
LA ANSIEDAD METODOLÓGICA COMO BÚSQUEDA DE OBJETIVIDAD: LA CONSTRUCCIÓN DE FILOGENIAS MOLECULARES

EDNA SUÁREZ
VÍCTOR HUGO ANAYA

ABSTRACT. Starting on the second half of the 1960's, a lasting discussion on the advantages of molecular over morphological characters in the construction of phylogenies has taken place. This discussion gave way to what we have characterized as a *methodological anxiety* that has guided the ongoing search for more objective methods and representations in the field. The aforementioned search is embodied in the form of normative principles that include the quantification of evidence, the use of statistical inference tools, the commitment to make explicit the criteria used during its evaluation and the automatization of tools using computers, data bases and the advances in bioinformatics. The practices of objectivity in this field are highly contextualized.

KEYWORDS. Objectivity, subjectivity, molecular phylogenies, quantification, automatization, methodological problems, evolutionary patterns, classification, statistical inference, evidence evaluation.

INTRODUCCIÓN

Reconstruir la historia de la vida ha sido una de las tareas que más trabajo ha demandado de los historiadores naturales y biólogos a partir del siglo XIX. Tras Darwin, esta empresa ha estado definitivamente orientada hacia la reconstrucción sistemática de las filogenias animales y vegetales (representadas en árboles) que tienen el objetivo de mostrar las relaciones de ancestría entre las especies biológicas¹. Sin embargo, esto está lejos de ser una tarea simple, como lo sabe cualquier científico familiarizado con la investigación histórica. Al hacer estas reconstrucciones surgen distintos tipos de dificultades, como la falta de evidencia del pasado, la naturaleza de los registros históricos o, igualmente importantes, los numerosos obstáculos conceptuales, teóricos y metodológicos que yacen entre la evidencia empírica y la reconstrucción de un proceso.

Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México y Max-Planck Institute für Wissenschaftsgeschichte. / ednasuarez@ciencias.unam.mx
Institute for Theoretical Biology, Humboldt Universität zu Berlin. /
v.anaya@biologie.hu-berlin.de

Elliot Sober (1988) ha brindado un cuidadoso recuento de las dificultades metodológicas de la *reconstrucción del pasado*. Sober argumenta que la posibilidad de conocer el pasado “depende de si el proceso físico que liga al pasado con el presente preserva o destruye la información; esta característica no puede ser determinada *a priori*, sino que depende de los procesos específicos que operan y de la información disponible para el científico” (1988: 1). Según Sober, existe una conexión entre las *suposiciones* sobre los “procesos físicos” de la evolución y los *métodos de inferencia* (véase más adelante). Si bien concordamos con el diagnóstico general de Sober sobre el campo, en este artículo defenderemos la idea de que los métodos de inferencia y su evaluación por parte de los científicos cambian continuamente, no sólo como resultado del mayor conocimiento sobre los procesos físicos de la evolución, sino como resultado del constante reconocimiento de los *límites* de esos métodos y de una búsqueda permanente de mayor objetividad (o de una menor subjetividad). Al conjunto de prácticas normativas científicas que cumplen estos propósitos, y que son específicas del campo de los estudios filogenéticos en biología, la hemos caracterizado como una “ansiedad metodológica”. Como veremos, dicha ansiedad metodológica tiene raíces históricas en numerosas discusiones que se han dado en torno a los métodos de clasificación y reconstrucción de las relaciones ancestrales de las especies biológicas, y sería impensable hablar de estas normas sin tomar en cuenta que estas se desarrollan y aplican en contextos altamente tecnificados que han transformado la investigación biológica en las últimas cuatro décadas. Tales contextos incluyen, entre otros, la introducción de computadoras a partir de los sesenta en las universidades norteamericanas (November 2006) la creación de enormes bases de datos (Smith 1999, Strasser 2006). Por ello resulta indispensable caracterizar esta búsqueda de objetividad contextualmente, sin perder de vista ni los problemas característicos de esta área de investigación, ni los desarrollos científicos y tecnológicos que han girado en torno a la automatización en la investigación biológica.

En efecto, durante las últimas décadas, la aplicación de las técnicas y estrategias de investigación de la biología molecular, en problemas de la biología evolutiva, ha generado la producción masiva de secuencias de nucleótidos y aminoácidos, así como su análisis para la construcción de filogenias (Suárez 1996; O'Malley y Boucher 2005). Este proceso se vio enormemente acelerado con la automatización del proceso de secuenciación de DNA y el impulso del Proyecto Genoma Humano en la producción de bases de datos de genes (de numerosas especies), el desarrollo de tecnologías de información y la llamada “anotación de genomas”. Todo ello ha transformado las fuentes, los problemas y las herramientas utilizadas por los evolucionistas moleculares, sin por ello eliminar (como mostraremos), la mencionada “ansiedad” metodológica de los taxónomos.

De hecho, pese a las promesas lanzadas por los evolucionistas moleculares en los primeros días de lo que entonces llamaban “paleogenética química” (Zuckerlandl y Pauling 1962; 1965a), respecto a la simplicidad con la que las filogenias serían reconstruidas utilizando datos moleculares (Suárez 2007), la construcción de filogenias moleculares no sólo ha preservado algunos problemas metodológicos del pasado, sino que ha generado algunos nuevos de considerable relevancia epistémica. Nuestro artículo se enfoca en los problemas, sean conceptuales o metodológicos, que *plagan* a la filogenética molecular y que, en última instancia, tienen por objeto el hacer explícitas las suposiciones y prácticas ligadas a la búsqueda de objetividad en esta área de la investigación. Dichas suposiciones y prácticas son más aparentes en los casos en que es necesario *pesar* (entiéndase *evaluar*) la evidencia evolutiva, en este caso evidencia en forma de secuencias moleculares

Para alcanzar nuestros objetivos iniciaremos la sección 1 con una breve presentación del debate que tuvo lugar durante los sesenta entre los evolucionistas moleculares y los evolucionistas “clásicos”, como ellos mismos se caracterizaban (Mayr 1966). Estos últimos se enfocaban al estudio de organismos y poblaciones, y aplicaban lo que vagamente se conocía como “sistemática evolutiva”: la convicción de que la clasificación debía iluminar las relaciones de ancestría, y viceversa. Dicho debate giró en torno a la cuestión de qué tipo de caracteres —organísmicos o moleculares— constituían mejor evidencia de los patrones evolutivos de las especies. Simultáneamente haremos hincapié en las diferentes concepciones y valores involucrados en estas concepciones de la historia de los organismos vivos, para lo cual situaremos el debate en el contexto de desarrollos recientes en el campo de la epistemología histórica. En particular, nos referiremos al trabajo de Lorraine Daston y Peter Galison en torno al ideal de la *objetividad mecánica* (Daston y Galison 1992; 2007), así como a otras prácticas que actúan al servicio de la objetividad científica, como la *cuantificación* de la naturaleza (Porter 1995) y el desarrollo de métodos de inferencia estadística (Gigerenzer, et al. 1989). Aunque nuestro recuento pueda diferir de la imagen general presentada por estos historiadores de la ciencia, nuestro propósito es mostrar que un acercamiento historicista o contextual del problema de la objetividad tiene mucho sentido para los filósofos de la ciencia.

Por su parte, en la sección 2 describimos los problemas y obstáculos que yacen entre los datos de secuencias moleculares y las reconstrucciones filogenéticas. Hemos hecho un esfuerzo por exhibir sin demasiados tecnicismos los temas metodológicos relevantes en cada uno de los pasos del trabajo de los evolucionistas moleculares. Al mismo tiempo, destacamos su búsqueda de objetividad metodológica o, dicho de otra forma, los intentos continuos por escapar de la subjetividad que caracterizan el

trabajo en esta área. Finalmente, en la sección 3 abordaremos brevemente algunos temas de índole filosófica, a saber, ¿en qué sentido la evidencia molecular puede considerarse *más limpia* o *más directa* que la evidencia morfológica, como sostenían los primeros evolucionistas moleculares? ¿Se han modificado las nociones de evidencia y objetividad en la biología evolutiva con el advenimiento del enfoque molecular? Si este fuese el caso, ¿en qué dirección operó dicho cambio?

1. LAS MOLÉCULAS COMO EVIDENCIA OBJETIVA DEL PROCESO EVOLUTIVO

Daston y Galison (1992; 2007) han propuesto que nuestro concepto de objetividad científica es bastante moderno y que surge en la segunda mitad del siglo XIX. De acuerdo con estos autores, el primer asunto a notar es que “el concepto moderno de objetividad mezcla, más que integra, componentes dispares que son diferentes, tanto histórica como conceptualmente” (1992: 82). De esta forma, nos encontramos con un concepto único, si bien estratificado, en el que el término *objetividad* “puede ser aplicado a todo, desde la confiabilidad empírica a la corrección procedimental o el desapego emocional” (1992: 82). Pese a su pluralidad de significados, la objetividad puede ser caracterizada por uno de sus componentes, es decir, su carácter *negativo* respecto a la *subjetividad*: “la historia de las varias formas que ha tenido la objetividad puede ser contada mediante el cómo, cuándo y por qué varias formas de subjetividad son vistas como *peligrosamente* subjetivas” (1992: 82). La búsqueda de objetividad se constituyó, entonces, como una lucha contra “la tentación interna”, en vez de ser un problema acerca de la disparidad entre el mundo y la mente, como había sido el caso dos siglos antes.

Entre las formas adoptadas por este ideal, Daston y Galison enfatizan lo que llaman *objetividad mecánica*. La objetividad mecánica constituía un nuevo ideal que pretendía eliminar la presencia intermediaria del observador y se apoya en una autodisciplina altamente moralizada; los científicos deben resistir la tentación de emitir juicios, interpretar, o incluso evitar el testimonio de sus propios sentidos; así, era necesaria una gran concentración para la observación y medición precisas. Para lograr lo anterior se recurría a una ciencia altamente mecanizada, puesto que “en vez de libre deseo, las *máquinas* ofrecen libertad de los deseos —de las deseosas intervenciones que resultan uno de los aspectos más peligrosos de la subjetividad” (1992: 83, cursivas nuestras).

En su libro de 2007, Daston y Galison ponen énfasis, más que en el papel de las máquinas como productoras de representaciones objetivas —especialmente las productoras de imágenes, como los aparatos de rayos X y las cámaras fotográficas— en el papel de los *procedimientos* mecánicos que facilitan una actitud desapegada (*detached*) respecto al objeto de estudio.

El origen de estas prácticas y procedimientos radica en el contexto de un nuevo *ser científico*, es decir, una personalidad identificada y reforzada mediante un *armamentarium* de técnicas especializadas que incluyen métodos de inferencia estadística, pruebas clínicas ciegas, bitácoras de laboratorio con entradas en tiempo real, y la disciplina de dibujar guiado con una cuadrícula (2007: 17). Es en el contraste o *polarización* entre el ser artístico y el científico en el siglo XIX que surgen muchas de las características de la objetividad mecánica, en particular la habilidad científica de *poner en palabras* lo que los genios artísticos no pueden.

