



## LOS MÉTODOS COMPARATIVOS FILOGENÉTICOS EN EL ESTUDIO DE LAS AVES

BETTINA MAHLER<sup>1,2</sup> Y PABLO L. TUBARO<sup>1</sup>

<sup>1</sup> División Ornitología, Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia",  
Av. Ángel Gallardo 470, C1405DJR Buenos Aires, Argentina

<sup>2</sup> bemahler@bg.fcen.uba.ar

**RESUMEN.**— En los últimos diez años, la apreciación de que las relaciones jerárquicas de ancestralidad común entre las especies las convierte en productos evolutivos no independientes ha revolucionado la forma en la que se realizan los estudios comparativos. Los métodos comparativos filogenéticos se basan en la noción de que los grados de libertad de los análisis no están dados simplemente por el número de especies involucradas en el estudio sino por el número de instancias independientes de evolución de los caracteres estudiados. Además de describir tres de los métodos actualmente más utilizados (Contrastes Filogenéticamente Independientes, Cambios Concentrados y Estados Contingentes) y de ejemplificar su uso en el campo ornitológico, se discuten algunas de las objeciones que se han planteado al uso de los métodos comparativos filogenéticos, tales como la falta de filogenias robustas y los problemas de reconstrucción de los estados ancestrales.

**PALABRAS CLAVE:** *aves, cambios concentrados, contrastes independientes, estados contingentes, método comparativo filogenético.*

**ABSTRACT.** PHYLOGENETIC COMPARATIVE METHODS IN THE STUDY OF BIRDS.— In the past ten years, the realization that species are not independent evolutionary products because of their shared phylogenetic history has changed the way in which comparative studies are done. The phylogenetic comparative methods are based on the consideration that the degrees of freedom are not simply given by the number of species involved in the study but by the number of independent instances of evolution of the characters. In this review we describe three of the more frequently used methods (Phylogenetically Independent Contrasts, Concentrated-changes and Contingent-states) and show examples of their use in ornithological studies. We also discuss some of the objections made on the use of phylogenetic comparative methods, such as the lack of robust phylogenies and the problems in reconstructing ancestral character states.

**KEY WORDS:** *birds, concentrated-changes, contingent-states, independent contrasts, phylogenetic comparative method.*

La incorporación de la filogenia a los estudios comparativos ha sido ampliamente implementada en los últimos diez años; tanto es así que actualmente es raro encontrar un estudio comparativo que no utilice métodos filogenéticos de análisis o al menos discuta las relaciones filogenéticas entre los taxa de estudio. Una revisión de la literatura ornitológica, que incluyó las revistas *The Auk*, *The Condor* e *Ibis*, muestra claramente esta tendencia. Como

puede apreciarse en la figura 1, desde comienzos de la década de los 90 ha aumentado considerablemente la cantidad de estudios comparativos publicados y, especialmente, la proporción de ellos basados en métodos filogenéticos. En el mismo período también existió un aumento del total de trabajos publicados de todos los temas. Es importante aclarar que una gran cantidad de estudios comparativos de aves con métodos filogené-

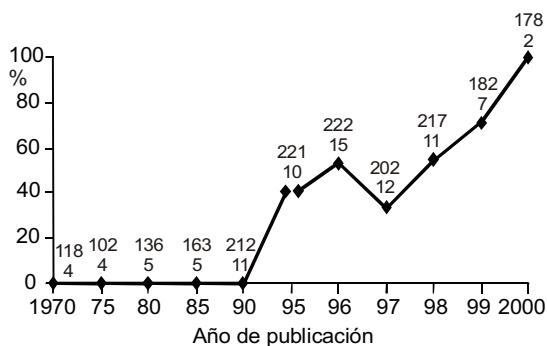


Figura 1. Incorporación de métodos comparativos filogenéticos a los estudios comparativos publicados en las revistas ornitológicas en los últimos 30 años. Los valores corresponden al porcentaje de trabajos con métodos comparativos filogenéticos sobre el total de los estudios comparativos. El número superior muestra el total de trabajos publicados, el inferior es el número total de trabajos comparativos.

tics son publicados en revistas periódicas que no están dedicadas exclusivamente a la ornitología. Tal es el caso de *Behavioural Ecology*, *Animal Behaviour*, *Evolution*, *Biological Journal of the Linnean Society*, *Proceedings of the Royal Society of London*, etc. Más aún, recientemente ha sido publicado un libro completo dedicado a la ecología evolutiva de aves basado exclusivamente en este tipo de aproximación<sup>1</sup>.

Los métodos comparativos filogenéticos han surgido como consecuencia de la incorporación del componente histórico a los estudios ecológicos y evolutivos, y a la aceptación de que una parte sustancial del parecido entre los taxa es producto de su ancestralidad común<sup>2-4</sup>.

