que están evolucionando de manera coordinada (Adams, 2010; Polly, Lawing, Fabre & Goswami, 2013; Serb, Alejandrino, Otárola-Castillo & Adams, 2011), entre muchas más alternativas. Por eso, en esta contribución se presentan los aspectos generales de algunas de las metodologías complementarias en el estudio de la evolución: el reloj molecular y la reconstrucción de estados ancestrales de caracteres. Del mismo modo, se incluyen algunos de los métodos que se han desarrollado recientemente para la búsqueda de patrones evolutivos, como los contrastes independientes, el análisis filogenético de componentes principales y la descomposición ortonormal. En otro manuscrito se exponen las generalidades acerca de las filogenias y los métodos para construirlas.

El reloj molecular

La idea original del reloj molecular supone que los cambios en el ADN (las mutaciones) se acumulan a una tasa aproximadamente constante en el tiempo evolutivo (Battistuzzi, Filipinski & Kumar, 2011). La propuesta de que la evolución ocurre a una tasa aproximadamente constante a lo largo del tiempo fue planteada a principios de los años 60, de manera independiente por Margoliash (1963), utilizando la enzima Citocromo C, y por Zuckerkandl & Pauling (1965) usando globinas.

Motoo Kimura propuso que en el ADN hay mutaciones que pueden tener un efecto funcional ventajoso, deletéreo (mortal) o neutral para la población; por ello, desde un punto de vista selectivo, las mutaciones no tienen el mismo comportamiento. Aquellas mutaciones con efectos deletéreos son eliminadas rápidamente por selección, mientras que las que son ventajosas pueden perderse por deriva génica o ser fijadas por selección. Las mutaciones que no tienen un impacto funcional (las neutrales o casi neutrales), al estar libres de la acción de la selección pueden variar libremente (incrementando o disminuyendo su frecuencia) por la deriva génica. Según la teoría de Kimura, aunque muchas de estas mutaciones neutrales se pierden, también muchas otras se fijan en el genoma y por lo mismo tienden a ser las que más influyen en la tasa de evolución (Herron & Freeman, 2014; Ohta, 2013).

La velocidad a la que evoluciona cada región del ADN no es igual. Aquellas regiones que tienen fuertes presiones selectivas, como por ejemplo la que codifica para la enzima que fija el carbono en el ciclo de Calvin, la

ribulosa-1,5-bifosfato-carboxilasa/oxigenasa (RuBisCo), tenderán a acumular pocas mutaciones detectables; mientras las regiones que suelen tener menores presiones selectivas, como los espaciadores intergénicos (ITS, ETS) pueden acumular grandes cantidades de cambios en menor tiempo (Soltis & Soltis, 1999). Por ello, como la tasa de evolución no es constante a lo largo de todo el genoma y entre todos los grupos, el reloj molecular ha evolucionado y se ha diversificado.

De manera general, para fechar un evento de divergencia con los métodos modernos de reloj molecular se necesita: (i) obtener las distancias genéticas entre los taxa bajo análisis; para uno o varios de ellos debe existir un estimado de la edad aproximada, información que normalmente se obtiene de fósiles; (ii) se debe calcular la tasa de sustitución; (iii) se debe utilizar la tasa calculada en el paso anterior para convertir las distancias genéticas entre los taxa de interés en estimados de sus edades (Renner, 2005). Las sustituciones son mutaciones del ADN en las que una base es remplazada por otra diferente; a la velocidad con la que ocurre este proceso se le denomina tasa de sustitución y se calcula en función del modelo de sustitución seleccionado (Vandamme, 2009).

Como cualquier técnica, el reloj molecular no es perfecto. Según Sanderson, Thorne, Wikström & Bremer (2004), Renner (2005) y Rutschmann (2006), algunas fuentes de error que pueden incidir en los resultados son: (i) especificaciones erróneas de las distancias genéticas; (ii) topologías incorrectas; (iii) modelo inadecuado de evolución; (iv) uso de pocos puntos de calibración; (v) uso del tipo de reloj incorrecto; (vi) presencia de parálogos que pueden introducir sesgo en la reconstrucción de las relaciones históricas. Los parálogos son genes relacionados vía duplicación, pero que normalmente evolucionan de manera independiente entre sí y por lo tanto no son útiles para rehacer la historia de un linaje. En oposición existen los ortólogos, que son aquellas copias de un gen que se originan de un único gen ancestral en el antepasado común de los genomas comparados y cuya evolución se mantiene vinculada, por lo que permiten establecer hipótesis de relaciones ancestro-descendiente entre linajes (Koonin, 2005).

Entre todos los elementos previos, uno de los pasos clave en el fechaje de las relaciones ancestro-descendiente es seleccionar el tipo más apropiado de reloj molecular. Existen dos tipos básicos: los que suponen una tasa global de sustitución (reloj molecular estricto) y los que asumen heterogeneidad en las tasas de sustitución (reloj molecular relajado). En el Cuadro 1 se presenta una comparación de los principales métodos, agrupados en función del tipo de datos de entrada y el método de optimización. En Welch & Bromham (2005), así como en Rutschmann (2006) hay otros métodos que no fueron incluidos aquí.

Cuadro 1.

Comparación de los diferentes métodos utilizados para fechar con reloj molecular utilizando como base el tipo de datos de entrada. Las técnicas se organizaron conforme a los datos de entrada y el método de optimización.

DATOS DE ENTRADA	MÉTODO DE OPTIMIZACIÓN	NOMBRE DEL MÉTODO Y AUTORES	OBSERVACIONES
Matriz de distancia		Regresión lineal (Nei, 1987; Li & Graur, 1991)	Presupone una tasa fija de evolución, por lo que es útil sólo si se cumple la hipótesis de reloj molecular estricto.

DATOS DE ENTRADA	MÉTODO DE OPTIMIZACIÓN	NOMBRE DEL MÉTODO Y AUTORES	OBSERVACIONES
Filograma		Media de la longitud del camino (Bremer & Gustafsson, 1997)	El algoritmo original sólo permite un punto de calibración ubicado en la raíz del árbol. La generalización de este método (PATHd8) permite el uso de múltiples puntos de calibración y la variación de las tasas de sustitución entre los nodos. Por la forma como trabaja es útil en filogenias grandes. Está implementado en un software del mismo nombre PATHd8 (Britton, Anderson, Jacquet, Lundqvist & Bremer, 2007).
Secuencias topología	Máxima verosimilitud (ML).	Hay varios, algunos de los más populares son: Suavizado de tasa no paramétrico (NPRS por sus siglas en inglés) (Sanderson, 1997), verosimilitud penalizada (PL, por sus siglas en inglés) (Sanderson, 2002)	En estos métodos se utiliza un suavizado estadístico y la autocorrelación para determinar las edades de los nodos. Están implementados en el software r8s (Sanderson, 2003).
	Máxima verosimilitud (ML).	ML con reloj (Felsenstein, 1981)	Es un método lento, pero popular, puede ser muy eficiente si cuenta con una topología idónea y la longitud de ramas es correcta. Está implementado en software como PAUP*, PhyML, entre otros.
	Inferencia bayesiana (IB)	Estimación bayesiana con reloj relajados (Aris-Brosou & Yang, 2002).	Aunque no es un método popular, es interesante porque conjuga tasas de autocorrelación (como el PL) con un modelo explícito de especiación y extinción de linajes, algo que es desarrollado mejor en otros algoritmos. Está implementado en el software PhyBayes (Aris-Brosou & Yang, 2002).
Secuencias de ADN	Análisis bayesianos	Hay varios: reloj molecular local (Drummond <i>et al.</i> , 2006), así como los modelos de tasa variable (Suchard <i>et al.</i> , 2018).	En estos relojes la filogenia es calculada de manera simultánea con el reloj, por lo que se disminuyen los errores asociados a la topología del árbol. En general son métodos flexibles en los que se implementa una amplia variedad de modelos de evolución. Están implementados en el programa BEAST y actualmente son los más utilizados.
Modificado y actualizado de Rutschmann, 2006.			