Ahora bien, la objetividad, como la ha estudiado Theodore Porter (1992, 1995), no sólo está relacionada con que “las imágenes hablen por sí mismas”, sino también con que los “números hablen por sí mismos”. El lenguaje de los números permite una comunicación de resultados y de decisiones que favorece la forma pública de la ciencia. Ahora bien, dado que los números (y las imágenes) son incapaces de hablar por sí mismos, la manipulación matemática de los datos y sus representaciones, sean ellas algebraicas o estadísticas, constituye una parte central del trabajo científico. Es en este punto donde las computadoras y los programas estadísticos han jugado en las últimas décadas un papel predominante en las prácticas del filogeneticista *desapegado*. Las secuencias de aminoácidos y nucleótidos permiten una serie de tratamientos numéricos que resulta prácticamente imposible realizar con los caracteres morfológicos de organismos, fósiles o embriones, así como para los datos de distribución geográfica de las especies. Esto se debe, en buena parte, a su carácter digital *versus* el carácter analógico de otros datos, incluidos otros datos moleculares (como las distancias inmunológicas ²). La cuantificación, además, es uno de los ingredientes más conspicuos de la actitud “desmoralizada” y desapegada que se espera de los científicos modernos, pese a que las formas en las que se puede cuantificar el mundo son casi tan variadas como los objetos mismos de estudio. Porter (1995), por ejemplo, ha mostrado cómo la cuantificación llegó a ocupar un papel central en la “confianza” en el conocimiento y se convirtió en un criterio para la objetividad de los procedimientos y las soluciones para diferentes problemas en las ciencias sociales, administrativas y naturales. Más concretamente, Gigerenzer y colaboradores (1989) han descrito cómo la innovación en las técnicas de inferencia estadística se volvió ampliamente utilizada como herramienta para manejar el azar a partir del siglo XIX, y no es de sorprender que una de las áreas donde esto ocurrió de manera significativa sea la biología evolutiva.

En biología, más allá de las áreas de la fisiología y la genética mendeliana y evolutiva, poner en práctica el ideal de la cuantificación no ha sido tarea fácil. Dentro del campo de la biología evolutiva, a pesar de la gran maquinaria teórica establecida por los genetistas de poblaciones, hasta mediados

de los sesenta apenas se tenían datos empíricos suficientes para alimentar esa maquinaria y ponerla en funcionamiento (véase por ejemplo Lewontin 1974). El paleontólogo George G. Simpson, a quien mencionaremos más adelante, escribió uno de los primeros libros sobre métodos cuantitativos en biología evolutiva (Simpson y Roe, 1939). Simpson no logró desarrollar una medida de la velocidad de evolución entre linajes (Simpson, 1944); lo que obtuvo fue un grupo de términos relativos que se refieren a linajes que evolucionan a velocidad rápida (“taquitéticos”), intermedia (“horotéticos”) o lenta (“braditéticos”), nociones que difícilmente se prestan al tipo de cuantificación que requieren los procedimientos mecánicos de la ciencia contemporánea. Sin embargo, Simpson y su esposa, y posteriormente con ayuda de Richard C. Lewontin, realizaron uno de los primeros esfuerzos por aplicar la noción de varianza al tratamiento de datos taxonómicos (ver Hagen 2001, 2003).

1.1. EL DEBATE SOBRE LOS CARACTERES

De forma relativamente independiente a los esfuerzos por cuantificar las similitudes y diferencias entre los caracteres biológicos, los taxonomistas evolutivos desarrollaron herramientas para garantizar la objetividad de los agrupamientos de especies y las inferencias filogenéticas antes de que predominaran los enfoques moleculares. Un papel central entre estas herramientas lo ocupaba el criterio de *robustez* o convergencia, utilizado en la selección de árboles o filogenias en general. La robustez se basa en la práctica de utilizar *tipos* de evidencia biológica diferente o independiente (biogeográfica, morfológica, embriológica, etc.) y favorecer la representación convergente. Sin embargo, el papel que juega el *juicio*, tanto en la interpretación de fósiles y evidencia morfológica, como en el *peso* que se le asigna a cada carácter en la taxonomía evolucionista tradicional, constituye un obstáculo omnipresente en la búsqueda de métodos más objetivos. Este hecho se mantuvo como un recordatorio del “viejo” carácter subjetivo de la construcción de filogenias utilizando caracteres macroscópicos.

Si bien para inicios de la década de los sesenta la sistemática evolutiva parecía predominar, numerosas clasificaciones alternativas y confrontaciones metodológicas caracterizaban a este grupo de expertos. El surgimiento de las escuelas alternativas conocidas como *feneticismo* (que surge a fines de los cincuenta) y *cladismo* (en los sesenta, con un auge en las siguientes décadas), así como la posterior “guerra de los sistemáticos”, en los sesenta y setenta (ver Hull, 1988), hicieron complicado para los taxonomistas evolutivos defender la idea de “objetividad” de los grupos taxonómicos y de los métodos que utilizaban ³.

En el núcleo de los ataques a la escuela evolucionista tradicional ⁴ se encontraba la idea de que los grupos taxonómicos en la sistemática evolu-

tiva mezclaban las medidas de similitud o *parecido* con hipótesis no empíricas de sus relaciones filogenéticas. Las ideas o teorías previas sostenidas por el sistemático, la experiencia e incluso temas como el prestigio académico influían en la “evaluación” de diferentes caracteres para la construcción de árboles filogenéticos. Un par de frases extraídas de una revisión sobre la clasificación de humanos y primates escrita por Simpson mismo, ilustrará los puntos críticos de ataque y el lenguaje florido y subjetivo que caracterizaba a la sistemática evolutiva:

La significación de las diferencias entre cualesquiera dos especímenes casi siempre ha sido enormemente exagerada por una autoridad u otra en este campo. Aquí el problema no es tanto la falta de una gramática taxonómica sino la falta de un sentido común taxonómico o experiencia. Muchos fósiles de homínidos han sido descritos y bautizados por autores que carecen de experiencia en taxonomía. Inevitablemente les ha faltado el sentido de balance y la habilidad interpretativa de los zoólogos que han trabajado extensivamente en grupos mayores de animales. Debe notarse, con tristeza, que incluso los zoólogos ampliamente equipados suelen errar su juicio si trabajan con homínidos. En este caso, factores de prestigio, involucramiento personal y sentimental rara vez fallan en afectar al científico, plenamente humano, aunque esos factores rara vez perturben a los que trabajan, por ejemplo, con gusanos o polillas (Simpson 1964: 7).

Más aún, en sus reflexiones sobre la relación entre las relaciones filogenéticas y las clasificaciones, Simpson comenta: “El parecido brinda importante evidencia de afinidad, pero *no la única*. La clasificación puede ser consistente con la afinidad evolutiva, aunque no sea directa o completamente expresiva de ella” (1964: 9). Y pese a que en otra parte de su texto Simpson declara que se deberían utilizar métodos estadísticos para medir la similitud, en ninguna parte del texto utiliza o describe esos métodos. Así, un crítico de la escuela (rival) feneticista acusó: “La taxonomía numérica utiliza métodos numéricos para formar grupos, mientras la taxonomía tradicional (evolutiva) sólo los utiliza para discriminar más precisamente entre grupos previamente establecidos” (citado por Hull 1988: 111).

Mientras los feneticistas y los cladistas elevaban sus críticas a los métodos abiertamente subjetivos de los taxónomos evolutivos, un nuevo frente de batalla se abrió. En los inicios de los sesenta, biólogos moleculares, bioquímicos y biofísicos entraron al campo de la biología evolutiva. Mayr, Simpson y Theodosius Dobzhansky mantuvieron una actitud justificablemente crítica, en contra de lo que ellos consideraban una intervención de los biólogos moleculares en un campo de investigación del que desconocían prácticamente todo ⁵. Los llamados “arquitectos” de la Síntesis Evolutiva hicieron un esfuerzo concertado para minar las posiciones de los evolucionistas moleculares, señalando la complejidad de los organismos

individuales y las poblaciones biológicas, irreducibles al estudio de sus moléculas. Para ellos existía suficiente evidencia de que la selección natural operaba a nivel de organismos, y este supuesto enmarcaba cada explicación evolutiva generada (Dietrich 1998; Aronson 2002; Suárez 2007).

Por su parte, los evolucionistas moleculares utilizaron una serie de argumentos basados en la *superioridad* de la utilización de caracteres moleculares en estudios evolutivos. Entre éstos destacaba la naturaleza discreta (cuantificable) de las sustituciones en los aminoácidos que conforman cada proteína. Esta característica permitiría una fácil comparación “cuantitativa” entre cadenas peptídicas homólogas y eventualmente la comparación entre segmentos de DNA (algo que a inicios de los sesenta se veía aún muy lejano). En palabras de Emilé Zuckerkandl, uno de los voceros más destacados del nuevo campo, “los caracteres moleculares constituían, a diferencia de los morfológicos, evidencia *más limpia* y directa del proceso evolutivo” (Zuckerkandl 1964: 260, nuestras cursivas). Para justificar dicha afirmación, argumentaba que los caracteres moleculares (secuencias de proteínas, en este caso), no eran poligénicas: “mientras que los caracteres morfológicos pueden ser adscritos a un entretrejo casi indescifrable de causas y efectos, diferentes caracteres siendo parcialmente afectados por las mismas causas y un carácter afectado por varias causas; esta red es relativamente desenredada a nivel molecular” (1964: 260-261). Otras implicaciones de utilizar información molecular eran de carácter más “epistemológico” y apuntaban a su carácter *fundamental*. Se decía, por ejemplo, que “la filogenia molecular más racional, universal e informativa será construida únicamente con moléculas semantoforéticas” (Zuckerkandl y Pauling 1965a, 360⁶).

Tal vez la posición más extrema entre los primeros evolucionistas moleculares fue sostenida por el bioquímico Emmanuel Margoliash, cuya meta era la reconstrucción de la filogenia de todos los organismos vivos utilizando *una* sola molécula. Con este fin él y sus colaboradores secuenciaron —hacia mediados de los sesenta— veinte moléculas de Citocromo *c* provenientes de distintas especies. Margoliash estaba convencido de que una adecuada interpretación de las similitudes y diferencias entre proteínas podría alcanzarse únicamente mediante la utilización de análisis *estadísticos* de los datos existentes al momento (Margoliash 1963: 677). Esta convicción fue reforzada por su trabajo pionero con Walter Fitch, quien diseñó un programa de cómputo para construir filogenias basadas en la medida de similitud (entre moléculas) en términos de *distancia (mutacional) mínima* utilizando los datos de las secuencias obtenidas por Margoliash (Fitch y Margoliash 1967).