Estos métodos constituyen herramientas estadísticas que incorporan la información sobre el parentesco de los taxa al análisis de los datos comparativos, descontando el efecto que las relaciones filogenéticas pueden tener sobre la asociación de caracteres. En este proceso se corrigen también los grados de libertad del análisis, que ya no están dados por el número de especies involucradas sino por la cantidad de instancias evolutivamente independientes de asociación entre los caracteres que se estudian<sup>5-7</sup>. Tomemos como ejemplo el problema de la evolución del dimorfismo sexual en las especies de aves con un sistema de apareamiento tipo lek. Höglund<sup>8</sup> encontró una relación positiva y significativa entre la posesión de leks y el dimorfismo de tamaño y de plumaje, al comparar un total de 114 espe-

cies de aves consideradas como datos independientes (Tabla 1a). Sin embargo, utilizando la filogenia de las especies estudiadas e identificando el número de cambios evolutivamente independientes, el análisis resultó en un número mucho menor de casos (Tabla 1b), de manera tal que la pequeña desproporción de especies dimórficas que forman leks puede perfectamente ser explicada por azar. Este ejemplo muestra en forma clara cómo la utilización de especies como datos independientes puede llevar a resultados erróneos.

Como resulta imposible explicar en un breve espacio la gran cantidad de métodos comparativos filogenéticos existentes en la actualidad, haremos hincapié en tres de los métodos más utilizados: la Prueba de Contrastes Filogenéticamente Independientes<sup>7</sup>, la Prueba de Cambios Concentrados<sup>9</sup> y la Prueba de Estados Contingentes<sup>10</sup>, de los cuales los dos últimos implican un "mapeo" de los caracteres sobre la filogenia. El primer objetivo de este trabajo es describir estos tres métodos y mostrar ejemplos de su aplicación. En segundo lugar, discutiremos los principales problemas y limitaciones de los métodos comparativos filogenéticos. Aquellos interesados en conocer en mayor profundidad la diversidad de métodos existentes, sus características y debilidades pueden remitirse a Harvey y Pagel<sup>3</sup>, Gittleman y Luh<sup>11</sup>, Miles y Dunham<sup>12</sup>, Wenzel y Carpenter<sup>13</sup>, Martins y Hansen<sup>14,15</sup>, Cunningham et al.<sup>16</sup>, Losos<sup>17</sup> y Martins<sup>18</sup>.

#### CONTRASTES FILOGENÉTICAMENTE INDEPENDIENTES

Este método fue desarrollado por Felsenstein<sup>7</sup> y se basa en que las diferencias o "contrastes" en los valores de un carácter entre especies hermanas son independientes de las diferencias entre cualquier otro par de especies hermanas, y están, por lo tanto, libres del efecto filogenético. Cabe acotar que cuando se habla de especies hermanas nos referimos a aquellas que comparten un ancestro común exclusivo, y pueden ser especies actuales y/o ancestrales (Fig. 2). En el caso de tratarse de especies ancestrales para las que no se conocen directamente los valores de las variables a comparar, son necesarios métodos de reconstrucción de ancestros (ver críticas más abajo). Los contrastes se calculan para dos o más variables cuantitativas, de manera tal que cual-

Tabla 1. (a) Presencia/ausencia de dimorfismo de tamaño y de plumaje en 114 especies de aves con sistemas de apareamiento tipo lek o distintos de lek. (b) Instancias independientes de evolución de dimorfismo de tamaño y de plumaje en presencia de sistemas de apareamiento tipo lek o distintos de lek, teniendo en cuenta la filogenia de las 114 especies de aves. Tabla tomada de Höglund<sup>8</sup>.

| Sistema de apareamiento | Dimorfismo de tamaño |                  | P      | Dimorfismo de plumaje |                  | P      |
|-------------------------|----------------------|------------------|--------|-----------------------|------------------|--------|
|                         | Presente<br>n (%)    | Ausente<br>n (%) |        | Presente<br>n (%)     | Ausente<br>n (%) |        |
| (a)                     |                      |                  |        |                       |                  |        |
| Tipo lek                | 69 (79)              | 18 (21)          | 0.001  | 55 (62)               | 33 (38)          | < 0.01 |
| Distinto de lek         | 13 (50)              | 13 (50)          |        | 8 (31)                | 18 (69)          |        |
| (b)                     |                      |                  |        |                       |                  |        |
| Tipo lek                | 11 (55)              | 9 (45)           | > 0.18 | 11 (58)               | 8 (42)           | > 0.23 |
| Distinto de lek         | 6 (40)               | 9 (60)           |        | 6 (46)                | 7 (54)           |        |

quier asociación entre ellas queda en evidencia a partir de la asociación entre los valores de sus respectivos contrastes. Existe una variante de este método que se aplica cuando una de las variables es cualitativa. En este caso los contrastes se calculan entre cualquier par de especies que difieran en el valor de la variable discreta (que actúa como variable predictiva), teniendo la precaución de involucrar pares de especies que hayan acumulado diferencias a través de ramas no comunes de la filogenia (Fig. 2).