Entre todos los métodos que se presentan en el Cuadro 1, el más simple y de alguna manera el que expresa la idea más elemental del reloj molecular es el método basado en la matriz de distancias genéticas, el cual ocupa como algoritmo para estimar los tiempos de divergencia una regresión lineal y la idea subyacente es que si el árbol es ultramétrico, las distancias nodales pueden ser convertidas fácilmente en tiempos de divergencia (Rutschmann, 2006). Debido a que estos cálculos pueden hacerse con cualquier software estadístico, esta aproximación -que fue una de las primeras- gozó de gran aceptación.

También se advertirá en el Cuadro 1 que las técnicas para la estimación del reloj molecular se han vuelto cada vez más complejas y demandantes de equipos de cómputo. Esto está relacionado con el hecho de que en la mayoría de las matrices con datos moleculares lo común es la heterogeneidad de las tasas de evolución entre los linajes incluidos (Lartillot, Phillips & Ronquist, 2016).

Así, de acuerdo con Rutschmann (2006), si el grupo de organismos con el que se está trabajando tiene tasas heterogéneas de evolución, no es conveniente utilizar métodos basados en el reloj estricto (como la regresión lineal, Cuadro 1), sino que es más adecuado el uso de métodos que corrigen o incorporan la heterogeneidad de las tasas de sustitución a los cálculos. De hecho, este tipo de métodos actualmente son los que han cobrado mayor fuerza y se están desarrollando muy activamente.

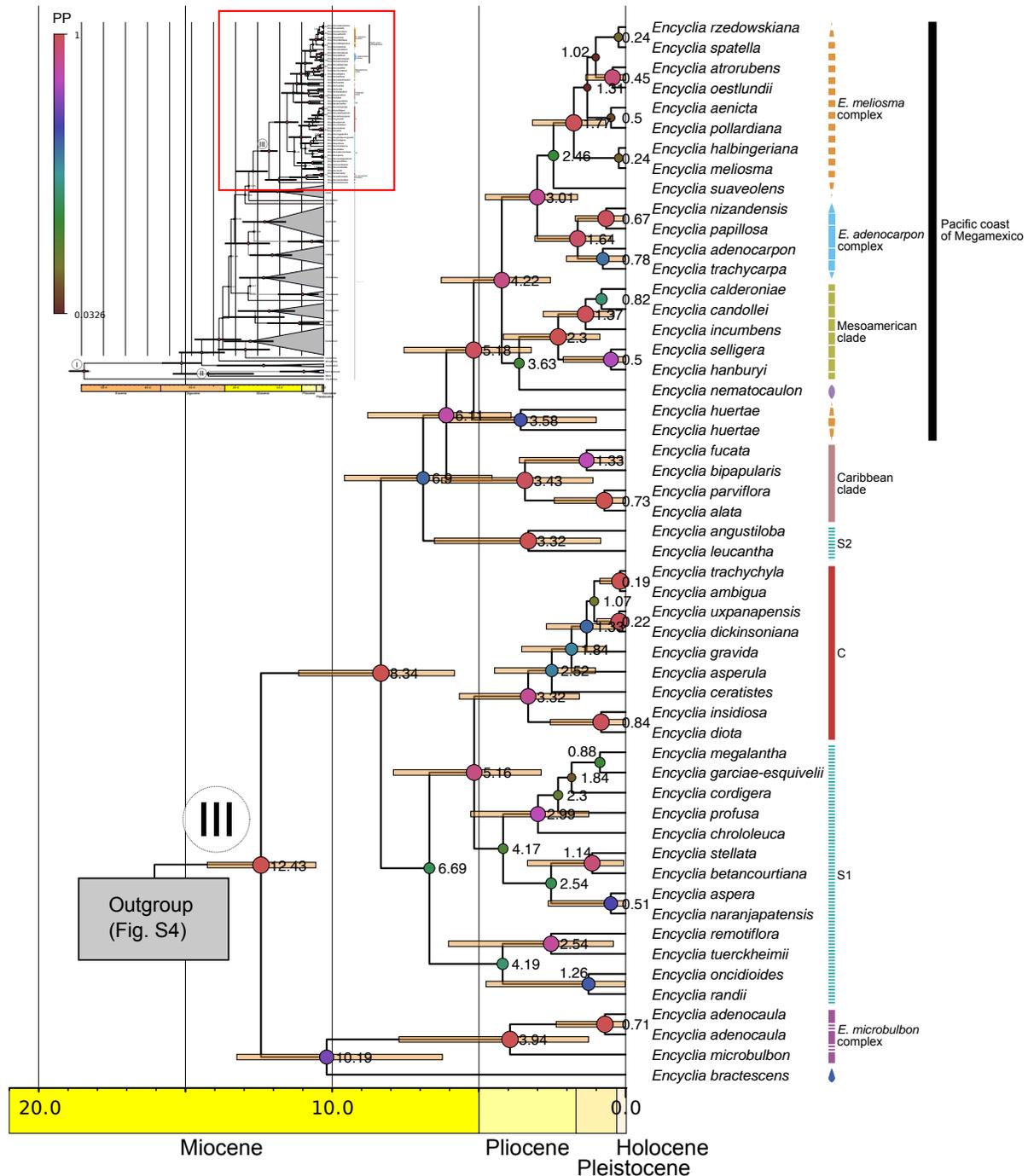
Los nuevos métodos acomodan la heterogeneidad basándose en especificaciones que indican cómo las tasas cambian entre los linajes (Drummond, Ho, Phillips & Rambaut, 2006). Una de las maneras de lograr esto es a través de las tasas autocorrelación temporal; otra es con el uso de distribuciones compuestas de Poisson (Rutschmann, 2006). La primera aproximación es más popular que la segunda en el diseño de los métodos; sin embargo, la segunda, al estar enmascarada en los distintos algoritmos de fechaje incluidos en el programa "Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Trees" (BEAST), ha crecido mucho en uso. Un elemento común a todos los métodos de fechaje que no asumen una tasa de cambio constante es que intentan minimizar las discrepancias entre las longitudes de rama y las tasas de cambio en las ramas (Rutschmann, 2006).

