

Práctico Filogenias 2

Laboratorio de Evolución

09/11/2020

Métodos Comparativos Filogenéticos

Resumen del problema

Es bien sabido que la presión parcial de oxígeno disminuye con la altura. Las personas no habituadas “se apunan” o sienten malestar al trasladarse a zonas de montaña, especialmente al momento de realizar actividades físicas exigentes. Un individuo que se traslada desde una zona baja hasta una de altura, experimenta a lo largo del tiempo una serie de ajustes fisiológicos para paliar al menos parte de esos desajustes.

Por lo tanto, cabe preguntarse si hay cambios genéticos que han sido favorecidos por la selección natural y que permiten a especies y poblaciones que viven a altas elevaciones adaptarse mejor a dichas condiciones. Tanto en humanos como en especies animales (y muchas otras), hay estudios orientados a identificar estos cambios.

Puesto que la afinidad de la sangre por el oxígeno es un factor clave para la vida en altura, y dicha afinidad depende fuertemente de las características de la hemoglobina (recordemos que la estructura cuaternaria de la hemoglobina combina dos cadenas de tipo alfa y dos de tipo beta en un tetrámero, en torno a un núcleo de hierro), esta proteína ha sido el blanco de muchos estudios.

En un trabajo reciente, Natarajan et al. (2016) se plantean identificar algunas de las adaptaciones de la hemoglobina para la vida en la altura. La hipótesis de trabajo es que la selección natural pudo haber favorecido cambios en las características de la hemoglobina de las especies asociados a la elevación en la que vive cada una.

Algunas de las ideas del artículo son: - Realizar un estudio comparando múltiples especies de aves, procurando elegir pares de especies cercanamente relacionadas, de modo que una de las especies de cada par viva en tierras altas y otra en las tierras bajas cercanas. - Para cada una de estas especies, aislar la hemoglobina y estudiar su afinidad con el oxígeno en el laboratorio.

El estudio incluye un análisis de los cambios en las secuencias de las hemoglobinas, que usaremos más adelante en el curso. Por el momento, extraemos del artículo los siguientes datos para cada una de las 56 especies estudiadas:

1. La elevación en la que viven (específicamente la altura de la localidad en la que fueron estudiadas).

2. La afinidad de su alfa globina por el oxígeno, tomada en condiciones controladas de laboratorio (en un medio que aproxima las condiciones en sangre), resumida por el valor conocido como P50.
3. El árbol filogenético que se utiliza en el artículo. Este árbol se toma como la mejor hipótesis disponible de las relaciones entre las especies.

Preguntas 1: Obtener de internet una curva de afinidad de la hemoglobina con el oxígeno. ¿Qué es el valor P50? ¿Cómo debería cambiar el P50 para que la hemoglobina tenga mayor afinidad con el oxígeno, por ejemplo en una especie de altura?

Activando los paquetes de R

Para esta actividad práctica usaremos, **R** (<https://cran.r-project.org/>) el cual es un entorno y lenguaje de programación enfocado al análisis estadístico. Se recomienda el uso **RStudio** (<https://rstudio.com/>), que es un entorno de desarrollo integrado (IDE), en conjunción con **R**, lo cual facilita el manejo de datos y la realización de los análisis.

Utilizaremos los siguientes paquetes de **R**, los cuales deben ser previamente instalados:

R Markdown: para formatear el archivo de salida de los análisis.

knitr: para convertir los archivos de R markdown en varios formatos.

phytools: varias funciones para análisis filogenéticos, principalmente orientado a la biología comparada.

Trabajando con los datos originales

Mediante el comando “setwd(dir)” podemos indicarle a R en donde están ubicados los archivos con los cuales vamos a estar trabajando, siendo “dir” la ruta hacia nuestro directorio (e.g. C:\User\Desktop\R). También podemos ubicar el directorio de trabajo de R mediante “getwd()” y colocar ahí nuestros archivos de interés.

