

UN PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN NUNCA EMPRENDIDO : LA INFERENCIA FILOGENÉTICA COMO TEST PSICOMÉTRICO

Borja Sanchiz

Museo Nacional de Ciencias Naturales, C.S.I.C.
J. Gutiérrez Abascal 2, Madrid 28006
mncb105@mncn.csic.es

Resumen

Se presenta la inferencia filogenética a la manera del test psicométrico. Con esta analogía, los ítems del test son equivalentes a los caracteres, sus respuestas alternativas a los estados de carácter, y los sujetos son análogos a las distintas hipótesis evolutivas (dendrogramas) posibles con los taxones que se analizan. La conveniencia de establecer para estudios filogenéticos diversos instrumentos de medida válidos y fiables, de uso estandarizado, sería el fundamento sobre el que desarrollar este programa de investigación conceptual nunca emprendido en Biología. Un ejemplo práctico, basado en una secuencia molecular, muestra algunas posibles aplicaciones de los modelos psicométricos tradicionales a la selección y codificación de caracteres biológicos, y prueba que este acercamiento es tanto factible como deseable.

Palabras clave: Psicometría, Tests, Fiabilidad, Validez, Cladismo, Filogenia.

An unprecedented research program: phylogenetic inferences using psychometric test tools

Abstract

The phylogenetic inference is presented as a psychometric test. In this analogy, the items of this test are the characters, their alternative answers are the character-states, and the persons are all the evolutionary hypothesis (dendrograms) that are possible for the taxa analyzed. The basic premise for the development of this unprecedented research program in Biology is the need to establish standardized, accurate and reliable measuring instruments for phylogenetic studies. A practical example, based on a molecular sequence, demonstrates some applications of the traditional psychometric models to the selection and coding of biological characters and proves that this approach is both feasible and desirable.

Key words: Psychometry, Tests, Reliability, Validity, Cladistics, Phylogenetics.

Nota: Los comentarios y notas se numeran entre [corchetes] y se agrupan en un apéndice al final.

INTRODUCCIÓN

La inferencia filogenética es una actividad científica que se ha desarrollado enormemente en los últimos veinte años. Kitching (1998) [1] proporciona una visión general reciente de todo el proceso que nos permite emitir hipótesis acerca de las relaciones evolutivas entre seres vivos, aunque también es muy recomendable utilizar internet navegando, por ejemplo, a partir de las conexiones que ofrece la página 'Phylogenetic Resources' de la Universidad de California en Berkeley [2]. En esta disciplina, la parte metodológicamente menos discutida en el plano teórico es sin duda la referente a la selección inicial de los caracteres que han de analizarse, a su definición y a la delimitación de los correspondientes estados de cada carácter. De hecho, los procedimientos existentes no dan prácticamente pauta alguna al respecto, fuera de las recomendaciones mínimas lógicamente asociadas a la utilización posterior de estos datos dentro del método comparado (repetitibilidad en observaciones, sin solape en las delimitaciones etc). Cada investigador puede, de esta manera, seleccionar con total libertad

los caracteres y estados con los que iniciar la labor de inferencia filogenética. Por ello, cada científico realiza un trabajo creativo, casi artístico, en esta selección de caracteres, que depende en gran manera de su experiencia previa o de la escuela en que se haya formado. Consecuentemente, los productos que obtiene (las filogenias) son siempre artesanales y no exactamente reproducibles por otros investigadores, que partirán de caracteres iniciales distintos. Por ello, las filogenias de que se dispone en la literatura, aunque se hayan realizado siguiendo los procedimientos de elaboración más sofisticados, son de muy difícil valoración crítica, máxime fuera del marco estricto de cada especialidad zoológica. No es fácil aventurarse a decidir, siendo desconocedor del grupo animal en cuestión, si una propuesta filogenética elaborada con aparente rigor es más o menos verosímil. El no especialista queda prácticamente en manos del principio de autoridad, sin posibilidad de juzgar por sí mismo, una situación que toda disciplina científica sana debe tratar de evitar.

El trabajo que presento pretende poner de manifiesto que para el conjunto de las ciencias biológicas: a) no es deseable disponer de modelos filogenéticos artesanales, de verosimilitud desconocida a priori, y necesariamente inestables en virtud de la subjetividad inherente al proceso inicial de selección de caracteres; y b) que no es imprescindible dejar total libertad al investigador para que "cree" los caracteres y estados a analizar [3], existiendo de hecho alternativas viables. Para ello, y como demostración de que existen otras maneras de abordar estos estudios, mostraremos el acercamiento conceptual que se ha seguido en Psicometría para problemas análogos. Estableceremos una analogía formal, que creo original, entre la elaboración y usos de los tests y escalas psicométricas y la inferencia filogenética. Esta analogía proporciona una base potencial para valorar cualquier procedimiento de inferencia, y por ende la credibilidad de sus resultados. También sirve, incidentalmente, para ejemplificar un caso de desconexión entre dos comunidades científicas, que abordando problemas semejantes desconocen las soluciones dadas fuera de su disciplina [4]. Una posible causa para esta situación, que no es infrecuente encontrar en Sociología de la Ciencia, es la tendencia a cohesionar el grupo de especialistas mediante jergas propias ininteligibles para no iniciados (Gutiérrez Rodilla, 1998) [5]. La alta divulgación científica es quizás el antídoto actualmente más eficaz. Por último, el examen desde la perspectiva psicométrica del protocolo de trabajo en estudios filogenéticos facilita al no especialista una mejor comprensión de cómo se realizan éstos. Estos objetivos se presentan mediante comentarios a las fases iniciales de la inferencia evolutiva, con un ejemplo real basado en una secuencia de aminoácidos derivada del gen Citocromo Oxidasa I.

LA ANALOGÍA BÁSICA

La evolución de los linajes de seres vivos, al igual que las variables psicológicas, no es observable directamente como tal, y ha de ser inferida a partir de sus resultados mediante evidencia indirecta. Para ello el biólogo utiliza una matriz de caracteres y taxones ("Operational Taxonomic Units", OTUs), que elaborada según distintos algoritmos y supuestos proporciona la inferencia (Kitching et al., 1998). Por su parte, y entre otras técnicas que no son al caso, el psicólogo frecuentemente utiliza algún test, o batería de ellos, para medir variables de su interés, como aptitudes, habilidades etc. Estos tests están compuestos de diferentes ítems, habitualmente preguntas que requieren una respuesta de cada sujeto. Excelentes obras generales recientes sobre la materia son los libros de García Cueto (1993) y Muñiz (1997, 1998), donde se describen los dos grandes modelos psicométricos tradicionales, la Teoría Clásica de los Tests (TCT) y la Teoría de Respuesta a los Ítems (TRI). Toda la aplicación aquí realizada está sobradamente detallada en esos libros, y por simplificar la lectura esas referencias no se citarán reiteradamente en cada aspecto del ejemplo. La aplicación de la TRI, que es posible y potencialmente fructífera para estudios filogenéticos, será presentada en trabajos posteriores a fin de no complicar excesivamente este artículo introductorio.