En los métodos mencionados en el Cuadro 1, los que emplean tasas variables normalmente se asocian a una implementación que utiliza para las estimaciones inferencia bayesiana y el método de Monte Carlo, basado en cadenas de Markov (MCMC). En estos métodos se calculan las probabilidades posteriores junto con las tasas y tiempos (Drummond & Suchard, 2010). Las innovaciones de este método con respecto a los previos incluyen características como la capacidad de estimación de parámetros (no necesariamente todos deben ser no especificados), la correlación entre las tasas de ramas adyacentes puede ser probada; además, no se requiere una topología previa, lo que permite manejar la incertidumbre filogenética. Por otro lado, sobre esta base se han desarrollado variantes para incrementar la flexibilidad en el análisis: acorde con las especificaciones que se proporcione al modelo se puede probar sobre cada rama del árbol un reloj molecular estricto, relajado e incluso uno mixto (Drummond & Suchard, 2010; Lartillot *et al.*, 2016).

El reloj molecular tiene múltiples aplicaciones que van desde el fechaje de eventos, como por ejemplo la aparición de las angiospermas u otros linajes (Figura 1) (p. e. Barba-Montoya, dos Reis, Schneider, Donoghue & Yang, 2018; Leopardi-Verde, Carnevali & Romero-González, 2017; Magallón, Gómez-Acevedo, Sánchez-Reyes & Hernández-Hernández, 2015), estudios de evolución de caracteres de diversa índole (Schneider *et al.*, 2004; Schultz & Brady, 2008), estudios biogeográficos (Renner, 2005; Sanderson *et al.*, 2004), entre otros. Si bien es necesario tener en cuenta que ninguno de estos métodos es perfecto, no cabe duda de que permiten inferir sucesos del pasado y que tienen la capacidad de ayudar a entender la historia.

Figura 1.

Extracto de un cronograma de los Laeliinae (Orchidaceae) con énfasis en *Encyclia* Hook. El número romano indica uno de los puntos de calibración (III, MRCA *Encyclia*). Los números en los nodos señalan las edades estimadas en millones de años, las barras muestran el intervalo de confianza de 95 % y los círculos de color indican la probabilidad posterior de acuerdo con la escala que se encuentra en la esquina superior derecha. Tomado de Leopardi-Verde *et al.*, 2017.



Evolución de caracteres

Un carácter o atributo puede definirse como cualquier diferencia entre dos grupos de organismos, que puede ser utilizada para “caracterizar” o distinguirlos (Wagner, 2001). Este concepto es intuitivo a cualquiera de las actividades de la vida cotidiana y es una parte esencial de la biología comparada, que tiene por función analizar y capturar los patrones biológicos y elaborar teorías sobre los procesos que podrían explicarlos (Eldredge & Cracraft, 1980).

Una herramienta importante para comprender la evolución de un grupo cualquiera de organismos es estudiar la evolución de aquellos caracteres que podrían ser innovaciones clave o que se suponga que puedan tener alguna importancia evolutiva. La evolución de un carácter es el proceso por el cual un atributo evoluciona a lo largo de las ramas de una filogenia (Gupta, Mañuch, Stacho & Zhu, 2004).

Actualmente hay tres vías para reconstruir la historia evolutiva de un carácter. La primera es con el uso de máxima parsimonia, la cual sugiere que la mejor explicación de los datos es la que involucra la menor cantidad de cambios evolutivos (Swofford & Sullivan, 2009). Como características positivas pueden mencionarse el que suele ser una buena aproximación a los estados ancestrales, es intuitivo, está implementado en un número importante de programas y trabaja con caracteres polimórficos; no obstante, funciona bien sólo a tasas bajas de evolución, subestima el número total de cambios y no ofrece información sobre la incertidumbre de los procesos de transición de estados de carácter. En la Figura 2 se muestra un ejemplo de una reconstrucción de caracteres ancestrales utilizando como modelo sistemas sexuales en la familia *Bromeliaceae*, note que las ramas tienen sólo el color que corresponde al estado más parsimonioso. Este método está implementado en el programa Mesquite (Maddison & Maddison, 2019) (ver Figura 2).

La segunda alternativa es con el uso de métodos probabilísticos, que en general asumen que los cambios entre los estados de carácter siguen un proceso markoviano, como el descrito por Lewis (2001). Entre los aspectos positivos de este modelo destaca el que la probabilidad de cambio en cualquier punto a lo largo de alguna rama en un árbol filogenético depende sólo del estado de carácter actual y no de estados anteriores, se pueden asignar o calcular la tasa de cambio de un carácter y combinarla con información como la longitud de ramas.

La mayor debilidad de estos modelos es que dan por sentado que las longitudes de rama del árbol filogenético y la topología son conocidas con certeza (Paradis, 2012). En la Figura 3 se muestra el ejemplo de una reconstrucción de caracteres ancestrales utilizando un método probabilístico con los mismos datos de sistemas sexuales en la familia *Bromeliaceae*, note que en los nodos se incluye un diagrama de pastel en el que se representa la probabilidad de cada estado de carácter en cada nodo y por lo mismo ofrece una medida de la incertidumbre en la reconstrucción de los estados ancestrales. Si se comparan las Figuras 2 y 3 se observará que, aunque reflejan un patrón similar, al contar con una medida de incertidumbre en la reconstrucción de los estados ancestrales la Figura 3 brinda un panorama más completo para hacer la interpretación del resultado.

Figura 2.

Filogenia de la familia *Bromeliaceae* sobre la que se reconstruye la evolución del síndrome de polinización utilizando máxima parsimonia. Figura elaborada en Mesquite con datos de Escobedo-Sarti *et al.* (2013) y Aguilar-Rodríguez *et al.* (2019).