2. PROBLEMAS DE LA CONSTRUCCIÓN DE FILOGENIAS MOLECULARES

Los evolucionistas moleculares siguieron sus propios proyectos de investigación y comenzaron a generar no sólo nueva información, sino nuevas herramientas analíticas. Sin perder su optimismo generalizado, algunos de los primeros evolucionistas moleculares vislumbraron varias de las dificultades que su campo encontraría en las próximas décadas. Uno de estos problemas sería, por ejemplo, calcular el número “real” de mutaciones que ocurrieron en una cierta posición en la molécula de DNA (Zuckerkandl y Pauling 1962; Fitch 1966; Fitch y Margoliash 1967). No obstante, no previeron el creciente número de dificultades metodológicas, conceptuales y empíricas que existirían entre los datos moleculares y la reconstrucción de filogenias mientras su propio campo se desarrollaba entre los años setenta y noventa.

El primer problema y el más básico de ellos fue definir el tipo de caracteres relevantes para la construcción de árboles filogenéticos moleculares. Una larga discusión ha sido dedicada a este tema y la controversia surge cuando llega el momento de definir lo que es un *carácter*. Hay varios tipos de datos moleculares que pueden ser considerados como caracteres o rasgos: secuencias de aminoácidos o proteínas; identificación de “marcas” por electroforesis; afinidades de sueros antigénicos, o la proporción de hibridación de DNA entre dos especies. El tipo de información que es posible extraer de la filogenia reconstruida depende, en primer término, del tipo de datos utilizada para generarla. Hoy en día es generalmente aceptado que una secuencia de DNA o aminoácidos de una proteína pueden ser considerados caracteres o, más bien, como un número de “estados” de caracteres igual al número de residuos de aminoácidos o nucleótidos que las componen. Sin embargo, no puede compararse cualquier par de secuencias. Las secuencias deben ser *homólogas*, preferentemente ortólogas ⁷, y representar tantas especies diferentes como sea posible. En lo que sigue trataremos únicamente los problemas relacionados con utilizar secuencias de DNA o de proteínas para la (re)construcción de una filogenia. El orden de los apartados de esta sección refleja en buena medida el orden en que los problemas son abordados por el científico al realizar su trabajo.

2.1. ALINEAMIENTO DE SECUENCIAS

Una vez que el científico tiene una serie de secuencias de DNA o proteínas, el primer paso a realizar es un alineamiento y comparación entre cada secuencia de interés y el resto de las secuencias; el procedimiento es simultáneo y generalmente se le llama únicamente “alineamiento de secuencias”. “Un alineamiento de secuencias está diseñado para exhibir la correspondencia evolutiva entre diferentes secuencias” (Thorne, et al. 1991: 14). La información obtenida con esta comparación tiene dos funcio-

nes: determinar si el grupo de secuencias es en realidad homólogo y cuantificar las diferencias y similitudes entre ellas.

Sin embargo, al igual que en el caso de los caracteres morfológicos, no es trivial determinar si dos caracteres son homólogos entre sí. Los primeros evolucionistas moleculares desarrollaron criterios estadísticos para este propósito, como mencionan Winter, Walsh y Neurat: "Proponemos que la palabra sea utilizada para connotar la ocurrencia de un grado de similitud estructural entre proteínas mayor que el que pueda ser esperado por el azar. [Porque] sería imposible concluir con *certeza* que dos proteínas son homólogas" (1968: 1433). Convencionalmente se acepta que una similitud estructural mayor o igual al 30 por ciento entre dos secuencias indica que son homólogas; espero, entre los años sesenta y setenta los evolucionistas organísmicos cuestionaron frecuentemente este criterio argumentando que la convergencia en las secuencias de las proteínas podría ser más o menos frecuente y, por lo tanto, no ser un buen indicador de homología. Por otra parte, era común la impresión de que el concepto biológico de homología no podía reducirse a un mero criterio estadístico. En respuesta, de acuerdo con una visión relativamente generalizada, si la homología va a ser considerada usando el criterio estadístico, debe serlo solamente como una "hipótesis de trabajo" y no necesariamente como un hecho biológico (véase Fitch 1970 para una de las primeras discusiones al respecto). Es importante notar, no obstante, que muchos evolucionistas moleculares consideraban a la homología únicamente como un criterio estadístico (véase Goodman 1960; 1996; Margoliash 1963), y que esta noción se encuentra hoy en día bastante generalizada, pese a las advertencias de Fitch y otros.

Ahora bien, una vez que se ha "decidido" que una serie de secuencias son (o pueden ser tomadas como) caracteres homólogos, ni la comparación entre las secuencias, ni su alineamiento resultan libres de dificultades. Como ya se mencionó, el primer alineamiento de secuencias automatizado fue realizado por Walter Fitch y Emmanuel Margoliash en 1967, en lo que ya es considerado como un artículo clásico ⁸. Como ya se ha dicho, ellos utilizaron veinte secuencias de Citocromo *c* que habían sido obtenidas por el laboratorio de Margoliash y que aún no habían sido publicadas. Dicho en sus propias palabras, estaban utilizando "[...] un programa de cómputo que comparaba pares de aminoácidos homólogos" (Fitch y Margoliash 1967, 280). Tras la comparación de las secuencias (esto es, de cada aminoácido en la secuencia), se asignaba un valor de distancia a cada mutación de acuerdo con una tabla "que indica el número mínimo de nucleótidos para convertir el código de un aminoácido en el del otro". La mencionada tabla era producto del trabajo previo de Fitch en la elucidación del código genético (Fitch 1966).

Podría pensarse que a partir de este punto la filogenética molecular se beneficiaría de tener un acceso cada vez mayor a recursos de cómputo (tanto en programas como en sistemas). Sin embargo, aún en la década de los noventa e incluso en casos aislados recientemente, los alineamientos y comparaciones de secuencias no eran necesariamente construidos utilizando programas de cómputo, como hacen notar Thorne, Kishino y Felsenstein (1991): "Es posible e incluso entre algunos investigadores es popular el alinear secuencias 'a ojo'. La técnica 'a ojo' es lenta, tediosa e irreproducible 'a ojo' [...] Los alineamientos asistidos por computadora no presentan las desventajas de la técnica 'a ojo'" (1991:114). La implicación es que la utilización de máquinas es una práctica más confiable que la práctica de alinear secuencias 'a ojo'. Pero se dice más en esta cita sobre las restricciones impuestas al sujeto. Las computadoras evitan que el investigador realice tareas que consumen demasiado tiempo o bien resultan tediosas, pero también evitan la irreproducibilidad de las experiencias individuales.

El artículo de Fitch y Margoliash de 1967 trataba poco el tema de los alineamientos de secuencias, un aspecto lleno de problemas metodológicos que fueron puestos a discusión en los años por venir. Una visión estándar de los diferentes métodos de alineamiento usados por los sistemas moleculares es descrita por Henikoff y Henikoff:

Hay varios tipos diferentes de alineamientos: alineamientos globales de pares de proteínas relacionadas por ancestría común a lo largo de su secuencia, alineamientos locales involucrando segmentos relacionados de proteínas, alineamientos múltiples de familias de proteínas y alineamientos hechos durante búsquedas en las bases de datos para buscar homologías. En cada caso, los diferentes alineamientos son evaluados usando un esquema de calificación para estimar la similitud (1992: 10915).

La literatura especializada reporta también la existencia de métodos semi-globales de alineamiento (Brudno, et al. 2003). Pero un punto importante a resaltar es mencionado por los autores en el extracto previo: es necesario evaluar diferentes alineamientos, y es este uno de los primeros problemas a los que se enfrentaron los científicos del área.

Ahora bien, el problema al que se enfrenta el científico es *cuál* de estos métodos debería utilizar, y más específicamente, cómo evaluar diferentes alineamientos. De acuerdo con un criterio estándar hecho explícito por Felsenstein, *et. al.* (1982): "Frecuentemente se deseará encontrar aquel alineamiento de dos secuencias de ácidos nucleicos [o proteínas] que maximicen el número de posiciones que son idénticas" (1982: 133). El problema es que para cumplir con ese criterio el alineamiento de secuencias no idénticas requiere de la inclusión de espacios, llamados *gaps* o *indels* ⁹.

El manejo de estos espacios o *gaps* es uno de los temas más controvertidos en la filogenética molecular y ha sido sujeto de algunas de las más agrias discusiones en torno a la *intervención de la subjetividad* (véase por ejemplo Felsenstein, et al. 1982; Fitch y Smith 1983; Thorne, et al. 1991).

Resumiendo, el problema es el siguiente: Si un científico aspira a maximizar el número de identidades entre un par de secuencias, puede introducir un *gap* para “ajustar” ambas secuencias y obtener máxima similitud. En el extremo de esta práctica, el científico puede introducir tantos *gaps* como sea necesario para hacer que cualquier par de secuencias “parezcan” idénticas. Esto violaría el principio de autocontención científica, por lo que la introducción de *gaps* requiere de una *penalización*. Es decir, los *gaps* necesitan ser “evaluados” bajo criterios *explícitos* (como número, posición y/o longitud). Para complicar las cosas aún más, la introducción de *gaps* está complejamente relacionada con el tipo de métodos utilizados para medir la similitud entre secuencias.

La similitud entre dos secuencias (por ejemplo la sustitución de un residuo hidrofóbico por otro en la secuencia de aminoácidos de una proteína), o la diferencia entre dos moléculas de DNA, puede ser representada por diferentes medidas de “distancia” de acuerdo con distintos métodos y criterios. Por ejemplo, Fitch y Smith (1983), notaron que existen básicamente dos formas de comparar secuencias de DNA, ambas basadas en el algoritmo de programación dinámica de Needleman y Wunsch (1970). El primer método *minimiza la distancia* entre las secuencias y el otro *maximiza la medida de similitud*. Ambos métodos permiten la incorporación de *gaps* durante el alineamiento, pero nuevamente, su evaluación o las penalizaciones asignadas afectan la medida de similitud. Más aún, cada criterio de evaluación se dice que está sujeto a un sesgo particular.

Como hemos visto, una de las críticas lanzadas contra la sistemática evolutiva tradicional se enfocaba en que la asignación de un valor de similitud o parecido entre caracteres morfológicos estaba mediado por el juicio, la experiencia y las ideas previas o hipótesis del investigador. Este tipo de intervención supuestamente sería eliminada con el análisis cuantitativo de las diferencias discretas entre las secuencias de DNA o de proteínas y mediante la introducción del criterio de “similitud general” de la taxonomía feneticista. No obstante, como revelan los métodos y los debates resultantes en la filogenética molecular, la subjetividad sigue tocando a la puerta, incluso en los casos en los que es supuestamente eliminada por complejas herramientas matemáticas como las pruebas de verosimilitud. Los filogenetistas moleculares, sin embargo, continúan dando la batalla la subjetividad.