La existencia de una relación negativa entre las frecuencias acústicas del canto y el peso corporal constituye un patrón de variación que ha sido extensivamente documentado a través de comparaciones interespecíficas que consideraron cada especie como un punto de comparación independiente<sup>19,20</sup>. Presumiblemente, esta relación es consecuencia de factores anatómicos y/o fisiológicos tales como el tamaño de la siringe, la longitud de la tráquea y las frecuencias de resonancia de las vías aéreas suprasiríngeas, que covarían con el tamaño corporal. Nosotros analizamos la relación entre las frecuencias acústicas del canto y el peso corporal basándonos en el método de Contrastes Filogenéticamente Independientes, y usando como modelo de estudio las especies de palomas americanas<sup>21</sup>. Sobre la base de una filogenia conocida obtuvimos 40 contrastes, pero como las filogenias potencialmente pueden contener errores y la reconstrucción de ancestros es siempre problemática, repetimos el análisis comparando únicamente las especies hermanas actuales (13 contrastes), aceptando así la estructura de la hipótesis

filogenética solo en su nivel más bajo. Como se observa en la figura 3, la mayoría de los contrastes de peso corporal están asociados a contrastes de frecuencia del signo contrario, confirmando que las especies con pesos corporales mayores emiten vocalizaciones con frecuencias acústicas menores.

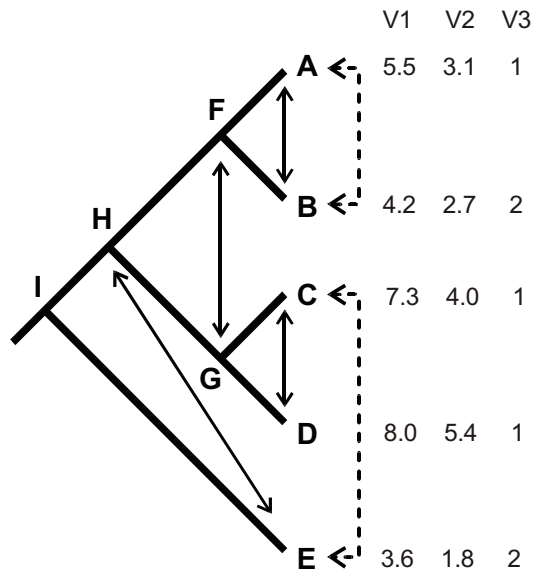


Figura 2. Filogenia de cinco taxa hipotéticos A, B, C, D y E. Los caracteres de los ancestros F, G, H e I se calculan a partir de los terminales. Las flechas indican los contrastes calculados cuando se aplica el método de Contrastes Filogenéticamente Independientes. Las flechas continuas corresponden a los contrastes para dos variables cuantitativas (V1 y V2), mientras que las flechas discontinuas corresponden a los contrastes en presencia de una variable discreta (V3). Ver texto para detalles del método.

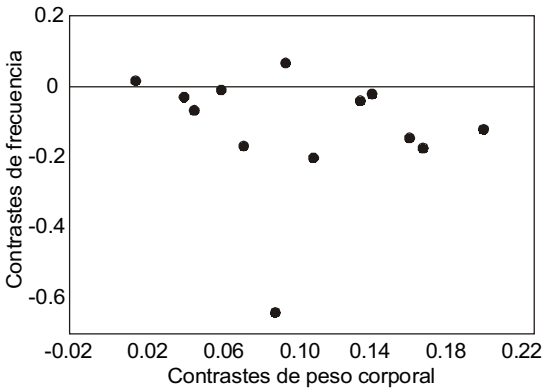


Figura 3. Contrastes de peso corporal versus contrastes de frecuencias acústicas del canto para 13 pares de especies hermanas de palomas, calculados siguiendo el método de Contrastes Filogenéticamente Independientes. Figura tomada de Tubaro y Mahler<sup>21</sup>.