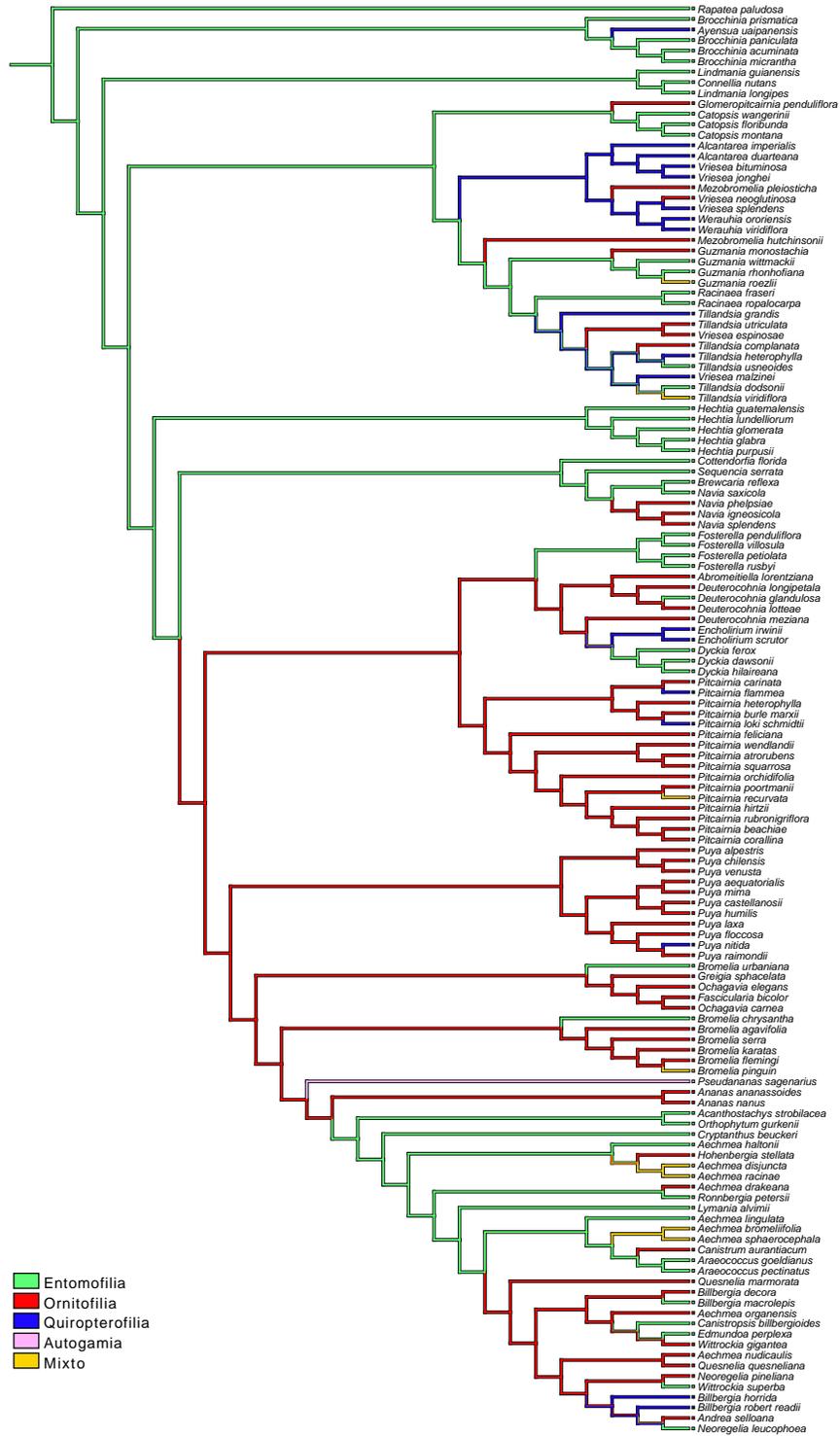
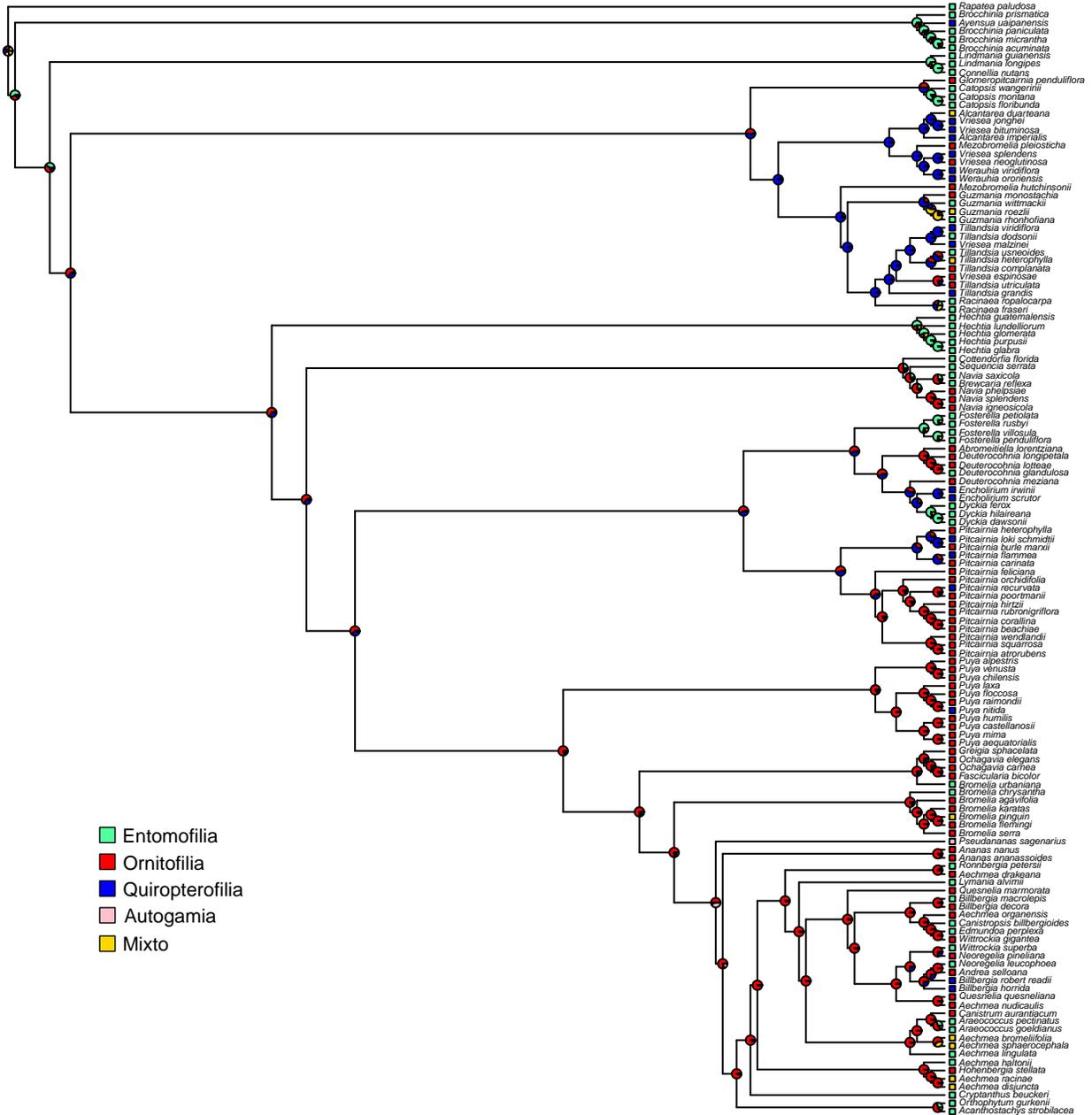


Figura 3.