Por ejemplo, en 1991, Jeffrey Thorne, Hisohisa Kishino y Joseph Felsenstein describieron una aproximación —utilizando máxima verosimilitud— que era una extensión y modificación de un método previamente descrito

por Bishop y Thompson en 1986. Su método sostenía ser mejor, pues en lugar de estimar los parámetros evolutivos (de distancia) a partir de un solo alineamiento, maximizaba el parámetro de *likelihood*¹⁰ de las dos secuencias: “nuestro método maximiza la suma —tomada sobre todos los posibles alineamientos entre dos secuencias— de la *likelihood* de alineamientos individuales” (Thorne et al. 1991:115). Pero más importante para nuestro propósito es hacer notar su concepción de objetividad en los métodos basados en rigurosas estrategias estadísticas:

La debilidad del método básico de programación dinámica y sus modificaciones posteriores es la falta de un procedimiento objetivo para escoger los pesos relativos para los *gaps* o errores de apareamiento. El resultado de esta debilidad es que los investigadores se ven forzados a usar cualquiera de los procedimientos fallidos. Uno es definir arbitrariamente estos pasos y después obtener el alineamiento; si este alineamiento es *estéticamente placentero* para el investigador el procedimiento se detiene. De otra forma, el investigador continúa ajustando los pesos hasta que un alineamiento estéticamente placentero se obtiene. Obviamente la naturaleza *subjetiva* de esta aproximación no es ideal. Otra forma de solucionar el problema es utilizar el mismo peso para cada alineamiento pareado. Esta forma es menos subjetiva que la anterior —sólo la decisión inicial de los pesos es subjetiva (Thorne, et al. 1991: 115, cursivas nuestras).

Pese a los consejos de los autores, los biólogos moleculares prefieren utilizar una variedad de estrategias para paliar la subjetividad cuando evalúan los *gaps* o la aspiración de maximizar similitudes entre las secuencias alineadas. En 1983, Walter Fitch y Temple Smith, conscientes del sesgo introducido por la evaluación de los *gaps*, realizaron una lista de diez recomendaciones catalogadas en “metodológicas” o “interpretativas”, que apuntaban a ayudar al investigador en su tarea. Es importante notar que entre los criterios mencionados reintroducen la idea de que los alineamientos deben *tener sentido biológico*; lo cual implícitamente incorpora la necesidad de un juicio experto sobre asuntos biológicos, no reducible a inferencias estadísticas. También recomiendan tener cierta *familiaridad* con el proceso histórico bajo reconstrucción, nuevamente apelando a la experiencia del investigador.

Complicando aún más el panorama, además de tener que escoger entre diferentes métodos de alineamiento y decidir cómo evaluar (o pesar) los *gaps* en un alineamiento particular, el científico puede encontrarse con la necesidad de decidir entre diferentes “matrices de sustitución” (cuando se trabaja con proteínas), tema que abordamos a continuación.

2.2. MATRICES DE SUSTITUCIÓN

Las matrices de sustitución buscan asignar la probabilidad de que un aminoácido sea sustituido por algún otro aminoácido. Un valor es dado a la probabilidad de sustitución para evaluar la *significancia* y la *corrección* del alineamiento. Como Stephen Altschul señala, “especificar una matriz de sustitución de aminoácidos es central en los métodos de comparación de proteínas y mucho esfuerzo ha sido dedicado a definir, analizar y refinar esas matrices” (1991: 555). De hecho, veinte años antes ya McLachlan (1972) había mencionado: “El primer paso es establecer una medida de la similitud para cada par de aminoácidos [...] basados en las frecuencias observadas de remplazos de aminoácidos en proteínas homólogas” (1972: 419). Lo que McLachlan quería era que se tomaran en cuenta no sólo el número “crudo” de diferencias y similitudes entre las secuencias de aminoácidos, sino un grupo de criterios que, nuevamente, introducen una medida de valoración, en este caso de propiedades de los aminoácidos, que se considera tienen implicaciones funcionales y por lo tanto evolutivas.

En la edición de 1978 del *Atlas of Protein Sequence and Structure*, Margaret Dayhoff y sus colegas propusieron una matriz de sustitución que “[...] describe las probabilidades de remplazo de un aminoácido entre dos secuencias que se encuentran a diferentes distancias evolutivas [...]”. Propusieron también una matriz de evaluación (para esas sustituciones) que era “más precisa [...] y más sensible al distinguir relaciones distantes [...]”. Esta matriz de sustitución, conocida como *Percent Accepted Mutation* (PAM), se basaba en la suposición de que “el comportamiento de los aminoácidos observado durante el proceso evolutivo debe considerar la frecuencia de cambio de cada aminoácido hacia el resto y la propensión de cada uno de mantenerse sin cambio” (1978: 345).

Las matrices PAM han sido muy populares; los filogeneticistas moleculares han reconocido sus ventajas y han mejorado o actualizado su enfoque, sin que ello implique que no hayan también reconocido sus “fallas” y “sesgos”. Algunas de las posibles fuentes de éstas provienen de la detección de varios supuestos que subyacen a su elaboración: que las proteínas tienen una composición promedio de aminoácidos, que las tasas de mutación permanecen constantes a lo largo de la molécula y que la probabilidad de mutación en un sitio particular es determinado sólo por el residuo en esa posición. Todos los cuales han sido contradichos por la investigación de la evolución a nivel molecular de las últimas décadas.

Estas matrices también son afectadas por el tipo de evidencia utilizada para su construcción. Dayhoff, Schwartz y Orcutt usaron proteínas *cercanamente* relacionadas para su estudio (Dayhoff et al, 1978: 345). De acuerdo con Henikoff y Henikoff, estas secuencias eran “85 por ciento idénticas. No obstante, la tarea más común que involucra el uso de matrices de sustitución es la detección de distancias mucho mayores que pueden ser

sólo inferidas a partir de las tasas de sustitución del modelo de Dayhoff" (Henikoff y Henikoff, 1992: 10915). Entonces, en 1992, Jones, Taylor y Thornton propusieron una actualización de la matriz de Dayhoff. Sostenían que pese a que las características principales que ella y sus colegas habían encontrado en 1978 aún se mantenían, la actualización revelaba diferencias con respecto a la matriz original (Jones, et al. 1992: 281).

A pesar de la impresionante presencia de filogenias basadas en secuencias de DNA durante los años noventa, el uso de secuencias de proteínas volvió a tomar impulso cuando una segunda extensión de la aproximación de Dayhoff fue realizada por Tobias Müller y Martin Vingron quienes utilizaron un modelo evolutivo de Markov que bajo ciertas condiciones: "[...] permite una descripción del proceso de sustitución de aminoácidos" (Müller y Vingron 2000: 764). Más tarde Müller, Spang y Vingron (2002) propusieron otro método para estimar modelos de sustitución de aminoácidos. En este caso desarrollaron un método basado en *maximum likelihood* y lo compararon tanto con su método de la cadena de Markov del 2000 como con el método original de Dayhoff (1978). Ellos reconocen que su enfoque de *likelihood* "[...] funciona mejor con grupos *pequeños* de datos, mientras que para grupos *más grandes* —donde la *maximum likelihood* se vuelve computacionalmente compleja— el método resolvente [el del año 2000] es una buena alternativa" (Müller et al, 2002: 12). En cualquier caso, ambos métodos afirman superar el método de Dayhoff pero se deja al juicio del investigador decidir qué matrices utilizar en cada caso.

Un enfoque diferente en la construcción de matrices de sustitución fue desarrollado por Henikoff y Henikoff. Ellos obtuvieron sus matrices, llamadas BLOSUM, a partir "de alrededor de 2 000 bloques de segmentos de secuencias alineadas que caracterizan más de 500 grupos de proteínas relacionadas" (1992: 10915). Los dos tipos de matrices (PAM y BLOSUM) son "relativamente compatibles, o al menos comparables" (Henikoff y Henikoff, 1992: 10917) y así los investigadores pueden decidir usar ambas para tener resultados más robustos.

Sin embargo, la evaluación de los caracteres, en este caso diferencias entre aminoácidos de acuerdo con estas matrices, surge nuevamente como punto de conflicto. Se está de acuerdo con que debe haber algún tipo de medida de la diferencia, similitud o identidad cuando se comparan dos secuencias de aminoácidos, pero no es trivial definir cuál deba ser esa medida. Si un aminoácido hidrofóbico es remplazado por otro residuo hidrofóbico, en general se acepta que hay más posibilidades de que una función química (y por lo tanto bioquímica y evolutiva) se mantenga en ese sitio de la proteína. Más aún, la degeneración del código genético (véase adelante) puede ser tomada como una evidencia de las grandes posibilidades que tienen algunos aminoácidos de permanecer sin cambios (incluso si hay mutaciones genéticas), mientras otros son más proclives a

ser cambiados. Así, por un lado, se postula un enfoque *biológicamente* más sensible ilustrado en la cita siguiente: “aunque no se tiene la certeza de que ‘pesar’ ayude en algún caso en particular, es rara vez un obstáculo. El mejor esquema de evaluación toma en cuenta tanto la posibilidad genética como la similitud estructural entre aminoácidos” (Feng, et al. 1985: 123-124). En el otro extremo Müller, Spang y Vingron enfatizan la prevalencia de los criterios *estadísticos*: “Todos nuestros supuestos son criticables desde el punto de vista biológico. No obstante, desde la perspectiva del análisis de datos es obvio que se requiere simplificar para hacer práctico el ajuste a un modelo. El reto es reflejar lo más posible la realidad” (2002: 12). Como se refleja en la cita anterior, los científicos están bien conscientes del problema y de las dificultades que ambos puntos de vista conllevan.

2.3. LA DEGENERACIÓN DEL CÓDIGO GENÉTICO

Antes de que se hubiese dilucidado por completo el código genético se dieron una serie de reflexiones sobre la importancia que la mencionada degeneración podría tener para el proceso evolutivo. Por ejemplo, Zuckerkandl y Pauling (1965b) notaron que:

La evaluación de la cantidad de diferencias entre dos organismos como derivación de la secuencias en genes estructurales o en su traducción en polipéptidos, es posible que lleven a cantidades diferentes de aquellas obtenidas sobre la base de las observaciones hechas a cualquier otro nivel de mayor integración biológica. Por una parte, algunas diferencias en los genes estructurales no serán reflejadas en ninguna otra parte del organismo y, por otro lado, algunas diferencias notadas por los biólogos orgánicos pueden no ser reflejadas en los genes estructurales. La primera propuesta debe sostenerse al tomar en cuenta la degeneración del código genético [...] (1965b: 99-100).

Para 1966, Walter Fitch había ya llegado a la conclusión de que la degeneración del código representaba una ventaja adaptativa en lo referente a *amortiguar* los efectos de las mutaciones y dio una profunda reflexión sobre las posibilidades incrementadas de algunas otras mutaciones de ocurrir. Más aún, durante la construcción del primer árbol filogenético molecular con Margoliash, no tomaron en cuenta la secuencia de aminoácidos, sino el número mínimo de cambios en la composición de nucleótidos esperada, información basada en el trabajo reciente de Fitch en el código genético.

Muy pronto surgió una nueva dificultad relacionada con la estructura química de la molécula de DNA. El problema consistía en la dificultad de saber con precisión el número de mutaciones puntuales que han ocurrido en un cierto nucleótido en una cierta posición. Resulta generalmente muy complicado definir cuando una mutación “oculta” ha ocurrido ya sea porque ha sido revertida o, en el caso más general, porque no es posible determinar el número de mutaciones puntuales que han ocurrido en ese

sitio en particular. Esta dificultad es conocida como *sustitución múltiple* y los evolucionistas moleculares lo explican así:

Quando el grado de divergencia entre dos secuencias de nucleótidos es pequeño, la posibilidad de que más de una sustitución haya ocurrido en cualquier sitio es despreciable; y si la divergencia es considerable, entonces el número de diferencias observadas es posiblemente menor que el realmente ocurrido dadas *múltiples sustituciones* en el mismo sitio (Li y Graur 1991 :148).