#### MÉTODOS QUE IMPLICAN UN “MAPEO” DE CARACTERES

Estos métodos se utilizan para caracteres cualitativos (discretos) y se basan en la reconstrucción de los estados del carácter para todos los nodos internos, o ancestros hipotéticos, de la filogenia. Este proceso, también conocido como optimización o “mapeo” de caracteres, se realiza habitualmente mediante el criterio de parsimonia, minimizando el número de pasos implicados en la transformación de un carácter. A manera de ejemplo analicemos el problema de la evolución de los repertorios de canto. En general se piensa que los repertorios de canto más elaborados han evolucionado a partir de formas de canto simple y único, como consecuencia de procesos de selección intra e intersexual<sup>22,23</sup>. Gray y Hagelin<sup>24</sup> estudiaron los cantos de los ictéridos y “mapearon” los estados de este carácter (presencia/ausencia de repertorio de canto) sobre la filogenia molecular de Lanyon<sup>25</sup> ligeramente modificada. El resultado de dicho procedimiento se observa en la figura 4. Por la posición que ocupa *Quiscalus quiscula*, y siendo la única especie con un único tipo de canto dentro del grupo, la explicación más sencilla es que su condición deriva de un estado ancestral caracterizado por la presencia de repertorio con múltiples cantos. Caso contrario habría que suponer que la evolución de repertorios a partir de un único tipo de canto debió haber ocurrido varias veces en forma independiente, y

esto se considera menos probable. De manera similar, un estudio realizado sobre especies de emberízidos pertenecientes a los géneros *Melospiza*, *Junco*, *Passerella* y *Zonotrichia*, mostró que la posesión de un único tipo de canto es una condición derivada con respecto a la de un repertorio con varios de ellos<sup>26</sup>.

Al mismo tiempo que resulta posible establecer secuencias de cambios de un determinado carácter durante la evolución de un grupo de especies, los métodos de “mapeo” permiten estudiar la asociación entre dos o más variables discretas. Dos de los métodos más utilizados para este tipo de análisis son la Prueba de Cambios Concentrados<sup>9</sup> y la de Estados Contingentes<sup>10</sup>, cuyas particularidades han sido descritas por Werdelin y Sillén-Tullberg<sup>27</sup>. Esencialmente, los dos métodos comparan con una distribución nula (que difiere entre ambos) el número de veces que un estado de la

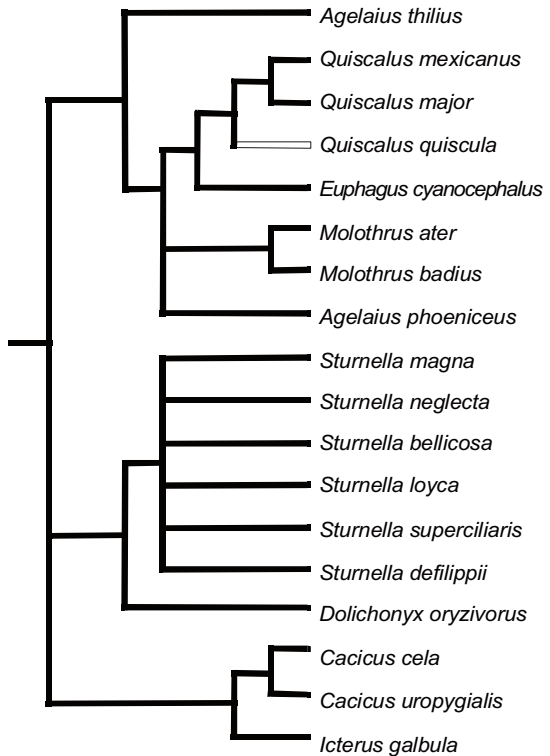


Figura 4. Filogenia de los ictéridos (ligeramente modificada de Lanyon<sup>25</sup>) con el carácter repertorio de canto “mapeado” como presente/ausente. Las ramas negras representan especies y estados ancestrales con repertorios, mientras que las ramas claras representan especies y estados ancestrales sin repertorios (i.e., con cantos simples). Figura tomada de Gray y Hagelin<sup>24</sup>.

variable dependiente aparece sobre ramas de la filogenia que presentan un determinado estado de la variable considerada independiente, y analizan si esta asociación es significativa.

En 54 de las 305 especies de palomas reconocidas actualmente, la primaria externa (remige 10) presenta una modificación muy llamativa denominada atenuación. Ésta consiste en una marcada reducción de la lámina interna de la pluma en su extremo distal. Según Goodwin<sup>28</sup>, la presencia de una atenuación en la primaria

externa mejoraría el desempeño en el vuelo, lo cual sería particularmente ventajoso en ambientes cerrados ya que permitiría cambios abruptos en la trayectoria de vuelo. Considerando que la mayoría de las 54 especies con atenuación vive en ambientes cerrados, un simple análisis de Chi-cuadrado tomando a cada una de ellas como un producto evolutivo independiente apoyaría la hipótesis del desempeño de vuelo. Sin embargo, el "mapeo" de los caracteres sobre la filogenia mostró que existen como máximo 17 instancias independientes de evolución de la atenuación, y que en 15 ocasiones la aparición del carácter ha ocurrido en linajes de ambientes cerrados (Fig. 5). Al aplicar la prueba de Estados Contingentes la asociación entre ambos caracteres resultó no significativa, dado que gran parte de las especies de palomas son de ambientes cerrados (y por lo tanto también lo son la mayoría de las ramas de la filogenia que las conectan), lo que hace probable que la mayoría de las apariciones de la atenuación ocurran asociadas a especies con ese tipo de ambiente. En otras palabras, la presencia de un mayor número de apariciones de la atenuación en especies de bosque podría ser producto del azar y no una evidencia de un cambio adaptativo para volar mejor en un ambiente con obstáculos<sup>29</sup>.