Filogenia de la familia *Bromeliaceae* sobre la que se reconstruye la evolución del síndrome de polinización utilizando máxima parsimonia. Figura elaborada en Mesquite con datos de Escobedo-Sarti *et al.* (2013) y Aguilar-Rodríguez *et al.* (2019).



En los modelos probabilísticos hay dos implementaciones básicas: Mk1 y AsymmK. El Mk1 es un modelo que aplica sólo para caracteres discretos y puede trabajar con caracteres polimórficos. En este modelo todas las transiciones son igualmente probables y sólo tiene un parámetro: la tasa de cambio (Maddison & Maddison, 2019; Paradis, 2012).

El modelo AsymmK es una modificación del Mk1 que incluye un parámetro de aleatoriedad. Este modelo sólo puede ser aplicado a caracteres continuos, aunque puede trabajar con caracteres binarios. Se caracteriza por sus tasas de cambio diferenciales: una hacia adelante y otra para las reversiones. Tanto el Mk1 como el AsymmK están implementados en los programas Mesquite y en paquetes de R (Harmon, Weir, Brock, Glor & Challenger, 2008; Maddison & Maddison, 2019; Paradis, Claude & Strimmer, 2004; R Core Team, 2020).

Adicionalmente, se ha propuesto el uso de métodos bayesianos para reconstruir la historia de un carácter; la mayor diferencia con los modelos de máxima probabilidad es que se calculan las probabilidades posteriores para la transición de los caracteres. La implementación más conocida de este método está en BayesTraits.³

La tercera alternativa para hacer una reconstrucción de caracteres es con el uso del mapeo estocástico, que puede considerarse como una representación de la historia del carácter en la filogenia (Bollback, 2006). La principal característica de este método es que no considera fijo un estado a lo largo de una rama; por el contrario, explora las historias posibles, lo que permite tener una hipótesis de los cambios a lo largo de las ramas. Por el momento este método únicamente se puede utilizar con caracteres discretos. Si se desea explorar, este método se encuentra en el programa SIMMAP (Bollback, 2006) y en el paquete Phylogenetic Tools for comparative biology (and other things) (phytools) de R (Revell, 2012).

Los métodos disponibles para hacer reconstrucciones de caracteres ancestrales suelen ser intuitivos y para que la interpretación tenga sentido hay cuatro aspectos a considerar: (i) es necesario conocer toda la información disponible sobre la historia de vida de los organismos a estudiar, de lo contrario es complicado interpretar el resultado de la reconstrucción de la evolución del carácter de interés; (ii) el carácter estudiado debe tener señal filogenética, que es la dependencia de los caracteres y los grupos de especies en que se presentan (Paradis, 2012). En otras palabras, se dice que si un carácter se presenta aleatoriamente en grupos no relacionados carece de señal filogenética; (iii) es conveniente conocer un estimado de la tasa de evolución del carácter; (iv) la elección del método puede ser importante. De hecho, Xiang & Thomas (2008) encontraron que el impacto que el método puede tener sobre la reconstrucción de un carácter depende precisamente de la naturaleza de dicho carácter, pues para aquellos sin homoplasia, sin polimorfismos y sin datos faltantes, la reconstrucción de los estados ancestrales es consistente entre todos los métodos. Pero cuando los caracteres no son "perfectos", cada método trata con la incertidumbre de una forma diferente, por lo que el patrón general es que en los nodos de la filogenia con poco soporte la reconstrucción tenderá a ser incongruente entre los métodos.

Se debe considerar que, para hacer comparaciones adecuadas entre caracteres utilizando un marco de trabajo filogenético, en primera instancia es necesario realizar una diagnosis de los caracteres y sólo luego es que se establecen las comparaciones a que haya lugar. La diagnosis consiste en determinar qué asociación tiene la filogenia con las diferencias observadas entre los taxa (señal filogenética). En este sentido, el problema de la asociación de los caracteres con la filogenia tiene que ver con la independencia de los datos, que a su vez está en íntima relación con la jerarquía que hay en las filogenias y con el supuesto de que los organismos que son filogenéticamente cercanos suelen ser similares (Gittleman & Luh, 1992; Harvey & Pagel, 1991).

³ Disponible en <http://www.evolution.rdg.ac.uk/>

La señal filogenética de un carácter es una consecuencia directa de la evolución de los caracteres y su forma dependerá de los mecanismos evolutivos involucrados en la historia de los que se hallen bajo análisis. Estadísticamente, la señal filogenética es la presencia de covarianza entre especies o, en otras palabras, es la no independencia de caracteres (Paradis, 2012). En la misma publicación se menciona que intuitivamente es posible conocer si un carácter tiene o no señal filogenética, por lo que hacer un cálculo de esta índole puede parecer trivial. Aunque los investigadores deben estar conscientes que cuantificar esta señal es importante debido a que no es lo mismo la señal de un carácter con una tasa de evolución rápida a la de uno con una tasa de evolución lenta. Existen dos formas de calcular la señal filogenética utilizando R, una es la propuesta por Blomberg, Garland & Ives (2003) y otra es a través de la descomposición ortonormal (ver más adelante).

Una vez que se ha determinado si hay señal filogenética, existen varios métodos para el desarrollo de análisis comparados filogenéticos. La gran mayoría de ellos implementados en R, sólo unos pocos como el de los contrastes independientes de Felsenstein (1985), están en programas como Mesquite. Enseguida se mencionarán algunos de los métodos y se explicará brevemente en qué consisten. Pero antes de continuar es necesario hacer eco de dos advertencias formuladas por Paradis (2012): (i) Hay que tener en cuenta que la distribución de los estados de carácter depende de la filogenia y de la manera en que los caracteres bajo estudio evolucionan; (ii) como sucede con cualquier método estadístico, un uso inadecuado puede dar origen a resultados sin sentido (*garbage in, garbage out*).

El método conocido como contrastes independientes fue creado por Felsenstein (1985) y hace comparaciones entre pares de taxa de cada una de las bifurcaciones de la filogenia. Así, si los nodos ancestrales de la filogenia son conocidos, entonces se pueden calcular las diferencias entre los dos taxa que comparten un ancestro común inmediato, sin que se confunda la comparación con el efecto de la filogenia. Este método se basa en un modelo browniano de evolución de caracteres, por lo que asume que cada nodo es independiente; para utilizarlo se requiere que la filogenia sea perfectamente dicotómica y el resultado es una gráfica similar a la de una regresión en la que los caracteres comparados, si están asociados, se acercarán a la línea, de lo contrario estarán dispersos.