Existe una serie de métodos estadísticos que permite estimar las tasas de sustituciones sinónimas y no sinónimas en una secuencia dada basados en parámetros como las proporciones de transiciones ¹¹ *versus* transversiones ¹² y el número de posiciones degeneradas para un cierto grupo de codones. Estos métodos, casi sobra decirlo, no están libres de problemas y de hecho algunos modelos claman ser superiores a los otros (véase, por ejemplo, la discusión incluida en Jukes y Cantor 1966; Kimura 1980; Li, et al. 1985; Nei y Gojobori 1986; Li 1993, para citar algunos). La simple coexistencia de todos estos métodos muestra las dificultades que encierra el tema.

2.4. (RE)CONSTRUYENDO EL ÁRBOL

Los filósofos han puesto mayor atención a los debates metodológicos relacionadas con la construcción de árboles y la reconstrucción de filogenias (véase por ejemplo, Schejter y Agassi 1981; Sober, 1988). Como sucedió con los métodos de alineamiento automatizado, el primer árbol filogenético construido utilizando caracteres moleculares fue el ya mencionado de la colaboración del biofísico Walter Fitch y el bioquímico Emmanuel Margoliash en 1967. El árbol fue conceptualizado como "...una representación gráfica del orden en el que los subconjuntos [de caracteres] fueron unidos" (Fitch y Margoliash 1967: 280). Los resultados del alineamiento, manejados como una matriz de distancias, fueron usados para reconstruir las relaciones ancestrales entre las especies comparadas. Hoy en día esta tarea es realizada por programas altamente especializados que apuntan a reconstruir una filogenia dada a partir de estos datos (usualmente en forma de una matriz de distancia o de similitud) usando uno o varios algoritmos.

Esos métodos pueden ser clasificados en tres grupos principales: 1. métodos de distancia, 2. métodos de máxima parsimonia, y 3. métodos de máxima verosimilitud (*maximum likelihood*). Los últimos dos generalmente se agrupan como métodos basados en caracteres.

Los métodos basados en distancias cuentan las diferencias entre dos secuencias y las transforman en una matriz de distancia; con esa matriz se construye un árbol que agrupa aquellas secuencias que tienen las distancias más cortas y se añaden las demás conforme la distancia crece. Es un

método simple y no demanda mucho en términos computacionales. El método de Fitch y Margoliash (1967) pertenece a este grupo. En este caso, la topología del árbol se supuso *cierta* porque era consistente (y convergente) con lo que se sabía en esa época a partir de evidencia de otras fuentes (principalmente organísmicas), lo que confería a la metodología de Fitch y Margoliash la misma credibilidad e igual capacidad de generar “filogenias ciertas” que los métodos tradicionales.

Los métodos de distancia han sido criticados, sin embargo, porque asumen que la tasa a la que ocurren los cambios evolutivos es igual para cada rama del árbol; pero más importante aun, porque se dice que no toman en cuenta la posibilidad de múltiples sustituciones en la misma posición. No obstante, existen diferentes correcciones al método y varios “modelos de evolución” que pueden ser puestos en marcha bajo esta metodología. La mayor parte del *software* que se usa para reconstrucción de filogenias usando métodos de distancia realiza correcciones para ajustar las sustituciones múltiples.

Un problema diferente que se ha señalado contra los métodos de distancia es que alguna información se pierde debido a que el único parámetro que se toma en cuenta es el número de diferencias por sitio. La topología del árbol, entonces, debe ser respaldada por algún tipo de análisis estadístico, y típicamente se utiliza el llamado *bootstrap* (véase adelante).

Los métodos de parsimonia, a su vez, se basan en la suposición de que el árbol evolutivo más parsimonioso “[...] se puede esperar que tenga un alto grado de correspondencia con la filogenia real. Su justificación descansa en el uso más eficiente de la información y *no presupone que la evolución sigue el camino más parsimonioso*” (Fitch 1971: 406, cursivas nuestras). Como los críticos rápidamente apuntaron, es bastante común obtener más de un “árbol más parsimonioso” a partir del mismo grupo de datos. Efectivamente, el uso de los métodos de máxima parsimonia generalmente llevan a numerosos árboles (a veces miles de ellos) que tienen el mismo puntaje (i.e., son igualmente parsimoniosos). Es necesario entonces decidir cuál de esos árboles usar y en ese caso sólo los grupos que están en estricto consenso (es decir, que convergen) son considerados como apoyados por los datos.

Un segundo problema que se presenta al utilizar los métodos de parsimonia es la llamada *atracción de ramas largas* (*Long Branch Attraction*, por su nombre en inglés), la cual se refiere a un artefacto producido cuando se analizan linajes que evolucionan rápidamente. Los resultados arrojan que esos linajes están cercanamente relacionados, independientemente de cuál sea su historia evolutiva (bien pueden no estar relacionados). La situación surge como producto del problema de las sustituciones múltiples, esto es, en algunos casos las tasas de sustitución de DNA son altas y la

probabilidad que —por convergencia— dos linajes puedan tener el mismo nucleótido en la misma posición se incrementa. Cuando esta situación se da, los métodos de parsimonia interpretan erróneamente que se trata de un carácter que evolucionó sólo una vez en un ancestro común (sinapomorfia). El problema se puede solucionar, ya sea utilizando otros métodos (*likelihood*, por ejemplo) o bien añadiendo al análisis nuevas especies relacionadas a las que son parte de las ramas largas para incrementar su “resolución”. Sin embargo, esos artefactos sólo son notorios para quienes tienen “cierta experiencia” en el campo, por lo que no es posible satisfacer el ideal de contención “subjetiva”.

Algunos de los debates metodológicos más notorios en el campo de la evolución molecular se han centrado en el uso del criterio de parsimonia cuando se construyen y se escogen cladogramas o filogenias (véanse por ejemplo las referencias en Sober 1988). Aún así, tanto científicos como filósofos de la biología por igual han apuntado importantes argumentos a su favor. Los recuentos parsimoniosos constituyen posiblemente el enfoque más extendido desde el ascenso del cladismo y la caída del fenetismo y los enfoques evolucionistas en sistemática.

Compitiendo con los métodos de parsimonia están los que utilizan *maximum likelihood*; estos métodos estadísticos asignan la probabilidad de que un grupo de datos pueda ser explicado por un modelo evolutivo determinado *a priori*. Este modelo puede ser, por ejemplo, que todas las posibles sustituciones entre los cuatro nucleótidos son igualmente probables. La *likelihood* de un árbol será asignada por la suma de las probabilidades de cada posible reconstrucción de sustituciones bajo un modelo particular de sustitución, y estas *likelihoods* son entonces multiplicadas para dar la *likelihood* general del árbol. En general, se esperaría que no todas las ramas del árbol sean igualmente probables, pero para un “buen” árbol se esperaría que la mayoría de las ramas tuviesen puntajes altos. También es posible que un “buen” árbol, bajo cierto modelos evolutivo, sea uno “malo” bajo otro, lo cual sucede porque los modelos evolutivos tienden a ser relativamente *ad hoc* a cada situación.

Los métodos de *maximum likelihood* necesitan muchos recursos de cómputo para ser puestos en marcha pues implican una gran cantidad de cálculos; con todo, esta situación es cada vez menos determinante, aunque aún hoy hay situaciones en las que su utilización no resulta práctica (para un ejemplo véase Müller y Vingron 2000). Independientemente de ello, los defensores de estos métodos aseguran que es “mucho mejor que M[ínima] E[volución] y M[áxima] P[arsimonia] cuando el análisis de datos procede de acuerdo con el mismo modelo que generó esos datos” (Brinkman y Leipe 2001: 344). Lo que se sostiene tras estas afirmaciones es la creencia de que el acercamiento estadístico *ciego* es mejor que uno biológicamente *sensible*. La elección entre diferentes árboles no ocurre, puesto que el mejor

árbol es dado por el valor de *maximum likelihood*. Muchos evolucionistas creen, sin embargo, que las filogenias necesitan tener “sentido biológico”, es decir, que —finalmente— tienen que ser compatibles con las representaciones paleontológicas, biogeográficas y de otros tipos que se tengan sobre de la historia de evolutiva de los organismos. Más aún, es claro para los evolucionistas moleculares que las tres metodologías tienen ventajas y desventajas.

Frecuentemente se dice que los desacuerdos entre los árboles reconstruidos revelan lo inadecuado de los métodos de inferencia filogenética. Por ejemplo, sobre los algoritmos usados para construir árboles se afirma que reflejan los supuestos muy simplificados sobre las variaciones en las tasas de cambio al interior de las moléculas o entre los linajes, y que son insensibles a la saturación por mutaciones.

Como ya se dijo, cuando se utilizan métodos de distancia generalmente ocurre que hay más de un árbol para un grupo particular de datos, o que es necesario asignar un valor de “calidad” a los árboles obtenidos, esto es, hay que evaluar el árbol. Para hacer esto existen, también, varios métodos, el más popular es el ya mencionado *Bootstrap*, que consiste en el remuestreo del árbol. El *Bootstrap* es una herramienta estadística aplicable a árboles construidos utilizando cualquiera de los métodos mencionados (distancia, parsimonia, *likelihood* o cualquier otro posible). Fue desarrollado por Efron (1979) y usado como técnica de análisis filogenético por primera vez por Felsenstein en 1985. Existe también un *Bootstrap* paramétrico que usa réplicas simuladas (no seudorréplicas como el *Bootstrap* no paramétrico), para evaluar el árbol en una forma semejante a como lo hace la versión no paramétrica del método. En cualquier caso, nuevamente, ninguno de estos procedimientos está libre de la intervención del juicio y la interpretación del investigador. Para hacer nuestro punto aún más claro, vale la pena citar una *recomendación* respecto a la búsqueda de un buen árbol incluida en uno de los libros de texto de bioinformática más ampliamente utilizados:

Uno de los mejores métodos para economizar el esfuerzo de búsqueda es *truncar* el grupo de datos. Por ejemplo, puede ser *aparente* a partir de los datos solamente, o de una búsqueda preliminar que un grupo particular de cinco terminales no puede resolverse, que el arreglo de ellas no impacta al resto de la topología y/o la resolución de esas terminales no es el objetivo del análisis. *Remover* cuatro de esas terminales del análisis *simplifica* la búsqueda en varios órdenes de magnitud.

Cada análisis es único. Los elementos que influyen en la decisión de la estrategia óptima de búsqueda (cantidad de datos, su estructura, cantidad de tiempo, equipamiento [*hardware*], objetivos de análisis), son *demasiado variables para sugerir una receta a toda prueba*. Entonces, los investigadores deben estar familiarizados con sus datos; deben tener objetivos específicos en mente, enten-

der los diferentes métodos de búsqueda así como las capacidades de sus programas y equipamiento (Brinkman y Leipe 2001: 345-346, cursivas nuestras).