#### PROBLEMAS DE LOS MÉTODOS COMPARATIVOS FILOGENÉTICOS

Pese a su amplia aplicación en los últimos años, los métodos comparativos filogenéticos también han sido criticados en varios aspectos (e.g., ver Starck y Ricklefs<sup>30</sup>). Estas críticas tienen que ver principalmente con las filogenias utilizadas y con la reconstrucción de los ancestros.

##### *Dependencia de la filogenia disponible*

Las filogenias son hipótesis de parentesco entre los taxa, y no existe la certeza de que una hipótesis sea correcta, es decir, que represente exactamente la historia evolutiva del grupo. La utilización de una filogenia equivocada tiene dos consecuencias: que la reconstrucción de los ancestros sea errónea (aún suponiendo que conozcamos exactamente la forma en que evoluciona el carácter) y que las comparaciones se realicen entre pares de taxa equivocados.

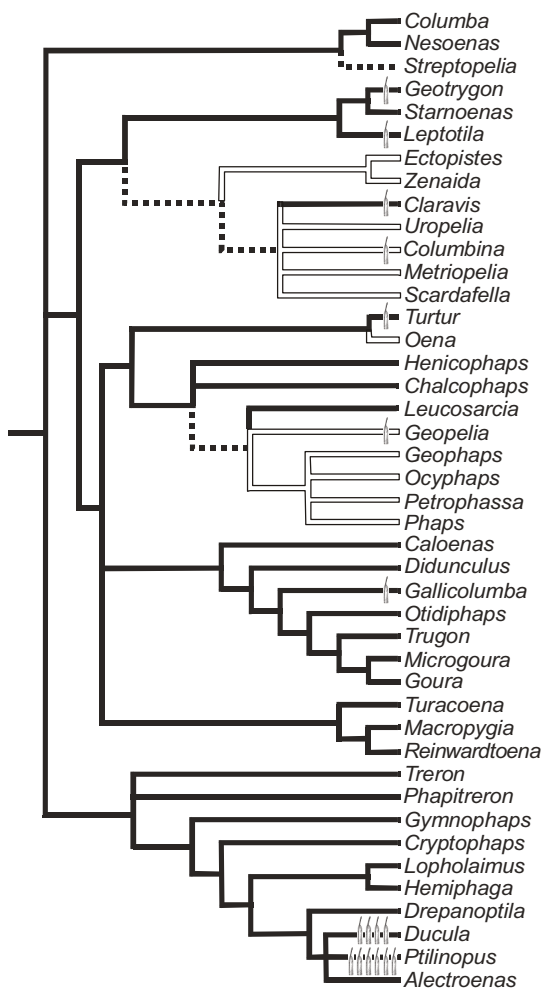


Figura 5. Filogenia de los 43 géneros del grupo Columbidae, mostrando las instancias evolutivamente independientes de aparición de la atenuación en la pluma primaria externa (remige 10, señalada con una pluma). Las ramas negras representan especies y estados ancestrales de ambientes cerrados, las ramas claras representan especies y estados ancestrales de ambientes abiertos y las ramas discontinuas representan un estado equivoco. Figura tomada de Mahler y Tubaro<sup>29</sup>.

Como regla general, un estudio comparativo debe basarse en una filogenia con alto grado de soporte en sus nodos. Especialmente en aquellos casos en los que esto no es posible se debería estudiar la robustez del análisis comparativo a partir de la utilización de una serie de árboles factibles. Si los resultados son contradictorios, las conclusiones permanecerán inciertas<sup>31,32</sup>. En algunos casos puede ocurrir que no exista una filogenia bien resuelta y/o con buen soporte, pero que sí se puedan identificar con bastante seguridad a pares de taxa hermanos. En estos casos es recomendable un análisis de contrastes entre pares de taxa hermanos, como el realizado para estudiar la relación de las frecuencias del canto con el tamaño corporal en las palomas americanas<sup>21</sup>.

Es importante notar que en un marco en el que se desconoce la filogenia de las especies bajo estudio, la utilización de métodos comparativos convencionales (no filogenéticos) es extremadamente discutible. Esto se debe a que tales métodos suponen, aunque habitualmente no se haga explícito, una filogenia en estrella en donde todas las especies divergen simultáneamente de un ancestro común, lo cual constituye un modelo evolutivo altamente improbable.