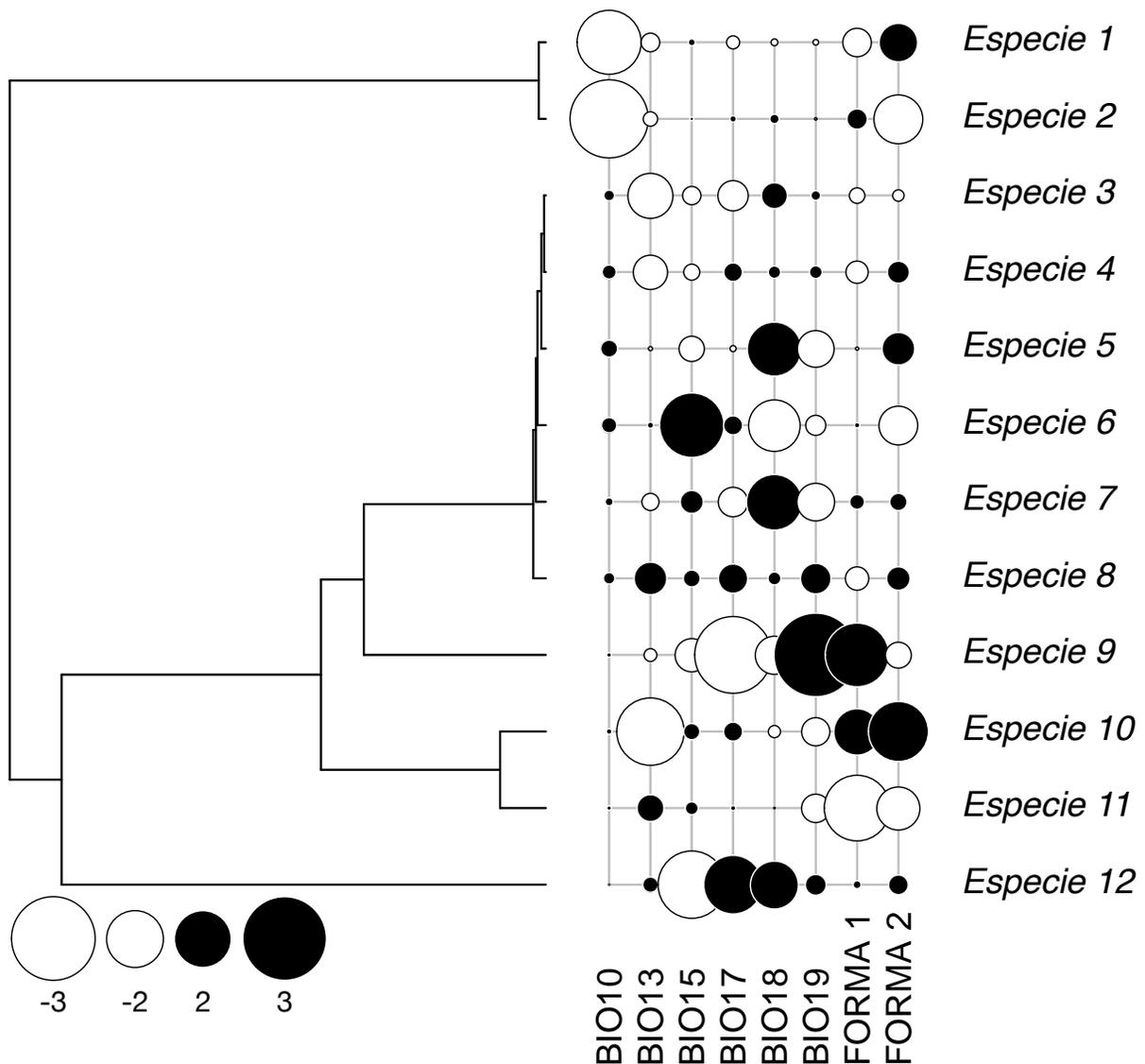
La descomposición ortonormal es un procedimiento canónico que permite descomponer la varianza de los caracteres de historia de vida (el método sólo trabaja con caracteres continuos) con respecto a la estructura del árbol filogenético. Al hacer esto es posible cuantificar hasta qué punto la historia evolutiva ha moldeado los estados que vemos hoy de un carácter. Los creadores de esta prueba sugieren que antes de aplicarla se haga un análisis de autocorrelación filogenética y si efectivamente existe, entonces se debe utilizar para cuantificar el grado de influencia de la filogenia. Este análisis da como resultado un gráfico llamado ortograma (Ollier, Coueron & Chessel, 2006).

Hay métodos de análisis multivariados, como el análisis de componentes principales filogenéticos (pPCA), propuesto por Jombart, Pavoine, Devillard & Pontier (2010). La idea de esta técnica es resumir un set de caracteres a unas pocas variables sintéticas que exhiban los patrones globales y locales que existen en la estructura filogenética. Los patrones globales son las autocorrelaciones positivas que forman taxa cercanamente vinculados que comparten los valores de un carácter, esto normalmente se asocia a la señal filogenética. Los patrones locales son las autocorrelaciones negativas que se forman a partir de las disimilitudes que se puede alcanzar en sectores de la filogenia; generalmente esto ocurre cuando especies cercanamente relacionadas tienen valores muy dispares para un carácter. El resultado de esta comparación

es un gráfico en el que se conjuga una filogenia con un análisis de componentes principales (PCA) para mostrar los patrones globales, locales, así como la proporción de valores propios (*eigenvalues*) y cuáles son los caracteres con mayor peso en conjunto con su asociación. En la Figura 4 se puede ver un pPCA generado con datos hipotéticos de nicho climático y forma del labelo de un grupo de orquídeas, en el que se aprecia cuáles de los caracteres incluidos tienen algún tipo de relación con la filogenia y cuál es su intensidad.

Figura 4.

Análisis de componentes principales filogenético para un grupo hipotético de especies en el que se muestra la relación entre la filogenia, variables bioclimáticas y dos variables relacionadas con la forma del labelo. Los círculos negros representan evolución asociada a la filogenia y los blancos, lo contrario; el tamaño de los círculos habla de la intensidad de la asociación. Figura elaborada con datos propios.



Conclusión

Los métodos descritos no son los únicos que hay y de hecho constantemente se añaden más posibilidades que permiten explorar distintos aspectos de la dinámica evolutiva. Por ejemplo, es posible estudiar la incertidumbre filogenética, hacer comparación directa entre topologías o de éstas con matrices, estimar tasas de diversificación, hacer pruebas para determinar si existen saltos en los patrones de diversificación. Incluso se pueden hacer análisis de ecología evolutiva como explorar si existe conservadurismo de nicho, si hay evolución relacionada con la exploración de nuevos espacios bioclimáticos, evaluar el desplazamiento de caracteres mediado por presiones selectivas, origen y cambio temporal de caracteres, influencia del cambio climático sobre la evolución y diversificación de seres vivos, entre otras cosas. El tipo y cantidad de datos que pueden utilizar los análisis macroevolutivos es variado y se pueden derivar prácticamente de cualquier fuente imaginable, por lo que vale la pena indagar, siempre y cuando se hagan los ajustes necesarios para que puedan ser procesados por los métodos disponibles. Así, los análisis macroevolutivos son una ventana que posibilita estudiar el pasado, comprender el presente y tal vez permitan inferir eventos del futuro.