El lenguaje está lejos del utilizado por Simpson cuando se refería a los taxónomos que trabajaban en el linaje humano de los sesenta; se trata del lenguaje desapegado de la inferencia estadística, refiriéndose a cosas que pueden ser puestas en palabras (como cantidad de tiempo, capacidades de equipamiento o programas), pero aún así es un lenguaje que confiesa las muchas decisiones, la experiencia y los objetivos del investigador individual.

Siguiendo con las dificultades, en ocasiones el desacuerdo entre árboles se puede interpretar bajo la idea de que diferentes genes tienen diferentes historias evolutivas, esto es, que la naturaleza de los datos (secuencias de genes) usadas como caracteres en la reconstrucción de un árbol *sistemáticamente* afecta la naturaleza de los resultados.

2.5. TRANSFERENCIA GENÉRICA HORIZONTAL: CUESTIONANDO EL ÁRBOL MISMO

Un nuevo y aún más preocupante problema aparece cuando el fenómeno de la *transferencia horizontal* o *lateral* de genes se toma en consideración; el último obstáculo para reconstruir el pasado que consideraremos. Veamos.

La filogenética microbiana es un campo en el que los datos moleculares se volvieron cada vez más importantes, “porque la evidencia morfológica ha probado ser inadecuada para la tarea de organizar los grupos mayores de bacterias y porque el registro fósil es difícil de interpretar, los datos de secuencia podrían ser esenciales” (Schwartz y Dayhoff 1978: 396) o bien, como resume John Doolittle, las bacterias “ofrecen relativamente poco respecto a morfología compleja y comportamiento” (Doolittle 1999a: 2124).

Uno de los primeros intentos por reconstruir filogenias microbianas usando datos moleculares (secuencias de DNA y de proteínas como ferredoxinas, Citocromo tipo *c*, así como genes de RNA ribosomal 5S), se realizó bajo la idea de que “sólo hasta ahora existe suficiente información disponible sobre secuencias de diversos tipos de bacterias y algas verde-azules, y del citoplasma y los organelos eucariontes, para que intentemos construir un árbol filogenético biológicamente comprensible” (Schwartz y Dayhoff 1978: 395). Los resultados obtenidos por Schwartz y Dayhoff fueron utilizados para corroborar la teoría del origen endosimbiótico de los eucariontes, esto es, la hipótesis que sostiene que las células eucariontes derivan de la relación simbiótica entre diferentes especies de bacterias, dando cuenta de las funciones respiratoria (mitocondrias) y fotosintética (cloroplastos) (Sagan 1967; Margulis 1981).

Casi al mismo tiempo, en 1977, Woese y Fox usaron la subunidad pequeña del RNA ribosomal (SSU rRNA) con la intención de establecer la filogenia básica para los sistemas vivos procariontes. De acuerdo con ellos, esta molécula tenía las características que la hacían un muy buen marcador para este propósito:

Para determinar las relaciones que cubren el espectro completo de los seres vivos extintos, se requiere, óptimamente, una molécula de amplia distribución. Ninguna de las proteínas hasta el momento caracterizadas llena este requisito. Sin embargo, el RNA ribosomal aislado lo hace. Es un componente de todos los sistemas autorreplicativos; es fácilmente aislable, su secuencia cambia lentamente con el tiempo —permitiendo la detección de relaciones entre especies muy distantes [...]. Hasta el día de hoy, la estructura del RNA ribosomal 16s (18s) ha sido caracterizada en una relativamente amplia colección de organismos y organelos, y la estructura filogenética general del dominio procarionte comienza a emerger (Woese y Fox, 1977: 5088).

La filogenia que resultó de esas secuencias tuvo un extraordinario impacto en el escenario biológico de la diversidad de sistemas vivientes. De acuerdo con Woese y Fox (1977), la mayor división entre los organismos vivos no era entre procariontes y eucariontes, sino en tres dominios mayores: *Eukaria*, *Archea* y *Eubacteria*. El primero comprende a todos los eucariontes, mientras que los otros dos incluyen a todos los procariontes; Eubacteria incluye a todas las bacterias *verdaderas*, y los organismos agrupados en Archea “parecen recordar más cercanamente a los eucariontes en su maquinaria para manejar la información genética (replicación, transcripción y traducción), pero recuerdan más a Eubacteria en sus mecanismos metabólicos y de conversión de energía” (Alberts, et al. 2002: 7).

Los trabajos de Schwartz y Dayhoff (1978), y el de Woese y Fox (1977), apuntan a otro conflicto metodológico. Estos ejemplos muestran cómo, en las filogenias moleculares, la respuesta obtenida depende en buena medida de la molécula usada. Las investigaciones realizadas por Dayhoff y por Woese revelan diferentes reconstrucciones filogenéticas, bien soportadas por sus respectivos supuestos teóricos y filosóficos; más aún, ambos hacen importantes llamados de atención a diferentes puntos de inflexión en la historia evolutiva, tanto de los *eucariontes* como de los *procariontes*.

Paradójicamente, estos grandes descubrimientos también arrojaron algunos hechos inesperados que han amenazado a la empresa completa de construir el árbol universal de la vida, en particular hicieron notar la importancia de la *transferencia horizontal de genes*. La posibilidad de que este fenómeno ocurriera durante la evolución había sido ya notada en 1978 por Schwartz y Dayhoff, pero fue considerado poco relevante.

Conforme se acumularon resultados conflictivos y contradictorios durante los noventa, y más ejemplos de filogenias incompatibles, se planteó

que una posible explicación podía encontrarse en el hecho de que la transferencia horizontal fuera más frecuente de lo esperado. Así, emergió una visión pesimista de los avances que podrían alcanzarse en las filogenias microbianas. Como Ford Doolittle dijera:

Si la transferencia horizontal puede afectar todos los genes y ha afectado alguna fracción sustancial de genes en los últimos 3.8 mil millones de años (desde el origen de la vida), entonces mucho de lo que los filogenetistas moleculares se han planteado alcanzar está en riesgo, especialmente en el área de evolución de procariontes. [...] Los esfuerzos para deducir la constitución genética del último ancestro común de todos los seres vivos parece ahora perdida. No hay garantía de que un gen actualmente presente en alguna Bacteria, Archea o Eucharía estuviese presente en su ancestro común —podría haber surgido más recientemente en un dominio y haberse extendido a los otros (Doolittle 1999b: M6).

De forma más radical aún Doolittle señaló: “los filogenetistas moleculares habrán fallado al encontrar el árbol ‘verdadero’, no porque sus métodos sean inadecuados o porque hayan escogido los genes erróneos, sino porque la historia de la vida no puede ser representada adecuadamente como un árbol” (Doolittle 1999a: 2124). En la base de este nebuloso escenario se encuentra un profundo cuestionamiento sobre la pertinencia de utilizar la información molecular para reconstruir patrones evolutivos:

[...] debe admitirse que (i) no es lógico equiparar la filogenia de un gen con la de un organismo y (ii) que, a menos que los organismos sean contruidos, ya sea como más o como menos que la suma de sus genes, no existe una filogenia organizmática única. Existe, entonces, un problema en las bases mismas de la clasificación filogenética (Doolittle, 1999b: 2125).

La serpiente se muerde su propia cola. Los biólogos moleculares confrontan ahora los límites de su enfoque reduccionista en el campo de la filogenética evolutiva. Aunque esta visión no es compartida por todos (siendo el mismo Carl Woese su máximo opositor), se ha abierto un importante debate en este campo de investigación. O'Malley y Boucher (2005) han publicado una detallada reconstrucción del debate que amenaza con modificar el escenario completo de la biología evolutiva.

Una vez más surge el problema de cómo sopesar la importancia relativa de un fenómeno evolutivo, tal como ha ocurrido con la sustitución múltiple. Pero más importante, por sus implicaciones conceptuales, o incluso teóricas, es el reconocimiento de que probablemente la estrategia de comparar genes *individuales* (o proteínas individuales) ha fallado del todo. Así, los más recientes acercamientos en filogenética molecular se basan en la comparación de *genomas completos*, no de genes individuales. Sólo en

esta forma, el ideal de construir el árbol de la vida parece posible para algunos evolucionistas. Martijn Huynen, Berend Snel y Peer Bork, por ejemplo, señalan: “Sostenemos que la tasa de este procesos [la transferencia horizontal de genes] no es tan grande como para evitar una visión filogenética de la evolución del genoma. Las filogenias genómicas basadas en contenido de genes ignoran la historia evolutiva de los genes” (Huynen, et al. 1999: 1443a).

3. CONCLUSIONES: ¿HACIA UN NUEVO IDEAL DE OBJETIVIDAD?

Iniciamos este artículo haciéndonos una serie de preguntas filosóficas dentro de una perspectiva histórico y conceptual. Al igual que Elliot Sober, creemos que los problemas filosóficos “se benefician de tener contacto con los detalles de las controversias científicas particulares” (1988). De igual manera, antes de definir si un enfoque particular, un conjunto de métodos o una representación científica merece ser llamada “objetiva”, o más precisamente, “más objetiva (o menos subjetiva) que otra”, creemos que es de la mayor importancia definir cómo es usado el concepto y cuál es su desarrollo en trayectorias particulares, dentro de un campo particular de la ciencia, para enfrentar problemas concretos por sus practicantes.

Desde el principio de los sesenta los biólogos moleculares sostienen que los caracteres moleculares son mejores que los morfológicos como evidencia de los patrones evolutivos de las especies. En la primera mitad del siglo XX ya se habían utilizado evidencias inmunológicas y bioquímicas en la reconstrucción de filogenias, pero este tipo de datos no se consideraba superior sino complementario a los de tipo morfológico. Las secuencias de aminoácidos y posteriormente de nucleótidos, en cambio, fueron definidas en los sesenta como evidencia más *limpia* y *directa* que los caracteres morfológicos. En la discusión se encontraba la posibilidad de *cuantificar* las diferencias y similitudes y darles un tratamiento estadístico explícito que no era accesible para los caracteres más complejos de la paleontología, la embriología o la biogeografía. Es más, en las décadas siguientes el credo de los biólogos moleculares se vio amenazado por los esfuerzos, tanto de los cladistas como de los feneticistas, de poner en palabras lo que los sistemáticos evolutivos tradicionales no eran capaces de expresar. Cosas como “experiencia”, “interpretación”, o incluso “prestigio” (como en el sermón del paleontólogo G. G. Simpson) no funcionarían dentro del nuevo *código de valores* de los evolucionistas moleculares, quienes hablan el idioma de la estadística y se encontraban en capacidad de cuantificar y objetivar cosas como capacidades de cómputo, y de realizar numerosas operaciones estadísticas sobre bases de datos enormes, lo que ningún biólogo clásico podría aspirar a controlar. No obstante, aun los más destacados filogenetistas moleculares inevitablemente regresan a conceptos y

preceptos como el “significado biológico” y la “familiaridad con los datos” en la elaboración de una filogenia.