Relativamente obvia resulta la analogía entre carácter taxonómico e ítem de un test, y entre matriz de caracteres-OTUs y el test completo. La analogía es especialmente clara, aunque no se restringe a ellos de manera única ni exclusiva, si los caracteres vienen codificados como valores discretos. La casi totalidad de las aplicaciones a ese respecto de la sistemática molecular y del análisis cladístico han sido presentados de esta forma. Así por ejemplo, si para un grupo de especies a

analizar se define un carácter como "Número de patas" y sus estados de presentación como "(1) sin patas; (2) 4 patas o (3) 6 patas", esta estructura resulta formalmente equivalente a la presentación habitual de un ítem en un test de elección de respuesta.

No es inmediato cual sea el análogo (para la inferencia filogenética) al sujeto que realiza un test psicológico. Aunque pueden contemplarse otras posibilidades, me he decantado por la siguiente: los "sujetos" que responden al test filogenético son cada una de las hipótesis de parentesco (modelos evolutivos) posibles con los OTUs que se analicen, o bien una muestra seleccionada de ellos. Las hipótesis de parentesco que considero aquí tienen una estructura clásica de relación cladística, es decir, son dendrogramas dicotómicos (enraizados o no) y con todos sus nodos totalmente resueltos. Estos "sujetos" responden afirmativamente aun estado de carácter si tienen en su estructura algún agrupamiento monofilético para el cual el estado en cuestión resulte sinapomórfico (en ese contexto), negativamente en caso contrario (ver dos ejemplos en la figura 1). Los caracteres no informativos, como las autapomorfias, pueden excluirse o mantenerse en el análisis. Los supuestos básicos de las teorías psicométricas tradicionales en principio se cumplen plenamente [6]. Contemplado desde esta perspectiva, la tarea filogenética es equivalente, por ejemplo, a una selección de personal en la que se busca al sujeto (= modelo evolutivo) más idóneo (= por reflejar mejor la genealogía) para un trabajo (= conocimiento de la filogenia *per se* o para ulteriores aplicaciones). Es evidente, por tanto, que en este artículo no se trata ninguna aplicación psicológica al mundo animal, y simplemente pretendo importar algunos conceptos y técnicas psicométricas para la construcción y calibración de tests y escalas de medición.

Una consulta a la mayor base de datos de Zoología existente, el *Zoological Record* en CD (1978-1998), nos muestra que entre las 1.273.027 referencias bibliográficas recopiladas para esos años no menos de 30.254 se refieren explícitamente a estudios sobre filogenias, por haber sido indizados con palabras clave asociadas con el tema. Cruzando estas referencias con términos de búsqueda relacionados con la psicometría no se encuentra trabajo alguno, y en ello fundamento la veracidad del título de este artículo. El desarrollo de las teorías psicométricas (ver historia por ejemplo en

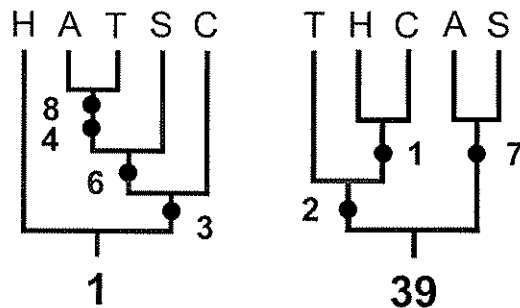


Fig. 1.- Dos ejemplos entre los 105 dendrogramas enraizados posibles ("sujetos" del test números 1 y 39 en la Tabla 1) y sus respuestas afirmativas a los caracteres DASA (ver texto), con indicación del grupo monofilético congruente con cada carácter. Los números que identifican a los caracteres corresponden a la propia secuencia en la matriz DASA (Apéndice I). H: Humano. A: Avestruz. T: Tortuga. S: Salamandra. C: Celacanto.

Muñiz, 1998) es básicamente anterior al desarrollo de la sistemática filogenética. El hecho de que la sistemática moderna no se haya beneficiado, desde su origen, de procedimientos importados perfectamente adaptables a la casuística biológica, supongo que cabe achacarlo simplemente a que no se ha evidenciado hasta ahora esta analogía posible entre test e inferencia filogenética.

LA PERSPECTIVA PSICOMÉTRICA EN EL ANÁLISIS FILOGENÉTICO

El planteamiento psicológico difiere del biológico por pretender disponer de tipos de instrumentos generales, de características y precisión conocidos, y que puedan ser aplicados reiteradamente a casos particulares diversos. No quiere esto decir, por ejemplo, que para inferir filogenias, el mismo rasgo morfológico deba ser aplicado a cualquier colectivo de especies, sino que debieran existir numerosos "tipos de rasgos homogéneos" (= protoescalas) para inferencias evolutivas, ensayados empíricamente y bien conocidos por su origen y relación con la filogenia. Para cada uno de estos "tipos de rasgos" el colectivo a analizar tiene realmente algunos homólogos, entre los cuales se procede a seleccionar, para cada ocasión, aquellos concretos sobre los que basar la inferencia. Un ejemplo de protoescala, real aunque de bajo poder resolutivo, se desarrollará más adelante para mejor comprensión del concepto. En el procedimiento de análisis es con posterioridad, cuando se dispone de varias de estas protoescalas, cuando podremos construir una batería de tests, diseñada a voluntad, con análisis simultáneo de una mezcla de "tipos de rasgos", o bien aplicarlos por separado y elaborar después la interpretación conjunta.

Examinemos el procedimiento habitual de inferencia filogenética desde el punto de vista del test, deteniéndonos únicamente en las fases iniciales de selección de caracteres, que paradójicamente son las de mayor importancia y las menos debatidas conceptualmente. Para una mejor claridad expositiva, analizaremos por vía de ejemplo un supuesto real, basado en una muestra de caracteres moleculares proporcionada por el Dr. Rafael Zardoya (Museo Nacional de Ciencias Naturales), para seis especies de vertebrados. La filogenia "real" que cabe esperar se presenta en la figura 2. La información disponible comienza con una secuencia alineada de una proteína (522 aminoácidos), derivada del gen Citocromo Oxidasa I (COI), que se detalla en el Apéndice I. Las sucesivas fases de inferencia para este ejemplo, entre otras muchas posibles, son las siguientes:

a. Paso previo.

Se debe conocer y hacer explícito el objetivo final, es decir, aquel para el que se requiera disponer de una inferencia filogenética. Esta fase no será aquí objeto de análisis, pero cabe señalar que su importancia es crucial y sin embargo rara vez es mencionada de manera clara en los casos en que la inferencia no se hace *per se* [7].

b. Definición operativa de filogenia y de linajes.

Para no perderse en un estéril diletantismo, es necesario definir de manera operativa lo que se desea medir, y la relación que haya entre ello y los rasgos observables. En nuestro ejemplo, aceptaremos para los linajes un modelo de evolución sin transferencias horizontales ni hibridación [8].