#### *Problemas en la reconstrucción de los estados ancestrales*

La mayor crítica al uso de los métodos comparativos filogenéticos es que la estimación de los estados ancestrales pueda ser errónea. Esto está ligado a los modelos de evolución utilizados para reconstruir los caracteres en los ancestros. Por ejemplo, la utilización de modelos de parsimonia, que implican el menor número de cambios posible, puede no ser correcta si las tasas de evolución son altas o las probabilidades de adquisición y pérdida del carácter no son iguales<sup>16,32,33</sup>. Una prueba de ello es el estudio de Omland<sup>34</sup> sobre la evolución del dimorfismo sexual en los patos de la tribu Anatini. Diferentes líneas de evidencia sugieren que en este grupo de patos el estado ancestral es el dimorfismo sexual de coloración (dicromatismo), siendo el monocromatismo la condición derivada. Sin embargo, cuando se optimiza el dimorfismo de color sobre la filogenia de Livezey<sup>35</sup>, la raíz del árbol es reconstruida como monomórfica. La optimización más parsimoniosa se corresponde con la basada en otras evidencias solo su-

poniendo que la pérdida del carácter es cinco veces más factible que la adquisición del mismo. Este ejemplo ilustra una vez más la importancia de analizar la robustez de un resultado mediante variaciones en las condiciones del análisis.

Otros problemas para la reconstrucción de los ancestros derivan de las suposiciones que se hagan acerca de la tasa de evolución de los caracteres y de la longitud de las ramas de la filogenia. Una especie más recientemente derivada o que evoluciona más lentamente debería parecerse más a su ancestro que otra que ha tenido más tiempo de divergencia o que ha evolucionado con mayor rapidez. Por esta razón, la contribución de la primera especie a la estimación del fenotipo del ancestro debería ser mayor que la de la segunda. Esto implica, por un lado, que el supuesto de tasa de evolución constante de algunos modelos puede ser erróneo. Por otro lado, las estimaciones de longitud de las ramas sobre las que se basa la reconstrucción del ancestro están a su vez asociadas a cierto error que puede afectar el valor ancestral<sup>32</sup>. En los últimos años se han desarrollado nuevos métodos para estimar los estados ancestrales que proveen el error asociado a la estimación y pueden incorporar procesos microevolutivos particulares para cada carácter<sup>15,36,37</sup>.

Por último, una filogenia incompleta también afecta la estimación de los estados ancestrales<sup>31</sup>. La falta de terminales en la reconstrucción de caracteres influye en los valores ancestrales dado que éstos se estiman a partir de los valores de las terminales conocidas, y además por el efecto que tienen en la estimación de la longitud de las ramas de la filogenia.

#### *Inferencias sobre causalidad y procesos adaptativos*

El lector debe notar que hasta aquí hemos sido cuidadosos de mostrar la aplicación de los métodos comparativos filogenéticos para el estudio de la evolución y asociación de variables y hemos discutido sus limitaciones dentro de ese mismo marco. Otras limitaciones existen en el caso de intentar poner a prueba hipótesis de causalidad entre variables, y más aún cuando se intenta evaluar hipótesis adaptativas.

En primer lugar, como en cualquier análisis de correlación, los métodos comparativos

filogenéticos no permiten demostrar causalidad, ya que nunca hay garantías de que una tercera variable no sea la causa de una aparente asociación entre las variables bajo estudio. Esta aclaración es importante ya que algunos métodos, tales como el de Cambios Concentrados o el de Estados Contingentes aparentan demostrar causalidad al investigar si un estado de un carácter aparece con mayor frecuencia en presencia de un determinado estado de otro carácter.

Con respecto a la adaptación el problema es todavía mayor, puesto que estamos evaluando una causalidad mucho más específica (que los cambios ocurrieron como consecuencia del aumento de "fitness" que trajeron aparejado). En estos casos el rechazo de la hipótesis nula de que no existe asociación entre variables no resulta necesariamente en la aceptación de una hipótesis alternativa específica como puede ser el caso de la adaptación. Para aquellos interesados en profundizar en el estudio de la adaptación a través del método comparativo recomendamos los trabajos de Coddington<sup>38,39</sup>, Reeve y Sherman<sup>40</sup>, Frumhoff y Reeve<sup>41</sup>, Leroi et al.<sup>42</sup>, Wenzel y Carpenter<sup>13</sup> y Martins<sup>18</sup>.

### CONCLUSIONES

Los métodos comparativos filogenéticos son una herramienta imprescindible para realizar estudios comparativos, aunque deben ser aplicados con cierto criterio. Es fundamental conocer los supuestos que implica su utilización (e.g., filogenia, modelos de evolución de caracteres) y tenerlos en cuenta cuando se sacan las conclusiones sobre la base de los resultados obtenidos.