Las herramientas diseñadas para obtener representaciones más objetivas de las relaciones filogenéticas son variadas. Incluyen la definición exacta y la cuantificación de valores (de distancia, de similitud), el desarrollo y aplicación de métodos estadísticos de inferencia, la recurrencia a prácticas que apuntan a lograr convergencia estadística (o robustez) y un amplio grupo de técnicas de autocontención de la subjetividad, dentro de las que destacan la confianza en las máquinas (computadoras) y en los procedimientos automatizados (en *software* estadístico o que elabora representaciones), así como en la constante tendencia a hacer explícitos los criterios de evaluación. Esto último es muy notorio en el caso de la evaluación y “pesado” de la inserción de *gaps* y en la sustitución de aminoácidos similares en la construcción de matrices, como ya se vio. En términos más prácticos, incluyen la aplicación de métodos alternativos para el mismo grupo de datos, o incluso la utilización de una mezcla de enfoques, retornando al criterio de robustez o convergencia, e independientemente de los compromisos metodológicos y conceptuales de cada metodología, lo cual muestra que, algunas veces, los compromisos metodológicos y conceptuales de cada escuela no son siempre decisivos en las prácticas cotidianas de la investigación, o bien que para la mayor parte de los practicantes de un campo científico el dominio de criterios pragmáticos, como la obtención de resultados relativamente robustos, son más importantes que tales compromisos.

En el camino de ir haciendo explícito lo que está “detrás” de sus métodos, criterios y decisiones, más y más problemas metodológicos surgieron. Al mismo tiempo, mientras más evidencia empírica se acumulaba y modificaba las ideas anteriores sobre los procesos físicos de la evolución biológica (por ejemplo, exponer los posibles efectos de la degeneración del código genético o indicar la presencia de la transferencia horizontal de genes), los problemas metodológicos se diversificaron, así como las respuestas y métodos alternativos, en una carrera ansiosa que determina, en buena parte, la actividad de los filogenetistas moleculares. A la par, observamos una historia de las luchas de estos filogenetistas moleculares por mantener la subjetividad fuera de sus métodos y decisiones. Experiencia y familiaridad, así como preferencias, han continuado tocando a sus puertas y, de hecho, han sido parte de lo que cada bando quiere evitar en los debates cotidianos que constituyen el trabajo de investigación más demandante en este campo.

El remedio de los sistemáticos moleculares, su búsqueda ansiosa de objetividad, se ha centrado en el desarrollo de métodos estadísticos cada vez más complejos y en hacer explícito todo lo que pueda estar implícito, poniendo en palabras y en criterios numéricos (y en la forma de progra-

mas) sus compromisos y decisiones; corriendo el peligro de, al final, transformar lo que es esencialmente un proceso biológico en una “mera” aproximación estadística y arriesgándose a perder contacto con sus sujetos de estudio, los seres vivos. La creciente popularidad de las comparaciones de genomas completos y el reconocimiento de que otras fuentes de evidencia son importantes (como la paleontología, la biología del desarrollo y la biogeografía) opera, no obstante, en contracorriente a este impulso “estadístico”.

Si bien hay muchas diferencias entre los métodos y el código de normas de los sistemáticos evolucionistas tradicionales y los de sus contrapartes moleculares (tanto cladistas como feneticistas), es relativamente claro, desde la perspectiva dada por la evidencia histórica presentada, que los nuevos sistemáticos tienen una relación más cercana con el ideal moderno de la objetividad mecánica. ¿Significa esto que la perspectiva molecular ha probado ser *superior* que la perspectiva organísmica? La mencionada tendencia a comparar genomas completos y a utilizar otras fuentes de evidencia no molecular contradicen esta conclusión.

Lo más probable, creemos, es que esta no sea la pregunta correcta a formular en un artículo orientado históricamente (aunque también epistemológicamente). Lo que parece más interesante es averiguar si las nociones de evidencia y de objetividad en la biología evolutiva se han transformado con el advenimiento del enfoque molecular. Nuestra respuesta es claramente *sí*. La dirección de la transformación apunta a los ideales de la objetividad mecánica y la cuantificación de la naturaleza. Pero las respuestas particulares que han dado los sistemáticos moleculares han dependido, no sólo del acceso a cantidades enormes de secuencias de proteínas y ácidos nucleicos presentes en las bases de datos y del desarrollo de la bioinformática y los métodos de inferencia estadística. Ha dependido en mucho, de los obstáculos específicos que presenta la reconstrucción de un proceso histórico. En muchos sentidos, por ejemplo, en la importancia que tiene la interpretación y la evaluación (el peso) de la evidencia, los sistemáticos moleculares comparten los mismos problemas metodológicos de cualquier investigador (sea un paleontólogo, un arqueólogo o un historiador social) interesado en reconstruir el pasado. Quizás sean esas dificultades inherentes a la comprensión de los fenómenos históricos las que han alimentado de manera más singular la ansiedad metodológica que caracteriza a las prácticas de los filogenetistas moleculares.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos agradecer al Max Planck Institute für Wissenschaftsgeschichte, y en especial a los miembros del Departamento III por la enriquecedora discusión de la primera versión del presente ensayo en octubre de 2006. Este artículo fue posible gracias a una estancia de investigación apoyada por la Universidad Nacional Autónoma de México y el proyecto de investigación PAPIIT número IN308208, así como al apoyo otorgado por el Max Planck Institute für Wissenschaftsgeschichte (Edna Suárez) y a una beca para estudios doctorales otorgada por el Deutscher Akademischer Austausch Dienst (DAAD) y el Institute for Theoretical Biology de la Humboldt Universität zu Berlin (Víctor Hugo Anaya). Asimismo, queremos agradecer a Hans-Jörg Rheinberger, Lorraine Daston, Hannes Lutz, Rasmus Winther, Maureen O'Malley, Skulli Siggurdson, Ramus Winther y a Sergio Martínez sus valiosos comentarios a versiones previas. Deseamos asimismo agradecer a un revisor anónimo por sus sugerencias para mejorar el presente artículo.

NOTAS

- 1 Las filogenias pretenden representar relaciones de ancestría-descendencia. La representación típica de una filogenia es el árbol ramificado de Darwin. Sin embargo, algunas representaciones taxonómicas no pretenden reconstruir relaciones filéticas, pese a que “tengan la apariencia” de así hacerlo. Por ejemplo, los cladogramas son diagramas ramificados, cuyo único propósito es el mostrar grupos *monofiléticos*. Un grupo se considera monofilético cuando “está constituido por una especie, todos los descendientes de esa especie y ninguna otra cosa” (Sober, 1988: 16). La terminología cladista se caracteriza por sus casi impronunciabiles términos (como “sinapomorfias” y “simplesiomorfias”) que afortunadamente no tenemos que abordar en este ensayo.
- 2 Un residuo de aminoácido está presente en un par de cadenas homólogas, o no está. En el caso de las secuencias de nucleótidos del DNA, el lenguaje en base 4 de los cuatro nucleótidos es la base sobre la cual se pueden realizar muchos análisis estadísticos sin las complicaciones que plagan otros tipos de datos. Como veremos, esto no quiere decir, sin embargo, que la elaboración de comparaciones de secuencias no sea problemática.
- 3 Una descripción cuidadosa de este debate está más allá de los objetivos de este artículo. Sin embargo, como es parte de muchas discusiones metodológicas con las que sí nos involucraremos, algunas aclaraciones básicas resultan

necesarias. El problema es cómo relacionar la recuperación de relaciones genealógicas (relaciones de ancestría-descendencia) con las clasificaciones de los seres vivos. Los cladistas sostienen que la genealogía por sí misma debería influir la clasificación: los feneticistas, en cambio, defienden que la similitud general debería determinar la clasificación (y así se podrían proponer hipótesis genealógicas a partir de esos datos); mientras que los taxónomos evolucionistas dicen que la clasificación debe reflejar, tanto la genealogía como la similitud adaptativa. Cada escuela ha desarrollado sus propios y distintivos métodos de inferencia filogenética: el cladismo es asociado con los métodos de parsimonia, el feneticismo con los de máxima verosimilitud (*maximum likelihood*) y la taxonomía evolutiva (que ha sido desplazada por las escuelas rivales en los mayores centros de clasificación e historia natural en el mundo), con una mezcla de metodologías, tanto explícitas como implícitas (es esta falta de claridad el origen de las rivalidades entre las escuelas). Actualmente, muchos filogenetistas moleculares utilizan una mezcla de métodos independientemente de los compromisos metodológicos y conceptuales en los que se basan. Véase Sober 1988 y Hull 1988 para un tratamiento detallado de estos temas.

- 4 Representada principalmente por el sistemático Ernst Mayr y el paleontólogo George G. Simpson, ampliamente reconocidos por su papel durante los cuarenta en la llamada Síntesis Evolutiva.
- 5 La conexión entre este frente de batalla y la lucha entre feneticismo y cladismo se mantiene como un problema histórico-filosófico no abordado en el presente artículo. Sin embargo, es creíble que muchas de las aproximaciones del naciente campo de la evolución molecular se originaron independientemente del feneticismo (Zuckerkandl llamó al primer proyecto de investigación "paleogenética química"). No es del todo claro que debamos creer todo lo que los científicos dicen: por ejemplo, Fitch sostiene que su desarrollo de los primeros programas de computadora en el campo procede completamente independiente de los desarrollos ocurriendo en el feneticismo y luego en el cladismo (comunicación personal). Felsenstein (1994, capítulo 10) menciona ciertas conexiones entre el desarrollo del enfoque molecular de la evolución y el desarrollo de las escuelas rivales de sistemática.
- 6 En este artículo (significativamente titulado "Molecules as documents of evolutionary history"), Emilé Zuckerkandl introdujo una clasificación de moléculas dependiendo de la cantidad de información que portaban. Las moléculas semantofóricas o *semantidas* (literalmente moléculas con significado), incluían a los ácidos nucleicos y las proteínas, y se decía que concentraban la mayor cantidad de información sobre la historia de los seres vivos. Véase Suárez 2007.
- 7 Ortología es la relación entre cualesquiera dos caracteres que comparten un ancestro común y que han divergido por descendencia, es decir, que sean "verdaderos" homólogos (véase Fitch 1970; 1971; 2000).
- 8 Véase Fitch, 1988. La nota incluye los recuerdos del autor sobre su trabajo y su colaboración con Margoliash.
- 9 Conocidos como *gaps* o *indels* en la jerga especializada, vale la pena destacar que el inglés *gap* se refiere a lo que podemos traducir como un "espacio" o "hueco", sin embargo *indel* resulta de la unión de las palabras *insertions* y *deletions*, luego *indel* y ambos se refieren a la ganancia o pérdida de un cierto número de residuos o bases y a la incorporación de espacios en un alineamiento para aumentar la cantidad de identidades o similitudes. Se utiliza el

término ambiguo respecto al proceso pues es difícil saber si el “espacio” resultó de la ganancia o de la pérdida de una parte de la secuencia. Por comodidad utilizaremos indistintamente alguno de estos dos términos en lugar de su traducción al castellano.