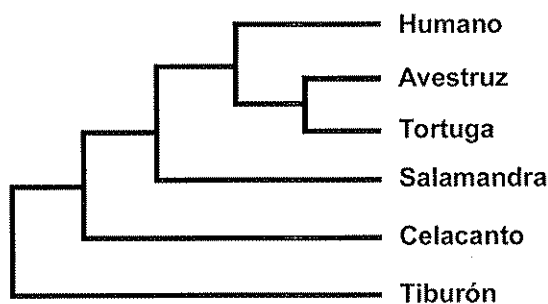


Fig. 2.- Topología dicotómica de las relaciones filogenéticas "verdaderas" entre los linajes analizados. El tiburón se utiliza únicamente como grupo externo.

Con ello suponemos que las diferencias observadas entre las secuencias de los distintos taxones son producidas por acumulación independiente de mutaciones en los diversos linajes, tanto en sus troncos comunes como en las líneas terminales. La tasa de mutación se considera constante tanto a lo largo de la secuencia como en el tiempo, la retromutación es aleatoria, y no hay diferencia en el valor selectivo de las variantes de la proteína en cuestión [9]. Por filogenia entenderemos el patrón de mayor o menor proximidad relativa en el parentesco. Es decir, el planteamiento cladístico más simple y tradicional, con aplicación de la mera definición de "grupo hermano".

c. Elección de caracteres.

Como se ha mencionado anteriormente, es una de las partes más importantes del análisis, muy poco debatida conceptualmente en sistemática. Desde una perspectiva psicométrica los caracteres deseables y su conjunto, como buen instrumento de medición general que se quiere emplear, debiera ser homogéneo y creíble, tanto en lo que miden como en la constancia con que lo hacen. Procede primero construir y ensayar diversos instrumentos de medición (protoescalas), es decir, conjuntos simples de caracteres sistemáticos que sean homogéneos entre sí en cuanto a su relación con el rasgo a medir (= clase de filogenia postulada). Hablar por ejemplo de "caracteres morfológicos" como "tipo de carácter" es inaceptable a todo punto, ya que únicamente tienen en común poder ser observados sin procedimientos bioquímicos. Téngase en cuenta que esos caracteres, como colectivo, no muestran ni una heredabilidad, ni un origen ontogenético, ni un valor adaptativo semejantes (ver p. ej. Emerson et al., 1998). Considerar suficiente el método comparado, y aseverar que la presencia de estructuras homólogas diferenciales para algunos linajes (si pudieran detectarse) supone una irrefutable y suficiente señal de relación evolutiva, como se hace habitualmente, implica directamente renunciar a tener "escalas de medición" generales de aplicación en filogenia [10].

Por continuar con nuestra analogía, y puesto que la comunidad biológica no ha hecho prácticamente nada aprovechable para el acercamiento conceptual citado en el párrafo anterior, tendremos que diseñar y evaluar como ejemplo una "protoescala", es decir, una escala de medición fundamentada en un "tipo de rasgo para inferencias filogenéticas" cualquiera. La escala que se ha ideado aquí, con fines meramente ilustrativos, la denominaremos "selección Dicotómica Absoluta para Secuencia de Aminoácidos" (DASA), y debe entenderse que si este "programa de investigación" que proponemos llegara a realizarse alguna vez, se diseñarían y ensayarían literalmente

cientos de protoescalas distintas [11]. Para diseñar DASA se ha seguido el siguiente procedimiento a partir de la secuencia inicial completa (Apéndice I): Se han seleccionado los caracteres dicotómicos que pudieran considerarse como presuntas sinapomorfias. Es decir, se han eliminado los tramos de secuencias incompletas para alguno de los taxones y todos los rasgos autapomórficos, incluidos los del grupo interno (*ingroup*). En los casos en que se detectan dos presuntas sinapomorfias se ha seleccionado la que tuviera mayor número de linajes, aleatoriamente en caso de empate. El resto de los estados, los no seleccionados como sinapomórficos por el procedimiento anterior, se consideran sin información filogenética. La polaridad se basa en considerar el tiburón como grupo externo. Los aminoácidos se han recodificado a formato binario. Con ello se obtienen caracteres provistos de dos estados, uno no informativo (codificado con "0") y otro que representa el presuntamente derivado compartido ("1"). Este procedimiento, aplicado a las secuencias de este gen en cualquier especie, proporciona automáticamente caracteres (en cantidad variable) para cada análisis filogenético concreto. Una escala de medición, como DASA u otra cualquiera, tiene como veremos la enorme ventaja, frente a la alternativa biológica artesanal al uso, de que en principio cabe esperar que se comporte con una precisión similar en todas y cada una de sus aplicaciones. En nuestro ejemplo han resultado sólo 21 caracteres dicotómicos y polarizados (Apéndice I) a partir de una secuencia de 522, aunque por conveniencia de tener un número par se ha eliminado el último. Esta cifra es baja, ya que en la recopilación del conjunto de ítems se recomienda que se disponga al menos de dos o tres veces el número de aquellos que se elijan después para el test.

d. Los caracteres como instrumento de medida.

Dado que es posible que el lector no esté plenamente familiarizado con los términos y procedimientos psicométricos, se irán introduciendo los necesarios mediante definiciones y notas. En Psicometría, y como instrumento de medida, un test (protoescala) se considera 'fiable' si de manera constante proporciona resultados semejantes en aplicaciones equiparables, independientemente de qué sea lo que está midiendo en realidad. Por 'validez' se pretende considerar hasta qué punto el test sirve realmente para medir aquello que con él se pretende medir. **Fiabilidad** y **Validez** son términos precisos en Psicometría, que usaremos en este artículo únicamente en su acepción más estricta. Se denominan 'tests paralelos' a aquellos que miden la misma variable, tienen las mismas puntuaciones verdaderas y las varianzas, tanto de resultados observables como de errores, son iguales en ambos tests.

Utilizaremos la matriz DASA anterior como test, y las 105 relaciones de parentesco posibles con 5 taxa enraizados como sujetos [12], los resultados se muestran en la Tabla 1. Aprovechando que dos mitades aleatorias del test (es decir, con diez ítems cada una) representan teóricamente tests paralelos aplicados a los mismos taxones, podemos estimar el 'coeficiente de fiabilidad' del test [13]. Los resultados (en valor absoluto) para la correlación entre la primera y la segunda mitad de ítems son $r_x = 0.167$. El coeficiente de fiabilidad es bajo, lo que supone (con los supuestos mencionados de la TCT) que es únicamente un 17 % el índice entre las varianzas de las puntuaciones verdaderas y observadas [14]. El "error típico de medida" [15] es de $s_e = 1.310$. Con ello, y si asumimos (o verificamos) que las puntuaciones del test y sus errores se ajustan a distribuciones normales, podemos calcular mediante estadística básica el intervalo de confianza de la puntuación obtenida por cualquier sujeto, comparar sujetos concretos etc.