Referencias

- Adams, D. C. (2010). Parallel evolution of character displacement driven by competitive selection in terrestrial salamanders. *BMC evolutionary biology*, 10, 72. doi: 10.1186/1471-2148-10-72
- Aguilar-Rodríguez, P. A., Krömer, T., Tschapka, M., García-Franco, J. G., Escobedo-Sarti, J. & MacSwiney, C. (2019). Bat pollination in Bromeliaceae. *Plant Ecology and Diversity*, 12(1), 1-19. doi: 10.1080/17550874.2019.1566409
- Aris-Brosou, S. & Yang, Z. (2002). Effects of models of rate evolution on estimation of divergence dates with special reference to the metazoan 18S ribosomal RNA phylogeny. *Systematic Biology*, 51(5), 703-714. doi: 10.1080/10635150290102375
- Barba-Montoya, J., dos Reis, M., Schneider, H., Donoghue, P. C. J. & Yang, Z. (2018). Constraining uncertainty in the timescale of angiosperm evolution and the veracity of a Cretaceous Terrestrial Revolution. *New Phytologist*, 218(2), 819-834. doi: 10.1111/nph.15011
- Battistuzzi, F. U., Filipski, A. J. & Kumar, S. (2011). Molecular Clock: Testing. *eLS*, 1-7. doi: 10.1002/9780470015902.a0001803.pub2
- Blomberg, S. P., Garland, T. & Ives, A. R. (2003). Testing for phylogenetic signal in comparative data: Behavioral traits are more labile. *Evolution*, 57(4), 717. doi: 10.1554/0014-3820(2003)057[0717:TFPSIC]2.0.CO;2
- Bollback, J. P. (2006). SIMMAP: stochastic character mapping of discrete traits on phylogenies. *BMC bioinformatics*, 7, 88. doi: 10.1186/1471-2105-7-88
- Bremer, K. & Gustafsson M., H. G. (1997). East Gondwana ancestry of the sunflower alliance of families. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(17), 9188-9190. doi: 10.1073/pnas.94.17.9188
- Britton, T., Anderson, C. L., Jacquet, D., Lundqvist, S. & Bremer, K. (2007). Estimating divergence times in large phylogenetic trees. *Systematic Biology*, 56(5), 741-752. doi: 10.1080/10635150701613783
- Drummond, A. J., Ho, S. Y. W., Phillips, M. J. & Rambaut, A. (2006). Relaxed phylogenetics and dating with confidence. *PLoS Biology*, 4(5), 699-710. doi: 10.1371/journal.pbio.0040088
- Drummond, A. J. & Suchard, M. A. (2010). Bayesian random local clocks, or one rate to rule them all. *BMC Biology*, 8(1), 114. doi: 10.1186/1741-7007-8-114
- Escobedo-Sarti, J., Ramírez, I., Leopardi, C., Carnevali, G., Magallón, S., Duno, R. & Mondragón, D. (2013). A phylogeny of Bromeliaceae (Poales, Monocotyledoneae) derived from an evaluation of nine supertree methods. *Journal of Systematics and Evolution*, 51(6), 743-757. doi: 10.1111/jse.12044

- Eldredge, N. & Cracraft, J. (1980). *Phylogenetic patterns and the evolutionary process, method and theory in comparative biology*. New York: Columbia University Press.
- Evans, M. E. K., Smith, S. A., Flynn, R. S. & Donoghue, M. J. (2009). Climate, niche evolution, and diversification of the "Bird-Cage" evening primroses (*Oenothera*, sections *Anogra* and *Kleinia*). *The American Naturalist*, 173(2), 225-240. doi: 10.1086/595757
- Felsenstein, J. (1981). Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *Journal of molecular evolution*, 17(6), 368-376. doi: 10.1007/BF01734359
- Felsenstein, J. (1985). Phylogenies and the comparative method. *The American Naturalist*, 125(1), 1-15. doi: 10.1086/284325
- Gittleman, J. L. & Luh, H. (1992). On comparing comparative methods. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 23(1), 383-404. doi: 10.1146/annurev.es.23.110192.002123
- Gómez-Acevedo, S., Rico-Arce, L., Delgado-Salinas, A., Magallón, S. & Eguiarte, L. E. (2010). Neotropical mutualism between *Acacia* and *Pseudomyrmex*: Phylogeny and divergence times. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56(1), 393-408. doi: 10.1016/j.ympev.2010.03.018
- Gupta, A., Mañuch, J., Stacho, L. & Zhu, C. (2004). Small Phylogeny Problem: Character Evolution Trees. En Sahinalp, S.C., Muthukrishnan, S. & Dogrusoz, U. (Eds.), *Combinatorial Pattern Matching. CPM 2004. Lecture Notes in Computer Science* (23-243), vol 3109. Berlin: Springer. doi: 10.1007/978-3-540-27801-6_17
- Harmon, L. J., Weir, J. T., Brock, C. D., Glor, R. E. & Challenger, W. (2008). GEIGER: investigating evolutionary radiations. *Bioinformatics*, 24(1), 129-131. doi: 10.1093/bioinformatics/btm538
- Harvey, P. & Pagel, M. D. (1991). *The comparative method in evolutionary biology*. Oxford, Reino Unido: Oxford University Press.
- Herron, J. C. & Freeman, S. (2014). *Evolutionary analysis*. Glenview, Estados Unidos: Pearson.
- Jombart, T., Pavoine, S., Devillard, S. & Pontier, D. (2010). Putting phylogeny into the analysis of biological traits: A methodological approach. *Journal of Theoretical Biology*, 264(3), 693-701. doi: 10.1016/j.jtbi.2010.03.038
- Koonin, E.V. (2012). A half-century after the molecular clock: new dimensions of molecular evolution. *EMBO reports*, 13, 664-666. doi: 10.1038/embor.2012.103
- Lartillot, N., Phillips, M. J. & Ronquist, F. (2016). A mixed relaxed clock model. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371(1699), 20150132. doi: 10.1098/rstb.2015.0132
- Leopardi-Verde, C. L., Carnevali, G. & Romero-González, G. A. (2017). A phylogeny of the genus *Encyclia* (Orchidaceae: *Laeliinae*), with emphasis on the species of the Northern Hemisphere. *Journal of Systematics and Evolution*, 55(2), 110-123. doi: 10.1111/jse.12225
- Lewis, P. O. (2001). A likelihood approach to estimating phylogeny from discrete morphological character data. *Systematic Biology*, 50(6), 913-925. doi: 10.1080/106351501753462876
- Li, W.-H. & Graur, D. (1991). *Fundamentals of molecular evolution*. Sunderland, Estados Unidos: Sinauer Associates.
- Maddison, W. P. & Maddison, D. R. (2019). Mesquite: A modular system for evolutionary analysis. Recuperado de <https://www.mesquiteproject.org>
- Magallón, S., Gómez-Acevedo, S., Sánchez-Reyes, L. L. & Hernández-Hernández, T. (2015). A metacalibrated time-tree documents the early rise of flowering plant phylogenetic diversity. *New Phytologist*, 207(2), 437-453. DOI: 10.1111/nph.13264
- Margoliash, E. (1963). Primary structure and evolution of *Cytochrome C*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 50(4), 672-679. doi: 10.1073/pnas.50.4.672
- Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. New York: Columbia University Press.