- 10 La traducción más adecuada de *likelihood* o *maximum likelihood* sería “verosimilitud” y “máxima verosimilitud”, sin embargo, a lo largo de este artículo utilizaremos el término en inglés debido a su uso generalizado entre los filogenetistas moleculares.
- 11 El cambio de una purina (adenina o guanina) por otra purina, o bien de una pirimidina (timina o citosina) por otra pirimidina.
- 12 El cambio de una pirimidina por una purina o *viceversa*.

BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., y Walter, P. (2002), *Molecular Biology of the Cell* (4th ed.) London, UK: Garland Science.
- Altschul, S. F. (1991), "Amino acid substitution matrices from information theoretic perspective," *J. Mol. Biol.* 219: 555-565.
- Aronson, J.D. (2002), "Molecules and monkeys: George Gaylord Simpson and the challenge of molecular evolution," *History and Philosophy of the Life Sciences* 24: 441-465.
- Beatty, J. (1990), "Evolutionary anti-reductionism: Historical reflections," *Biology and Philosophy* 5: 199-210.
- Bishop, M.J., y Thompson, E.A. (1986), "Maximum likelihood alignment of DNA sequences," *J. Mol. Biol.* 190: 159-165.
- Bolton, E. y Britten, R. (1961), *Yearly Report to the Carnegie Institution of Washington*.
- Brinkman, F. S. L., y Leipe, D. D. (2001), "Phylogenetic analysis," in A. D. Baxenasis & B. F. F. Ouellete (Eds.), *Bioinformatics: A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins* (2a ed.). New York: J. Wiley & Sons.
- Brudno, M., Malde, S., Poliakov, A., Do, C.B. Couronne, O., Dubchak, I., Batzoglou, S. (2003), "Glocal alignment: finding rearrangements during alignment," *Bioinformatics* 19 (Suppl. 1): i54-i62.
- Daston, L. y Galison, P. (1992), "The image of objectivity," *Representations* 40: 81-128.
- Daston, L. y Galison, P. (2007), *Objectivity*. Brooklyn, N.Y: Zone Books.
- Dayhoff, M.O., Schwartz, R.M., Orcutt, B.C. (1978), "A model of evolutionary change in proteins," in Dayhoff, M.O. y Schwartz, R.M. (Eds.), *Atlas of Protein Sequence and Structure* 5: 345-352.
- Dietrich, M.R. (1998), "Paradox and persuasion: Negotiating the place of molecular evolution within evolutionary biology," *Journal of the History of Biology* 31: 85-111.
- Doolittle, W.F. (1999a), "Phylogenetic classification and the universal tree," *Science* 284 (5423): 2124-2129.
- Doolittle, W.F. (1999b), "Lateral genomics," *TIG* 15(12): M5-M8.
- Efron, B. (1979), "Bootstrap methods: Another look at the jackknife," *The Annals of Statistics* 7(1): 1-26.
- Felsenstein, J. (1985), "Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap," *Evolution* 39(4): 783-791.
- Felsenstein, J. (2004), *Inferring Phylogenies*. USA: Sinauer Press.
- Felsenstein, J., Sawyer, S., Kochin, R. (1982), "An efficient method for matching nucleic acid sequences," *Nucleic Acids Research* 10(1): 133-139.
- Feng, D.F., Johnson, M.S., Doolittle, R.F. (1985), "Aligning amino acid sequences; Comparison of commonly used methods," *J. Mol. Biol.* 21: 112-125.
- Fitch, W. (1966), "The relation between frequencies of amino acids and ordered trinucleotides," *J. Mol. Biol.* 16: 1-8.
- Fitch, W. (1970), "Distinguishing homologous from analogous proteins," *Syst. Zool.* 19, 99-113.
- Fitch, W. (1971), "Toward defining the course of evolution: minimum change for a specific tree topology," *Syst. Zool.* 20(4): 406-416.
- Fitch, W. (1988), "This Weeks Citation Classic," *Current Contents* 27: 16.
- Fitch, W. (2000), "Homology, a personal view on some of the problems," *TIG* 16(5): 227-231.
- Fitch, W. M., y Margoliash, E. (1967), "Construction of phylogenetic trees," *Science* 155(3760): 279-284.

- Fitch, W., y Smith, T. (1983), "Optimal sequence alignments," *PNAS* 80: 1382-1386.
- Gigerenzer, G., Z. Swijtink, T. Porter, L. Daston, J. Beatty y Kruger., L. (1989), *The Empire of Chance: How Probability Changed Science and Everyday Life*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Goodman, M. (1960), "On the emergence of intraspecific differences in the protein antigens of human beings," *The American naturalist* 94(875): 153-166.
- Goodman, M. (1996), "Epilogue: A personal account of the origins of a new paradigm," *Molecular Phylogenetics and Evolution* 5(1): 269-285.
- Hagen, J. (2001), "The introduction of computers into systematic research in the United States during the 1960's," *Studies in the History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences* 32: 291-314.
- Hagen, J. (2003), "The statistical frame of mind in systematic biology from quantitative zoology to biometry," *Journal of the History of Biology* 36: 353-384.
- Henikoff, S., y Henikoff, J.G. (1992), "Amino acid substitution matrices from protein blocks," *PNAS* 89:10915-10919.
- Hull, D. L. (1988), *Science as a Process*. Chicago: The University of Chicago Press.
- Huynen, M., Berend, S., Bork P. (1999), "Lateral gene transfer, genome surveys, and the phylogeny of prokaryotes," *Science* 286: 1443a.
- Jones, D.T., Taylor W.R., Thornton, J.M. (1992), "The rapid generation of mutation data matrices from protein sequences," *Comp. Appl. Biosci.* 8: 275-282.
- Jukes, T.H., y Cantor, C.R. (1969), "Evolution of protein molecules," in H.N. Munro (ed). *Mammalian Protein Metabolism* (Vol. 3). New York and London: Academic Press.
- Lewontin, R. (1974), *The Genetic Basis of Evolutionary Change*. NY: Columbia University Press.
- Kimura, M. (1980), "A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences," *Journal of Molecular Evolution* 16: 111-120.
- Li, W.-H. (1993), "Unbiased estimation of the rates of synonymous and non synonymous substitution," *J. Mol. Evol.* 36: 96-99.
- Li, W.-H., Wu C.-I., Luo, C.C. (1985), "A new method for estimating synonymous and nonsynonymous rates of nucleotide substitution considering the relative likelihood of nucleotide and codon changes," *Mol. Biol. Evol.* 2(2): 150-174.
- Li, W.-H., y Graur D. (1991), *Fundamentals of Molecular Biology*, USA: Sinauer Associats, INC.
- Margoliash, E. (1963), "Primary structure and evolution of cytochrome C," *PNAS* 50(4): 672-679.
- Margulis, L. (1981), *Symbiosis in Cell Evolution: Microbial Communities in the Archean and Proterozoic Eons*. New York: W.H. Freeman and Company.
- McLachlan, A.D. (1972), "Repeating sequences and gene duplication in proteins," *J. Mol. Biol.* 64: 17-437.
- Müller, T., y Vingron, M. (2000), "Modeling amino acid replacement. *J. Comput. Biol.* 7(6): 761-776.
- Müller, T., Spang, R., Vingron, M. (2002), "Estimating amino acid substitution models: A comparison of Dayhoff's Estimator, the resolvent approach and a maximum likelihood method," *J. Biol. Evol.* 19(1): 8-13.
- Needleman, S., y Wunsch, C. (1970), "A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequence of two proteins," *J Mol Biol.* 48(3): 443-53.

- Nei, M., y Gojobori, T. (1986), "Simple methods for estimating the numbers of synonymous and nonsynonymous nucleotide substitutions," *Mol. Biol. Evol.* 3(5): 418-426.
- November, Joseph, A. (2006), "Digitalizing life: The introduction of computers to biology and medicine,". Unpublished PhD Dissertation. Princeton University.
- O'Malley, M.A. and Boucher, Y. (2005), "Paradigm change in evolutionary microbiology," *Stud. Hist. Phil. Biol. & Biomed. Sci.* 36:183-208.
- Porter, T. M. (1995), *Trust in Numbers. The Pursuit of Objectivity in Science and Public Life*. New Jersey: Princeton University Press.
- Sagan, L. (1967), "On the origin of mitosing cells," *J. Theoretical Biology* 14(3) S: 255-274.
- Schejter, A., & Agassi, J. (1981), "Molecular phylogenetics: Biological parsimony and methodological extravagance," in J. Agassi & R. S. Cohen (Eds.), *Scientific Philosophy Today*. Dordrecht: D. Reidel Publishing Company, pp. 333-356.
- Schwartz, R.M., y Dayhoff, M.O. (1978), "Origins of prokaryotes, Eukaryotes, Mitochondria and Chloroplasts," *Science* 199 (4327): 395-403.
- Simpson, G.G. (1944), *Tempo and Mode in Evolution*. New York: Columbia University Press.
- Simpson, G.G. (1964), "The meaning of taxonomic statements," in Sherwood L. Washburn (Ed.) *Classification and Human Evolution*. London: Methuen and Co. Ltd.
- Simpson, G. G. y Roe, A. (1939), *Quantitative Zoology*. New York: Mac Graw Hill.
- Smith, T. F. (1990), "The history of the genetic sequence databases," *Genomics* 6: 701-707.
- Sober, E. (1988), *Reconstructing the Past, Parsimony, Evolution and Inference*. Boston: MIT Press.
- Suárez, E. (1996), *El origen de disciplinas como integración de tradiciones científicas: El caso de la evolución molecular*. Tesis doctoral no publicada. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Suárez, E. (2007) "The rhetoric of informational molecules. Authority and promises in the early days of molecular evolution," *Science in Context* 20(4): 649-677.
- Thorne J.L., Kishino, H., Felsenstein, J. (1991) "An evolutionary model for maximum likelihood alignment of DNA sequences," *J. Mol. Biol.* 33: 114-124.
- Winter, P.W., Walsh K.A., Neurat, H. (1968), "Homology applied to proteins," *Science* 168 (3861): 1433.
- Woese C.R. y Fox, G.E. (1977), "Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms," *PNAS* 74(11): 5088-5090.
- Zuckerkandl, E. (1964), "Perspectives in Molecular Anthropology," in Sherwood I. Washburn (Ed.) *Classification and Human Evolution*. London: Methuen and Co. Limited.
- Zuckerkandl, E., y Pauling, L. (1962), "Molecular disease, evolution and genic heterogeneity," in Kasha, M y Pullman, B (Eds.) *Horizons in Biochemistry: Albert Szent-Gyöyi Dedicatory Volume*. NY, USA: Academic Press.
- Zuckerkandl, E. y Pauling, L. (1965a), "Molecules as documents of evolutionary history," *Journal of Theoretical Biology* 8: 357-366.
- Zuckerkandl, E. y Pauling, L. (1965b), "Evolutionary divergence and convergence in proteins," in Vernon, B. y Vogel, H. (Eds.), *Evolving Genes and Proteins*. New York: Academic Press.