También puede analizarse la fiabilidad en función de la consistencia interna entre los ítems del test, indicativo del grado en que todos los ítems estén, o no, midiendo lo mismo. Para ello se recurre al conocido "coeficiente α ". En nuestro ejemplo, no todos los ítems tuvieron la misma "dificultad", ya que algunos fueron "acertados" por varias de las 105 hipótesis de parentesco (= sujetos) mientras que otros se fallaron siempre [16]. El diseño de los elementos de un test es tema de mucho interés tanto en estudios psicométricos como en nuestra analogía, aunque no se detallará en este trabajo, pues al analizar aspectos de su dificultad, poder discriminatorio y homogeneidad (calculable mediante correlación ítem-test), así como aplicando la TRI, se tiene la posibilidad de construir la herramienta de medición de una manera fundamentada.

Para aumentar la fiabilidad, con el mismo tipo de rasgo DASA, una estrategia es incrementar el número de ítems. Aplicando la ecuación de Spearman-Brown [17] se alcanza un valor $n = 94.77$, siendo n el número de veces que debe aumentarse el número de ítems del test inicial. Para una fiabilidad del 95 % se requerirían por tanto no menos de 1896 ítems DASA, una cifra inviable dada la longitud habitual de las secuencias proteicas iniciales.

Distinta es la cuestión de la **validez** de un tipo de rasgos concreto como DASA. Esto es, valorar cuanta "filogenia" está midiendo realmente, definida ésta operativamente en cada caso al especificar los parámetros del modelo evolutivo y mutacional considerados. Para ello resulta imprescindible "validar" (= calibrar) DASA, bien aplicándolo a un "criterio", es decir, a un colectivo o situación cuyo status filogenético sea conocido ("validez de criterio"), o bien mediante la llamada "validez de constructo" por referencia a otra escala (a otro rasgo) que esté bien correlacionado con el que deseamos medir (García Cueto, 1993). El coeficiente de validez es así simplemente la correlación [18] entre nuestro tipo de rasgo (DASA) y el otro criterio o escala.

En nuestro ejemplo, podemos calibrar DASA de las dos maneras mencionadas anteriormente. Puesto que aceptamos conocer de antemano las relaciones filogenéticas entre estos cinco linajes (figura 2), podemos cuantificar mediante el método de Penny y Hendy (1985) la distancia de cada uno de nuestros 105 "sujetos" al modelo real, y correlacionar (inversamente) éstas distancias con las puntuaciones DASA obtenidas por cada uno. Se obtiene así un coeficiente de validez de $r_v = 0.66$. Si aceptamos, por seguir el ejemplo, que la secuencia completa de 522 aminoácidos es un buen reflejo de la filogenia [19] entonces la correlación para 105 sujetos entre DASA y el *Rescaled Consistency Index* (RC) (Kitching et al, 1998) de la secuencia en los 105 dendrogramas nos da una estimación para el coeficiente de validez de $r_v = 0.63$, valor idéntico al obtenido para la correlación DASA-Parsimonia (= número de pasos) de los distintos árboles filogenéticos. El coeficiente de determinación ($r_v^2 = 0.40$) nos indica que un 40% de la varianza de la filogenia (tal como la hemos establecido) puede pronosticarse a partir de DASA. Nuestro ejemplo es trivial, al aceptar que ya conocemos la filogenia, pero es frecuente, en cambio, el caso en que nos enfrentemos a conjuntos de caracteres de los que ya sabemos (por otros estudios) que algunos agrupamientos monofiléticos son (o no) muy plausibles. En estos casos la variable "criterio" puede ser discreta y aún dicotómica (ej. los modelos que presenten un agrupamiento determinado considerado 'seguro' son aceptables, el resto no), y calcularíamos la validez mediante el tipo de índice de correlación adecuado a las escalas de ambas variables (biserial, tetracórica etc.). El concepto de validez también puede aplicarse a cada uno de los ítems, y calcularse por correlación entre éstos y la variable criterio.

Tabla 1

Resultados del test con 20 ítems tipo DASA aplicado a una población de 105 hipótesis de parentesco (ver texto). Abreviaturas: A: Cada uno de los dendrogramas evolutivos posibles numerados 1-105. DASA: Puntuaciones DASA. RC: *Rescaled Consistency Index*. P&H: Distancia de partición de Penny y Hendy (1985) de cada dendrograma con relación a la hipótesis filogenética "verdadera" (el dendrograma número 18).

A	DASA	RC	P&H	A	DASA	RC	P&H	A	DASA	RC	P&H
1	4	0,263	4	36	3	0,263	6	71	3	0,194	6
2	4	0,228	4	37	3	0,245	6	72	3	0,194	6
3	6	0,298	2	38	5	0,298	4	73	5	0,245	4
4	4	0,228	4	39	3	0,194	6	74	3	0,211	6
5	3	0,211	4	40	2	0,211	6	75	2	0,177	6
6	3	0,211	6	41	3	0,194	6	76	1	0,160	6
7	2	0,228	6	42	2	0,194	6	77	1	0,177	6
8	4	0,245	4	43	2	0,245	6	78	3	0,228	6
9	5	0,245	4	44	1	0,228	6	79	2	0,194	6
10	3	0,228	4	45	1	0,228	6	80	2	0,160	6
11	5	0,228	4	46	2	0,177	6	81	2	0,211	6
12	7	0,298	2	47	4	0,280	4	82	4	0,228	4
13	4	0,228	6	48	2	0,194	6	83	1	0,127	6
14	3	0,211	6	49	1	0,144	6	84	1	0,177	6
15	3	0,228	4	50	2	0,194	6	85	2	0,211	6
16	3	0,228	4	51	2	0,160	6	86	2	0,263	6
17	3	0,245	2	52	2	0,177	6	87	2	0,245	6
18	6	0,316	0	53	5	0,263	4	88	4	0,245	4
19	3	0,211	2	54	2	0,211	6	89	2	0,177	6
20	2	0,211	6	55	2	0,194	6	90	1	0,144	6
21	1	0,211	6	56	1	0,144	6	91	1	0,177	6
22	3	0,160	6	57	2	0,228	6	92	1	0,211	6
23	4	0,194	6	58	1	0,228	6	93	1	0,194	6
24	2	0,160	2	59	1	0,228	6	94	1	0,194	6
25	3	0,228	6	60	1	0,228	6	95	2	0,194	4
26	3	0,194	6	61	1	0,160	6	96	1	0,211	6
27	3	0,228	6	62	1	0,228	6	97	2	0,160	4
28	5	0,280	4	63	3	0,263	4	98	5	0,245	2
29	2	0,177	6	64	1	0,280	6	99	1	0,177	6
30	3	0,194	6	65	0	0,228	6	100	1	0,211	6
31	1	0,160	6	66	0	0,211	6	101	1	0,194	6
32	3	0,194	6	67	1	0,228	6	102	1	0,144	6
33	3	0,194	6	68	1	0,228	4	103	2	0,177	6
34	6	0,298	4	69	4	0,298	2	104	4	0,245	4
35	3	0,194	6	70	1	0,177	4	105	2	0,194	6

La relación entre **fiabilidad** y **validez** es objeto de mucha atención en Psicometría, estudiándose las consecuencias para el coeficiente de validez de mejorar (mediante cambio del conjunto de ítems) la fiabilidad (de test o de criterio), o los errores (de test o criterio), todo ello de comprensible utilidad para el diseño de tests y escalas generales. Del mayor interés en los casos de inferencia filogenética es la posibilidad de estimar el valor concreto en el criterio (= filogenia) a partir del test, lo que se realiza mediante regresión entre ambas variables (= las que se definan operativamente para test y criterio)[20], como se muestra en la figura 3. En los supuestos habituales de normalidad y homocedasticidad para esas variables, y calculado el error típico de estimación, es posible delimitar el intervalo de confianza de sujetos concretos para la variable criterio (= la que refleja la filogenia).