El bloque de código siguiente lee solamente los datos de elevación y los de P50 de la HbA. Se hace una exploración de esos datos.

```
# Leemos las dos tablas de datos y combinarlas en un solo "data frame".
# Notar que en esta parte son archivos nuevos con los nombres de las
variables cambiados
P50<-read.table("HbA_KCLHIP_P50.txt")
elevacion<-read.table("Elevacion_2.txt", header = TRUE)
Datos = cbind(elevacion, P50) # acá se combinan los datos de las dos
tablas
Datos$Elev.cat <- c("Alta", "Baja") # agrego variable categórica
Elevación a cada par de spp.
table(Datos$Elev.cat) # chequeo que quedan 28 pares

##
## Alta Baja
## 28 28

print(Datos)
```

##	Familia	Especie
Elevacion		
## Metriopelia_melanoptera 4178	Columbidae	Metriopelia_melanoptera
## Columbina_cruziana 372	Columbidae	Columbina_cruziana
## Hydropsalis_longirostris 4401	Caprimulgidae	Hydropsalis_longirostris
## Hydropsalis_decussata 309	Caprimulgidae	Hydropsalis_decussata
## Colibri_coruscans 4030	Trochilidae	Colibri_coruscans
## Schistes_geoffroyi 1395	Trochilidae	Schistes_geoffroyi
## Selasphorus_platycercus 2470	Trochilidae	Selasphorus_platycercus
## Archilochus_alexandri 2050	Trochilidae	Archilochus_alexandri
## Amazilia_viridicauda 3005	Trochilidae	Amazilia_viridicauda
## Amazilia_amazilia 366	Trochilidae	Amazilia_amazilia
## Chalcostigma_stanleyi 4300	Trochilidae	Chalcostigma_stanleyi
## Chalcostigma_ruficeps 2858	Trochilidae	Chalcostigma_ruficeps
## Oreotrochilus_estella 4391	Trochilidae	Oreotrochilus_estella
## Adelomyia_melanogenys 2147	Trochilidae	Adelomyia_melanogenys
## Eriocnemis_luciani 3680	Trochilidae	Eriocnemis_luciani
## Haplophaedia_aurelieae 1740	Trochilidae	Haplophaedia_aurelieae
## Aglaeactis_castelnaudii 4578	Trochilidae	Aglaeactis_castelnaudii
## Heliodoxa_leadbeateri 1890	Trochilidae	Heliodoxa_leadbeateri
## Pterophanes_cyanopterus 4200	Trochilidae	Pterophanes_cyanopterus
## Boissonneaua_matthewsii 2850	Trochilidae	Boissonneaua_matthewsii
## Coeligena_violifer 3779	Trochilidae	Coeligena_violifer
## Coeligena_coeligena 2132	Trochilidae	Coeligena_coeligena
## Cinclodes_albiventris 4401	Furnariidae	Cinclodes_albiventris
## Furnarius_leucopus 350	Furnariidae	Furnarius_leucopus

## Notiochelidon_murina 4470	Hirundinidae	Notiochelidon_murina
## Pygochelidon_cyanoleuca 2550	Hirundinidae	Pygochelidon_cyanoleuca
## Troglodytes_aedonH 4375	Troglodytidae	Troglodytes_aedonH
## Troglodytes_aedonL 143	Troglodytidae	Troglodytes_aedonL
## Spinus_magellanicaH 3945	Fringillidae	Spinus_magellanicaH
## Spinus_magellanicaL 39	Fringillidae	Spinus_magellanicaL
## Zonotrichia_capensisH 4079	Emberizidae	Zonotrichia_capensisH
## Zonotrichia_capensisL 39	Emberizidae	Zonotrichia_capensisL
## Tangara_vassorii 3421	Thraupidae	Tangara_vassorii
## Tangara_nigroviridis 2698	Thraupidae	Tangara_nigroviridis
## Conirostrum_cinereumH 4056	Thraupidae	Conirostrum_cinereumH
## Conirostrum_cinereumL 352	Thraupidae	Conirostrum_cinereumL
## Diglossa_brunneiventris 4385	Thraupidae	Diglossa_brunneiventris
## Diglossa_glauca 1395	Thraupidae	Diglossa_glauca
## Catamenia_analisH 3573	Thraupidae	Catamenia_analisH
## Catamenia_analisL 39	Thraupidae	Catamenia_analisL
## Oxyura_jamaicensisH 1250	Anatidae	Oxyura_jamaicensisH
## Oxyura_jamaicensisL 350	Anatidae	Oxyura_jamaicensisL
## Merganetta_armataH 4500	Anatidae	Merganetta_armataH
## Merganetta_armataL 1500	Anatidae	Merganetta_armataL
## Chloephaga_melanoptera 4700	Anatidae	Chloephaga_melanoptera
## Neochen_jubata 300	Anatidae	Neochen_jubata
## Lophonetta_s_alticola 4800	Anatidae	Lophonetta_s_alticola
## Lophonetta_s_specularioides 1500	Anatidae	Lophonetta_s_specularioides
## Anas_georgicaH 4600	Anatidae	Anas_georgicaH