Varios autores han planteado el interrogante si los métodos comparativos filogenéticos deben ser aplicados en todos los casos<sup>11,17,43</sup>. Si la tasa de evolución del carácter es alta, puede no existir una relación entre la similitud fenotípica y el parentesco filogenético que justifique su uso. El método de Autocorrelación Filogenética<sup>44,45</sup> o el método propuesto por Björklund<sup>43</sup> permiten analizar la relación existente entre el grado de parentesco y el grado de similitud fenotípica para evaluar la conveniencia de incorporar la filogenia al análisis comparativo. En definitiva, siempre es recomendable explorar mínimamente los datos antes de hacer un estudio comparativo aplicando un método filogenético.

### AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a Javier Lopez de Casenave por la invitación a colaborar con el presente artículo. Este trabajo y los trabajos previos realizados por los autores utilizando el método comparativo filogenético fueron posibles gracias a la financiación del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

### BIBLIOGRAFÍA CITADA

- <sup>1</sup> BENNETT PM Y OWENS IPF (2002) *Evolutionary ecology of birds*. Oxford University Press, Oxford
- <sup>2</sup> BROOKS DR Y MCLENNAN DA (1991) *Phylogeny, ecology and behavior: a research program in comparative biology*. University of Chicago Press, Chicago
- <sup>3</sup> HARVEY PH Y PAGEL MD (1991) *The comparative method in evolutionary biology*. Oxford University Press, Londres
- <sup>4</sup> MADDISON WP Y MADDISON DR (1992) *MacClade: analysis of phylogeny and character evolution. Version 3.0*. Sinauer, Sunderland
- <sup>5</sup> RIDLEY M (1983) *The explanation of organic diversity: the comparative method and adaptations for mating*. Clarendon Press, Oxford
- <sup>6</sup> RIDLEY M (1989) Why not to use species in comparative tests. *Journal of Theoretical Biology* 136:361–364
- <sup>7</sup> FELSENSTEIN J (1985) Phylogenies and the comparative method. *American Naturalist* 125:1–15
- <sup>8</sup> HÖGLUND J (1989) Size and plumage dimorphism in lek-breeding birds: a comparative analysis. *American Naturalist* 134:72–87
- <sup>9</sup> MADDISON WP (1990) A method for testing the correlated evolution of two binary characters: are gains or losses concentrated on certain branches of a phylogenetic tree? *Evolution* 44:539–557
- <sup>10</sup> SILLÉN-TULLBERG B (1993) The effect of biased inclusion of taxa on the correlation between discrete characters in phylogenetic trees. *Evolution* 47:1182–1191
- <sup>11</sup> GITTLEMAN JL Y LUH H-K (1992) On comparing comparative methods. *Annual Review of Ecology and Systematics* 23:383–404
- <sup>12</sup> MILES DB Y DUNHAM AE (1993) Historical perspectives in ecology and evolutionary biology: the use of phylogenetic comparative analyses. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24:587–619
- <sup>13</sup> WENZEL JW Y CARPENTER JM (1994) Comparing methods: adaptive traits and tests of adaptation. Pp. 79–101 en: EGGLETON P Y VANE-WRIGHT R (eds) *Phylogenetics and ecology*. Academic Press, Londres
- <sup>14</sup> MARTINS EP Y HANSEN TF (1996) The statistical analysis of interspecific data: a review and evaluation of phylogenetic comparative methods. Pp. 22–75 en: MARTINS EP (ed) *Phylogenies and the comparative method*. Oxford University Press, New York