Como se ha indicado, podríamos ahora aplicar la escala de medición DASA a otras especies cualquiera, cuyas relaciones filogenéticas fueran totalmente desconocidas. Si lo hiciéramos, partiríamos con las innegables ventajas siguientes: a) no habría subjetividad alguna en la selección de los caracteres y

estados, por derivarse estrictamente del procedimiento DASA a partir de las secuencias, y de hecho lo podría hacer automáticamente una máquina. b) la fiabilidad y validez esperable de los resultados si aplicáramos esta escala (esto es, su precisión como instrumento de medida), quedaría establecida de antemano toda vez que DASA habría sido validada para modelos filogenéticos con parámetros (mutacionales etc) equiparables. En función del número de ítems conoceríamos de antemano el comportamiento esperable de esta escala de baja fiabilidad y relativamente alta validez, pudiendo decidir si es, o no, la más idónea para nuestros propósitos frente a otras alternativas. c) la función de distribución estadística de los resultados sería también conocida, por lo que pueden seguirse sencillos procedimientos de cálculo de intervalos de confianza y determinar probabilidades para diferenciar alternativas. Esto último es imposible con los procedimientos biológicos al uso, pues al fundamentar la verosimilitud relativa en iteraciones del mismo proceso (ej. *bootstrap*, *jackknife*) sus resultados sólo son orientativos y exclusivamente aplicables a comparar (sin claras funciones de distribución subyacentes) agrupamientos de un

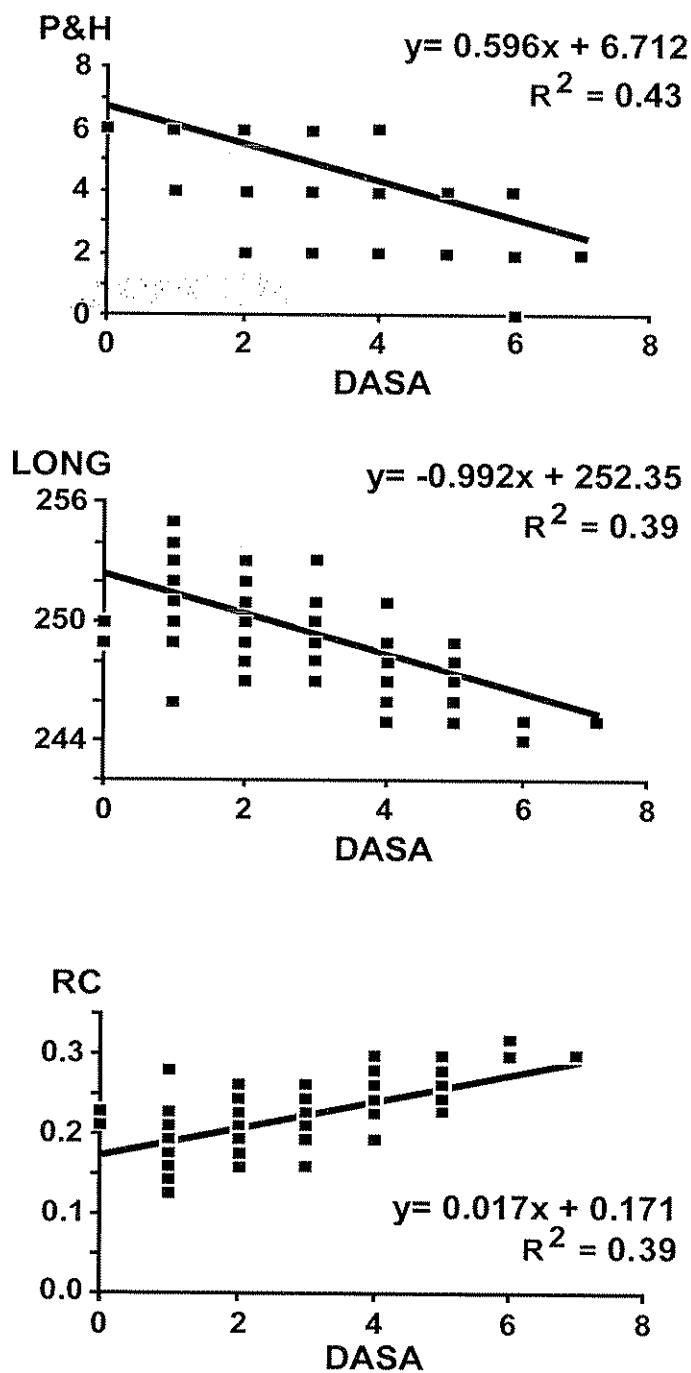


Fig. 3.- Regresiones lineales entre DASA (ver texto) y otras tres variables para una población de 105 dendrogramas enraizados posibles ("sujetos" del test). Aunque su tamaño es constante, cada punto representa a un número distinto de dendrogramas. P&H: Distancias con relación al dendrograma correcto (el único con valor 0 en ordenadas); LONG: Número de pasos evolutivos, y RC: *Rescaled Consistency Index*, de cada dendrograma para la secuencia COI completa.

mismo árbol. Es difícil discernir, por ejemplo, si un valor de *bootstrap* del 80% refleja un agrupamiento que podamos aceptar como real, o si éste es más o menos de fiar que otro del 70%. Aún más, con los procedimientos disponibles clásicos no pueden compararse filogenias globales de animales diferentes. No se puede afirmar (con un nivel de significación dado) que la filogenia de determinado género de insectos está mejor o peor fundamentada que la de otro cualquiera, algo que sería factible, por ejemplo, con el método psicométrico.

e. Diversidad de predictores

En nuestro caso únicamente hemos trabajado con un tipo de caracteres (DASA), pero de haber podido disponer de otros, como hubiera sido el caso si la comunidad biológica hubiera utilizado métodos análogos a los psicométricos, también habiéramos podido estimar el criterio (= la filogenia) a partir de varios tests predictores (= protoescalas) distintos. Los ineficaces "árboles de consenso" que se emplean en Biología pueden sustituirse, disponiendo de varios "tipos de rasgos homogéneos" (= tests predictores), por inferencias filogenéticas basadas en la regresión múltiple, aplicando unas herramientas estadísticas potentes y muy bien conocidas.