## Anas_georgical	Anatidae	Anas_georgical
39		
## Anas_f_oxyptera	Anatidae	Anas_f_oxyptera
4400		
## Anas_f_flavirostris	Anatidae	Anas_f_flavirostris
39		
## Anas_c_orinoma	Anatidae	Anas_c_orinoma
4600		
## Anas_c_cyanoptera	Anatidae	Anas_c_cyanoptera
39		
## Anas_puna	Anatidae	Anas_puna
4600		
## Anas_versicolor	Anatidae	Anas_versicolor
39		
##	P50 Elev.cat	
## Metriopelia_melanoptera	26.86	Alta
## Columbina_cruziana	28.38	Baja
## Hydropsalis_longirostris	30.21	Alta
## Hydropsalis_decussata	36.12	Baja
## Colibri_coruscans	31.08	Alta
## Schistes_geoffroyi	36.81	Baja
## Selasphorus_platycercus	38.25	Alta
## Archilochus_alexandri	39.12	Baja
## Amazilia_viridicauda	24.24	Alta
## Amazilia_amazilia	29.84	Baja
## Chalcostigma_stanleyi	32.34	Alta
## Chalcostigma_ruficeps	33.02	Baja
## Oreotrochilus_estella	20.20	Alta
## Adelomyia_melanogenys	32.02	Baja
## Eriocnemis_luciani	31.81	Alta
## Haplophaedia_aurelieae	35.67	Baja
## Aglaeactis_castelnaudii	17.23	Alta
## Heliodoxa_leadbeateri	17.23	Baja
## Pterophanes_cyanopterus	30.43	Alta
## Boissonneaua_matthewsii	36.51	Baja
## Coeligena_violifer	19.12	Alta
## Coeligena_coeligena	22.90	Baja
## Cinclodes_albiventris	25.12	Alta
## Furnarius_leucopus	44.69	Baja
## Notiochelidon_murina	30.89	Alta
## Pygochelidon_cyanoleuca	39.59	Baja
## Troglodytes_aedonH	17.07	Alta
## Troglodytes_aedonL	25.88	Baja
## Spinus_magellanicaH	27.82	Alta
## Spinus_magellanicaL	31.53	Baja
## Zonotrichia_capensisH	39.98	Alta
## Zonotrichia_capensisL	36.28	Baja
## Tangara_vassorii	43.09	Alta
## Tangara_nigroviridis	43.22	Baja
## Conirostrum_cinereumH	39.47	Alta

```
## Conirostrum_cinereumL      40.50      Baja
## Diglossa_brunneiventris    32.06      Alta
## Diglossa_glauca           40.68      Baja
## Catamenia_analish         37.46      Alta
## Catamenia_analisL        37.95      Baja
## Oxyura_jamaicensish       30.05      Alta
## Oxyura_jamaicensisL      28.52      Baja
## Merganetta_armataH        26.60      Alta
## Merganetta_armataL        27.97      Baja
## Chloephaga_melanoptera     27.64      Alta
## Neochen_jubata           35.31      Baja
## Lophonetta_s_alticola     25.14      Alta
## Lophonetta_s_specularioides 37.98      Baja
## Anas_georgicaH           35.62      Alta
## Anas_georgical           42.20      Baja
## Anas_f_oxoptera           30.08      Alta
## Anas_f_flavirostris       30.96      Baja
## Anas_c_orinoma            29.36      Alta
## Anas_c_cyanoptera         37.43      Baja
## Anas_puna                 27.32      Alta
## Anas_versicolor           39.66      Baja

rm(P50, elevacion)
```

Preguntas 2: La tabla de datos incluye varios pares de especies de un mismo género. Elegir algunos de esos pares para discutir:

1. ¿De qué especies se trata? Averiguar algo de los nombres comunes, familias a las que pertenecen, distribución geográfica. 2. ¿Qué tendencias se observan al examinar en varios de esos pares la relación entre altura y P50?