- <sup>15</sup> MARTINS EP Y HANSEN TF (1997) Phylogenies and the comparative method: a general approach to incorporating phylogenetic information into analysis of interspecific data. *American Naturalist* 149:646–667
- <sup>16</sup> CUNNINGHAM CW, OMLAND KE Y OAKLEY TH (1998) Reconstructing ancestral character states: a critical reappraisal. *Trends in Ecology and Evolution* 13:1335–1351
- <sup>17</sup> LOSOS JB (1999) Uncertainty in the reconstruction of ancestral character states and limitations on the use of phylogenetic comparative methods. *Animal Behaviour* 58:1319–1324
- <sup>18</sup> MARTINS EP (2000) Adaptation and the comparative method. *Trends in Ecology and Evolution* 15:296–299
- <sup>19</sup> WALLSCHLÄGER D (1980) Correlation of song frequency and body weight in passerine birds. *Experientia* 36:412
- <sup>20</sup> RYAN MJ Y BRENOWITZ EA (1985) The role of body size, phylogeny, and ambient noise in the evolution of bird song. *American Naturalist* 126:87–100
- <sup>21</sup> TUBARO PL Y MAHLER B (1998) Acoustic frequencies and body mass in New World doves. *Condor* 100:54–61
- <sup>22</sup> HOWARD RD (1974) The influence of sexual selection and interspecific competition on Mockingbird song (*Mimus polyglottos*). *Evolution* 28:428–438
- <sup>23</sup> CRAIG JL Y JENKINS PF (1982) The evolution of complexity in broadcast song of Passerines. *Journal of Theoretical Biology* 95:415–422
- <sup>24</sup> GRAY DA Y HAGELIN JC (1996) Song repertoires and sensory exploitation: reconsidering the case of the Common Grackle. *Animal Behaviour* 52:795–800
- <sup>25</sup> LANYON SM (1994) Polyphyly of the blackbird genus *Agelaius* and the importance of assumptions of monophyly in comparative studies. *Evolution* 48:679–693
- <sup>26</sup> IRWIN RE (1988) The evolutionary importance of behavioural development: the ontogeny and phylogeny of bird song. *Animal Behaviour* 36:814–824
- <sup>27</sup> WERDELIN L Y SILLÉN-TULLBERG B (1995) A comparison of two methods to study correlated discrete characters on phylogenetic trees. *Cladistics* 11:265–277
- <sup>28</sup> GOODWIN D (1983) *Pigeons and doves of the world*. Cornell University Press, Ithaca
- <sup>29</sup> MAHLER B Y TUBARO PL (2001) Attenuated outer primaries in pigeons and doves: a comparative test fails to support the flight performance hypothesis. *Condor* 103:449–454
- <sup>30</sup> STARCK JM Y RICKLEFS RE (1998) Variation, constraint, and phylogeny: comparative analysis of variation in growth. Pp. 247–265 en: STARCK JM Y RE RICKLEFS (eds) *Avian growth and development*. Oxford University Press, New York
- <sup>31</sup> SWOFFORD DL Y MADDISON WP (1992) Parsimony, character-state reconstructions, and evolutionary inferences. Pp. 186–223 en: MAYDEN RL (ed) *Systematics, historical ecology, and North American freshwater fishes*. Stanford University Press, Stanford
- <sup>32</sup> HUELSENBECK JP, RANNALA B Y MASLY JP (2000) Accommodating phylogenetic uncertainty in evolutionary studies. *Science* 288:2349–2350
- <sup>33</sup> SOBER E (1988) *Reconstructing the past: parsimony, evolution, and inference*. MIT Press, Cambridge
- <sup>34</sup> OMLAND KE (1997) Examining two standard assumptions of ancestral reconstructions: repeated loss of dichromatism in dabbling ducks (Anatini). *Evolution* 51:1636–1646
- <sup>35</sup> LIVEZEY BC (1991) A phylogenetic analysis and classification of recent dabbling ducks (tribe Anatini) based on comparative morphology. *Auk* 108:471–508
- <sup>36</sup> SCHLUTER D, PRICE T, MOOERS AO Y LUDWIG D (1997) Likelihood of ancestor states in adaptive radiation. *Evolution* 51:1699–1711
- <sup>37</sup> MARTINS EP (1999) Estimation of ancestral states of continuous characters: a computer simulation study. *Systematic Biology* 48:642–650
- <sup>38</sup> CODDINGTON JA (1988) Cladistic tests of adaptational hypotheses. *Cladistics* 4:3–22
- <sup>39</sup> CODDINGTON JA (1994) The roles of homology and convergence in studies of adaptation. Pp. 53–78 en: EGGLETON P Y VANE-WRIGHT R (eds) *Phylogenetics and ecology*. Academic Press, Londres
- <sup>40</sup> REEVE HK Y SHERMAN PW (1993) Adaptation and the goals of evolutionary research. *Quarterly Review of Biology* 68:1–32
- <sup>41</sup> FRUMHOFF PC Y REEVE HK (1994) Using phylogenies to test hypotheses of adaptation: a critique of some current proposals. *Evolution* 48:172–180
- <sup>42</sup> LEROI AM, ROSE MR Y LAUDER GV (1994) What does the comparative method reveal about adaptation? *American Naturalist* 132:381–402
- <sup>43</sup> BJÖRKLUND M (1997) Are “comparative methods” always necessary? *Oikos* 80:607–612
- <sup>44</sup> CHEVERUD JM, DOW MM Y LEUTENEGGER W (1985) The quantitative assessment of phylogenetic constraints in comparative analyses: sexual dimorphism in body weight among primates. *Evolution* 39:1335–1351
- <sup>45</sup> GITTLEMAN JL, ANDERSON CG, KOT M Y LUH H-K (1996) Phylogenetic lability and rates of evolution: a comparison of behavioral, morphological and life history traits. Pp. 166–205 en: MARTINS EP (ed) *Phylogenies and the comparative method*. Oxford University Press, New York