OBSERVACIONES FINALES

No es necesario llevar más lejos el ejemplo que ilustra esta analogía, hasta completar la inferencia filogenética, es decir, la selección de uno o varios sujetos. Ya se ha podido comprobar como dentro de unos supuestos teóricos razonables pueden diseñarse tests que se transforman en instrumentos de medida de la genealogía, y con los cuales la inferencia pasa de ser un estudio artesanal, aplicable a un único caso, a disponer de instrumentos de medición generales. De hecho, los "sujetos" de nuestra analogía, al no ser seres humanos sino entidades matemáticas formales, permiten una mejor integración en el modelo general de la TCT (y en la TRI). El mismo tratamiento y análisis de los resultados ya no recae necesariamente en la realización de iteraciones aleatorias para posibilitar la evaluación (casi intuitiva) de las hipótesis de parentesco seleccionadas, sino que es posible el uso, por ejemplo, de los intervalos de confianza de la estadística tradicional. Cierto es que quedan problemas no resueltos si se quisiera aplicar esta perspectiva de "escalas generales" (instrumentos de medición), en vez de procedimientos de "usar y tirar" como los actuales. Entre otros, por ejemplo, no es trivial el diseño del tipo de muestreo para los casos en que no se quisiera analizar toda la población de 'sujetos' (= modelos evolutivos) posibles. Sin embargo, la elaboración que sobre esa base es posible desarrollar, y que recomiendo se emprenda seriamente, permitirá alcanzar resultados más verosímiles y a la vez más creíbles para el conjunto de la comunidad científica, que podrá establecer la precisión del protocolo elegido.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a R. Zardoya que me haya proporcionado las secuencias moleculares del gen COI y su análisis de parsimonia efectuado con el programa PAUP. D. Buckley, A.I. Camacho, A. García-Valdecasas, N. Guil, R. Márquez, M. Nieto y M. París han colaborado de diversas maneras y han revisado versiones previas de este manuscrito.

BIBLIOGRAFIA

- CUMMINGS, M. P., OTTO, S. P. Y WAKELEY, J., 1995. Sampling properties of DNA sequence data in Phylogenetic Analysis. *Molecular Biology and Evolution*, **12** (5): 814-822.
- DAWLEY, R. Y BOGART, J. P., 1989. *Evolution and Ecology of unisexual vertebrates*. Museum Bulletin New York State Museum, Albany. 466: 302 pp.
- EMERSON, S. B. Y HASTINGS, P. A., 1998. Morphological correlations in evolution: Consequences for phylogenetic analysis. *Quarterly Review Biology*, **73** (2): 141-162.
- GARCÍA CUETO, E. 1993. *Introducción a la Psicometría*. Siglo XXI de España, Madrid, 242 pp.
- GUTIÉRREZ RODILLA, B. M., 1998. *La Ciencia empieza en la palabra. Análisis e historia del lenguaje científico*. Península, Barcelona. 381 pp.
- HILLIS, D. M., MORITZ, C. Y MABLE, B. K., (eds.). 1996. *Molecular Systematics*. Sinauer Associates, Sunderland. 655 pp.
- LIAÑO, J. M. 1984. Taxon. *Anales Real Jardín Botánico Madrid*, **40** (2): 477
- KITCHING, I. J., FOREY, P. L., HUMPHRIES, C. J. Y WILLIAMS, D. M., 1998. *Cladistics. The theory and practice of Parsimony Analysis*. Oxford University Press, Oxford, 228 pp.
- MUÑIZ, J., 1997. *Introducción a la Teoría de Respuesta a los Items*. Pirámide, Madrid. 250 pp.
- MUÑIZ, J., 1998. *Teoría Clásica de los Tests*. Pirámide, Madrid. 387. (obra actualizada en relación a ediciones anteriores 1992-1996)
- PENNY, D. Y HENDY, M. D., 1985. The use of tree comparison metrics. *Systematic Zoology*, **34** (1): 75-82.