- Ohta, T. (2013). Molecular Evolution: Nearly Neutral Theory. *eLS*, 1-6. doi: 10.1002/9780470015902.a0001801.pub4
- Ollier, S., Couteron, P. & Chessel, D. (2006). Orthonormal transform to decompose the variance of a life-history trait across a phylogenetic tree. *Biometrics*, 62(2), 471-477. doi: 10.1111/j.1541-0420.2005.00497.x
- Paradis, E. (2012). *Analysis of phylogenetics and evolution with R*. New York: Springer. doi: 10.1007/978-1-4614-1743-9
- Paradis, E., Claude, J. & Strimmer, K. (2004). APE: Analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics*, 20(2), 289-290. doi: 10.1093/bioinformatics/btg412
- Polly, D., Lawing, M., Fabre, A. C. & Goswami, A. (2013). Phylogenetic principal components analysis and geometric morphometrics. *Hystrix*, 24(1), 33-41. doi: 10.4404/hystrix-24.1-6383
- R Core Team. (2020). R: A language and environment for statistical computing. Recuperado de <https://www.r-project.org>
- Renner, S. S. (2005). Relaxed molecular clocks for dating historical plant dispersal events. *Trends in Plant Science*, 10(11), 550-558. doi: 10.1016/j.tplants.2005.09.010
- Revell, L. J. (2012). phytools: An R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods in Ecology and Evolution*, 3(2), 217-223. doi: 10.1111/j.2041-210X.2011.00169.x
- Rutschmann, F. (2006). Molecular dating of phylogenetic trees: A brief review of current methods that estimate divergence times. *Diversity and Distributions*, 12(1), 35-48. doi: 10.1111/j.1366-9516.2006.00210.x
- Sanderson, M. J. (1997). A nonparametric approach to estimating divergence times in the absence of rate constancy. *Molecular Biology and Evolution*, 14(12), 1218-1231. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a025731
- Sanderson, M. J. (2002). Estimating absolute rates of molecular evolution and divergence times: A penalized likelihood approach. *Molecular Biology and Evolution*, 19(1), 101-109. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a003974
- Sanderson, M. J. (2003). r8s: inferring absolute rates of molecular evolution and divergence times in the absence of a molecular clock. *Bioinformatics*, 19(2), 301-302. doi: 10.1093/bioinformatics/19.2.301
- Sanderson, M., Thorne, J., Wikström, N. & Bremer, K. (2004). Molecular evidence on plant divergence times. *American Journal of Botany*, 91(10), 1656-1665. doi: 10.3732/ajb.91.10.1656
- Sauquet, H., Von Balthazar, M., Magallón, S., Doyle, J. A., Endress, P. K., Bailes, E. J., ... & Schönenberger, J. (2017). The ancestral flower of angiosperms and its early diversification. *Nature Communications*, 8, 16047. doi: 10.1038/ncomms16047
- Schneider, H., Schuettelpelz, E., Pryer, K. M., Cranfill, R., Magallón, S. & Lupia, R. (2004). Ferns diversified in the shadow of angiosperms. *Nature*, 428(6982), 553-557. doi: 10.1038/nature02361
- Schultz, T. R. & Brady, S. G. (2008). Major evolutionary transitions in ant agriculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(14), 5435-5440. doi: 10.1073/pnas.0711024105
- Serb, J. M., Alejandrino, A., Otárola-Castillo, E. & Adams, D. C. (2011). Morphological convergence of shell shape in distantly related scallop species (*Mollusca: Pectinidae*). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 163(2), 571-584. doi: 10.1111/j.1096-3642.2011.00707.x
- Silvera, K., Santiago, L. S., Cushman, J. C. & Winter, K. (2009). Crassulacean acid metabolism and epiphytism linked to adaptive radiations in the Orchidaceae. *Plant Physiology*, 149(4), 1838-1847. doi: 10.1104/pp.108.132555
- Soltis, D. E. & Soltis, P. S. (1999). Choosing an approach and an appropriate gene for phylogenetic analysis. En D. E. Soltis, P. S. Soltis & J. J. Doyle (Eds.), *Molecular Systematics of Plants II-DNA Sequencing* (pp. 1-42). New York: Springer.

- Suchard, M. A., Lemey, P., Baele, G., Ayres, D. L., Drummond, A. J. & Rambaut, A. (2018). Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10. *Virus Evolution*, 4(1), vey016. doi: 10.1093/ve/vey016
- Swofford, D. L. & Sullivan, J. (2009). Phylogeny inference based on parsimony and other methods using PAUP*. En P. Lemey, M. Salemi & A. Vandamme (Eds.), *The Phylogenetic Handbook* (pp. 267-312). Cambridge, Reino Unido: Cambridge University Press. doi: 10.1017/CB09780511819049.010
- Vandamme, A. (2009). Basic concepts of molecular evolution. En P. Lemey, M. Salemi & A. Vandamme (Ed.), *The Phylogenetic Handbook: A Practical Approach to Phylogenetic and Hypothesis Testing* (pp. 3-29). Cambridge, Reino Unido: Cambridge University Press. doi: 10.1017/CB09780511819049.003
- Wagner, G. (Ed.). (2001). *The character concept in evolutionary biology*. Florida, Estados Unidos: Academic Press.
- Welch, J. J. & Bromham, L. (2005). Molecular dating when rates vary. *TRENDS in Ecology and Evolution*, 20(6), 320-327. doi: 10.1016/j.tree.2005.02.007
- Xiang, Q. Y. & Thomas, D. T. (2008). Tracking character evolution and biogeographic history through time in Cornaceae-Does choice of methods matter? *Journal of Systematics and Evolution*, 46(3), 349-374. doi: 10.3724/SP.J.1002.2008.08056
- Yesson, C. & Culham, A. (2006). Phyloclimatic modeling: Combining phylogenetics and bioclimatic modeling. *Systematic Biology*, 55(5), 785-802. doi: 10.1080/1063515060081570
- Zuckerkandl, E. & Pauling, L. (1965). Evolutionary divergence and convergence in proteins. En V. Bryson & H. J. Vogel (Eds.), *Evolving genes and proteins* (pp. 97-166). Londres: Academic Press. doi: 10.1016/B978-1-4832-2734-4.50017-6



"Pentapetalae"

Cerámica/esmalte

16 x 21.5 x 21.5 cm

2016