NOTAS Y OBSERVACIONES

- [1] No debe sorprender que no haya textos generales en castellano, dada la escasa atención a esta disciplina en los planes de estudio vigentes en la universidad española.
- [2] Véase la URL <http://www.ucmp.berkeley.edu/subway/phylogen.html>
- [3] Es una "creación" de la mente del investigador ya que existen ilimitadas maneras de definir y delimitar los mismos rasgos observables y convertirlos en caracteres de uso taxonómico o filogenético. Por ejemplo, el grado de alargamiento de una estructura morfológica puede describirse y definirse mediante apreciación subjetiva (grande - pequeña), absoluta (con medidas), relativa (con índices), proporcional cualitativo respecto a otra estructura (ej. metatarso mayor que metacarpo), etc.
- [4] En este trabajo se examinan algunas aportaciones posibles de la Psicometría a la Biología, y no a la inversa, aunque ciertamente estas últimas no carecen de interés para los psicólogos.
- [5] Un ejemplo nimio reciente es la acentuación de la palabra "taxón". A partir del trabajo de Liaño (1984), donde se justifica lingüísticamente como más correcta la pronunciación "t{á}xon" en vez de "tax{ó}n", un creciente número de taxónomos emplean esa acentuación modificada. Observado en directo estos años, en congresos y oposiciones, tengo la impresión de que el metalenguaje implícito es considerar desfasado y caduco a quien no esté "a la moda". Se pasa así de un término entendido por todos los sistemáticos a otro que divide el colectivo en subgrupos. Personalmente recomiendo, en pro de la estabilidad del idioma castellano, esperar a que la Real Academia Española de la Lengua modifique el término (actualmente figura "taxón").
- [6] Los supuestos básicos de la TCT más importantes (García Cueto, 1993; Muñiz, 1998) asumen que los resultados obtenidos por un sujeto en un test (X) corresponden a la suma de la puntuación verdadera de dicho sujeto (V) más un error de medida (e), es decir, $X=V+e$. Para cada sujeto, X y e son variables aleatorias, en tanto que V es constante. La correlación entre los errores de medida y las puntuaciones verdaderas es cero. Influyen en el error cometido, en el caso filogenético, la propia definición de los caracteres y su codificación (al igual que la de los ítems), pero también los supuestos del modelo filogenético que actúa como sujeto. Ejemplos del último tipo son la definición operativa de especie y linaje, la transferencia no anagenética de información genética (hibridación, transmisión horizontal) etc.
- [7] Por ejemplo, no se ha debatido lo suficiente la conveniencia de que la Taxonomía, entendida como la realización de una clasificación-inventario de los seres vivos (incluyendo su nomenclatura), deba basarse en la filogenia. Las razones para ello nunca pasan de ser referencias a un ambiguo "mayor poder de predicción" de las clasificaciones basadas en grupos monofiléticos, o a una (ficticia) mayor estabilidad. Sin embargo, es indudable que realizar así la tarea taxonómica es labor mucho más lenta que hacerlo de otras maneras posibles, y puede calcularse que al ritmo que se trabaja no se alcanzarán niveles altos de culminación del inventario básico de la biodiversidad en ningún plazo razonablemente aceptable. Dado que el "poder de predicción" de la parte del inventario no efectuado es nulo, y que éste es al parecer mayor que la parte ya inventariada, es lícito plantearse el renunciar a fundamentar filogenéticamente la clasificación. El ejemplo de otras ciencias, como Astronomía o Mineralogía, debiera ser imitado. Si durante el pasado siglo se hubiera encargado la confección del inventario a colectivos más pragmáticos, como ingenieros o militares, tengo el convencimiento de que éste estaría considerablemente más completo.
- [8] No sólo en estudios botánicos, sino también en Zoología, se va admitiendo que es frecuente la existencia de procesos de especiación que producen ramificaciones anastomosadas en los árboles evolutivos, como la hibridación (ej. Dawley y Bogart, 1989).
- [9] Todo ello supone una simplificación poco realista (Cummings et al., 1995; Hillis et al., 1996) pero facilita la elaboración y comprensión del ejemplo ilustrativo que se presenta.
- [10] Similares argumentos pueden aplicarse a los "caracteres moleculares", ya que su único común denominador son algunas de las técnicas con que se observan. Además, en estos casos, a diferencia de los rasgos morfológicos complejos, la posibilidad de reversión al estado inicial es mucho mayor, y esos parámetros deben especificarse.
- [11] Además también específicas para casos de cladogénesis acotables cronológicamente, aprovechando así las distintas tasas mutacionales de cada gen.
- [12] Adviértase que estos 105 dendrogramas suponen una población, y no una muestra estadística, ya que no existe ninguna otra posibilidad concebible.
- [13] El coeficiente de fiabilidad varía entre 0 y 1, se define como la razón entre las varianzas de las puntuaciones verdaderas y observadas, y se estima mediante la correlación entre dos formas paralelas del test.
- [14] En rigor debiéramos haber seleccionado dos muestras aleatorias de ítems cuyas varianzas fueran iguales, pero esto es un mero procedimiento estadístico que sólo dificultaría la comprensión general del procedimiento. Por otra parte, DASA es una mala fuente de ítems, ilustrativa sólo como ejemplo.
- [15] Su desviación típica responde a la siguiente fórmula: $\sigma_r = \sigma_x \sqrt{1 - \rho_x}$, siendo σ_x la desviación típica de las puntuaciones observadas y ρ_x el coeficiente de fiabilidad.
- [16] Puede utilizarse la fórmula siguiente (García Cueto, 1993): $\alpha = (n/(n - 1)) (1 - (\sum \sigma_i^2 / \sigma_x^2))$, siendo σ_i^2 la varianza del ítem i, y σ_x^2 la varianza de los resultados observados del test. El coeficiente α es igual que el coeficiente de fiabilidad solo en el caso de que todos los ítems estén midiendo lo mismo y sean estrictamente paralelos.
- [17] Despejando n en la ecuación general de Spearman-Brown: $n = R_x (1 - \rho_x) / (1 + (n-1) \rho_x)$, siendo R_x el coeficiente de fiabilidad deseado, que en nuestro caso ciframos en el 95% ($R_x = 0.95$) y ρ_x el coeficiente de fiabilidad del test inicial ($\rho_x = 0.167$). El valor de n es igual al número de veces por el que hay que multiplicar al número de elementos del test inicial, en nuestro ejemplo 20 ítems, dando así el número de ítems paralelos que se deben añadir.
- [18] El coeficiente de correlación es obviamente el adecuado a las escalas en que estén codificados los datos (ej. Pearson, Spearman, biserial, tetracórica etc.).
- [19] Para los taxa directamente implicados en nuestro ejemplo la secuencia del COI recupera la filogenia correcta, pero no en todos los casos en que se cambia uno de estos linajes por otro equiparable en ese contexto (ej. pez pulmonado en vez de celacanto) de hecho lo consigue.
- [20] Para un modelo de regresión lineal, el pronóstico en el criterio (y') a partir de los puntos obtenidos (x') por un sujeto en el test es: $y' = \rho_v (\sigma_y / \sigma_x) (x - \mu) + \hat{y}$, siendo ρ_v el coeficiente de validez, σ_y y σ_x las desviaciones típicas de criterio (media \hat{y}) y test (media μ) (García Cueto, 1993).

Apéndice I. Base de datos de caracteres

Muestra de caracteres moleculares proporcionada por el Dr. Rafael Zardoya (Museo Nacional de Ciencias Naturales) para seis especies de vertebrados. Secuencia alineada de 522 aminoácidos de una proteína derivada del gen Citocromo Oxidasa I (COI). Ausencia: +. Las letras indican aminoácidos según el código estándar de la IUPAC-IUB.

A: Humano (*Homo sapiens*):

M+++FADRWLFSTNHKDIGTLYLLFGAWAGVLGTALSLLIRAEELGQPGNLLGNDHIYNVIVTAHAFVMIFFMVMPIMIGGFGNWLVPMLIGAP
DMAFPRMNNMSFWLLPPSLLLLASAMVEAGAGTGWTVYPPLAGNYSHPGASVDLTI FSLHLAGVSSILGAINFITTI INMKPPAMTQYQTP
FVWSVLITAVLLLLLSPVLAAGITMLLTDRNLNNTFFDPAGGGDPILYQHLFWFFGHPEVYIILIPGFGMISHIVTYYSKGKPEFGYMGMWVA
MMSIGFLGFIWVAHMFVGMVDVTRAYFTSATMIIAIPGKVFVSWLATLHGSNMKWSAAVLWALGFIFLFTVGGTGTIVLANSLLDIVLHD
TYYVVAHFHYVLSMGAVFAIMGGFIHWFPLFSGYTLDQTYAKIHFTIMFIGVNLTFPPQHFLGLSGMPRRYSYDPDAYTTWNLSSVGSFISL
TAVMLMI FMIWEAFASKRKLVMVEEPSMNLEWLYGCPPPYHTFEEFVY++++MKS++

B: Avestruz (*Strutio camelus*):

M++TFITRWLFSTNHKDIGTLYLIFGAWAGMVGTAALSLLIRAEELGQPGTLLGDDQIYNVIVTAHAFVMIFFMVMPVMIGGFGNWLVPMLIGAP
DMAFPRMNNMSFWLLPPSLLLLASSTVEAGAGTGWTVYPPLAGNLAHAGASVDLAI FSLHLAGVSSILGAINFITTA INMKPPALSQYQTP
FVWSVLITAVLLLLLSPVLAAGITMLLTDRNLNNTFFDPAGGGDPILYQHLFWFFGHPEVYIILIPGFGMISHIVTYYSKGKPEFGYMGMWVA
MLSIGFLGFIWVAHMFVGMVDVTRAYFTSATMIIAIPGKIVFVSWLATLHGTTIKWDPILWALGFIFLFTVGGTGTIVLANSLLDIALHD
TYYVVAHFHYVLSMGAVFAIMAGFTHWFPLFTGYTLHPTWAKAHFGVMFTGVNLTFFPPQHFLGLAGMPRRYSYDPDAYTLWNTMSSIGSLISM
TAVIMLMFI IWEAFSSKRKVLQPELIATNIEWIHGCPPPHHTFEEPAFVQVE++++

C: Tortuga (*Pelomedusa subrufa*):

MSLVNLRWLFSTNHKDIGTLYLIFGAWAGMIGTALSLLIRTELNQPGNLLGSDQTYNVIIVTAHAFVMIFFMVMPVMIGGFGNWLVPMLIGAP
DMAFPRMNNMSFWLLPPSLLLLASSAIEAGAGTGWTVYPPLAGNLAHAGASVDLAI FSLHLAGASSILGAINFITTVINMKTPNMSFLDMLP
FVWSVLITAVLLLLLSPVLAAGITMLLTDRNLNNTFFDPAGGGDPILYQHLFWFFGHPEVYIILIPGFGMISHIVTYYSKGKPEFGYMGMWVA
MTSIGFLGFIWVAHMFVGMVNVNTRAYFTSATMIIAIPGKIVFVSWLATIHGGLIKWEAPMLWAFGFIFLFTVGGTGTIVLANSLLDIALHD
TYYVVAHFHYVLSMGAVFAIMAGFTHWFPLFTGYPLHSTWTKIHFTTMFIGVNLTFPPQHFLGLAGMPRRYSYDPDAYTLWNTMSSIGSLISM
TAVVMMTFIIWEAMSSKRSTTTTEQMSTNVEWTYLCPPPNHTHV+EAETHLIRP++++

D: Salamandra (*Salamandra luschani*):

M++++ITRWLFSTNHKDIGTLYLIFGAWAGMVGTAALSLLIRAEELSQPGLLGDQIYNVIVTAHAFVMIFFMVMPVMIGGFGNWLVPMLIGAP
DMAFPRMNNMSFWLLPPSLLLLASSGVEAGAGTGWTVYPPLAGNLAHAGASVDLTI FSLHLAGVSSILGAINFITTVINMKPPSMTQYQTP
FVWSVLITAVLLLLLSPVLAAGITMLLTDRNLNNTFFDPAGGGDPILYQHLFWFFGHPEVYIILIPGFGMISHIVTYYSKGKPEFGYMGMWVA
MMSIGLLGFIWVAHMFVTDLNVDTTRAYFTSATMIIAIPGKIVFVSWLATMHGGSIKWDAAMLWALGFIFLFTVGGTGTIVLANSLLDIALHD
TYYVVAHFHYVLSMGAVFAIMGGFVHWFPLFSGYTLHPVWTKIHFGLMFIGVNLTFPPQHFLGLAGMPRRYSYDPDAYTLWNTMSSIGSLISM
VAVIMMFI IWEAFASKREVMTTKLTSTNIEWLHGCPPPYHTFEEPSFVQARTYQQE

E: Celacanto (*Latimeria chalumnae*):

M++++ITRWLFSTNHKDIGTLYMIFGAWAGMVGTAALSLLIRAEELSQPGALLGDDQIYNVVVTAHAFVMIFFMVMPIMIGGFGNWLVPMLIGAP
DMAFPRMNNMSFWLLPPSLLLLASSGVEAGAGTGWTVYPPLAGNLAHAGASVDLTI FSLHLAGVSSILGAINFITTVINMKPPSMTQYQTP
FIWVSVLITAVLLLLLSPVLAAGITMLLTDRNLNNTFFDPAGGGDPILYQHLFWFFGHPEVYIILIPGFGMISHIVTYYSKGKPEFGYMGMWVA
MMAIGLLGFIWVAHMFVGMVDVTRAYFTSATMIIAIPGKIVFVSWLATLHGGSIKWETPLLWALGFIFLFTVGGTGTIVLANSLLDIALHD
TYYVVAHFHYVLSMGAVFAIMGGLVHWFPLMTGYTLHNTWTKIHFGVMFTGVNLTFFPPQHFLGLAGMPRRYSYDPDAYTLWNTVSSIGSLISM
IAVIMMFI IWEAFSSKREVLIVEMTTNVEWLHGCPPPYHTFEEPAFVQVQAPR++++

F: Tiburón (*Scyliorhinus canicula*):

M++++AINRWLFSTNHKDIGTLYLIFGAWAGMVGTAALSLLIRAEELGQPGSLLGDDQIYNVIVTAHAFVMIFFMVMPVMIGGFGNWLVPMLIGAP
DMAFPRMNNMSFWLLPPSLLLLASAGVEAGAGTGWTVYPPLAGNMAHAGRSVDLTI FSLHLAGISSILASINFITTI INMKPPAVSQYQTP
FVWSILVTTVLLLLLSPVLAAGITMLLTDRNLNNTFFDPAGGGDPILYQHLFWFFGHPEVYIILIPGFGMISHIVTYYSKGKPEFGYMGMWVA
MMAIGLLGFIWVAHMFVGMVDVTRAYFTSATMIIAIPGKIVFVSWLATLHGGSIKWETPLLWALGFIFLFTVGGTGTIVLANSLLDIALHD
TYYVVAHFHYVQTMGAVFAIMAGFIHWFPLMSGFTLHSTWTKIQVLMFIGVNLTFPPQHFLGLAGMPRRYSYDPDAYALWNTVSSIGSLISM
VAVIMLLFI IWEAFSSKREVLISIELPNTNVEWLHGCPPPYHTFEEPAFVQVQVRSF++

MATRIZ DE CARACTERES DASA: Se ha mantenido en la recodificación el orden entre caracteres derivado de la secuencia inicial. Véase el texto para detalles del procedimiento de selección y polaridad. El valor 1 indica la posible sinapomorfía, pero el valor 0 sólo indica que no son parte de ésta, sin que de a entender que exista simplesiomorfía alguna. Las secuencias que siguen son los caracteres en formato binario, con un espacio cada bloque de diez, por lo que el primer número representa al carácter 1 y el último número al carácter 21. Este último carácter no se ha usado en los cálculos.

A: Humano (<i>Homo sapiens</i>)	1100100011	1101110101	1
B: Avestruz (<i>Struthio camelus</i>)	0011111101	1100011110	0
C: Tortuga (<i>Pelomedusa subrufa</i>)	0111110110	1110011000	1
D: Salamandra (<i>Salamandra luschani</i>)	0010111011	1011110001	0
E: Celacanto (<i>Latimeria chalumnae</i>)	1110000010	0000101010	0
F: Tiburón (<i>Scyliorhinus canicula</i>)	0000000000	0000000000	0