Examinando la relación entre elevación y P50

En el siguiente bloque se obtiene el coeficiente de correlación entre las dos variables de interés, se aplica un modelo de regresión lineal entre dichas variables, y se grafican los valores junto con la línea de tendencia obtenida en la regresión.

```
attach(Datos) # Fijamos Las Variables de Datos (ya no es necesario
Llamarlas a través del comando Datos$x)

# Análisis exploratorios
str(Datos) # Resumen de número y tipo de variables y nro de observaciones

## 'data.frame': 56 obs. of 5 variables:
## $ Familia : Factor w/ 10 levels "Anatidae","Caprimulgidae",...: 3 3 2
2 9 9 9 9 9 ...
## $ Especie : Factor w/ 56 levels "Adelomyia_melanogenys",...: 39 24 34
33 23 47 48 13 4 3 ...
## $ Elevacion: int 4178 372 4401 309 4030 1395 2470 2050 3005 366 ...
## $ P50 : num 26.9 28.4 30.2 36.1 31.1 ...
## $ Elev.cat : chr "Alta" "Baja" "Alta" "Baja" ...
```

```
Datos$Elevacion <- as.numeric(as.character(Datos$Elevacion))
```

```
summary(Familia) # cuantas observaciones de cada Familia
```

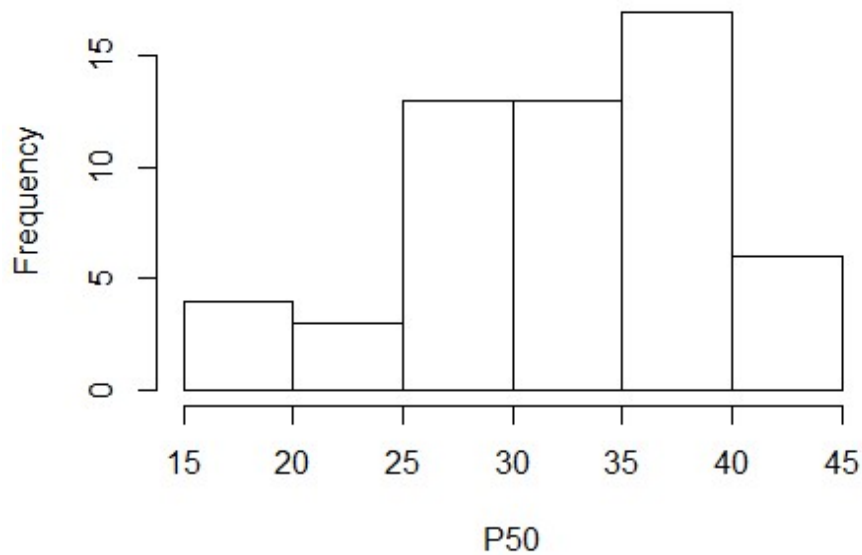
```
##      Anatidae Caprimulgidae      Columbidae      Emberizidae      Fringillidae
##           16              2              2              2              2
##      Furnariidae Hirundinidae      Thraupidae      Trochilidae Troglodytidae
##           2              2              8              18              2
```

```
summary(P50)
```

```
##      Min. 1st Qu.  Median      Mean 3rd Qu.      Max.
##      17.07  27.77   31.67   32.04  37.58   44.69
```

```
hist(P50)
```

Histogram of P50

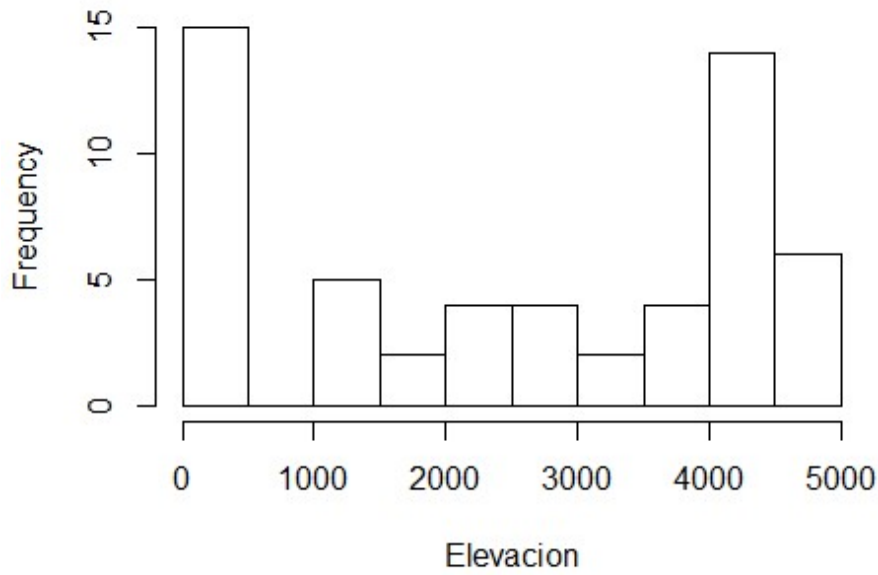


```
summary(Elevacion)
```

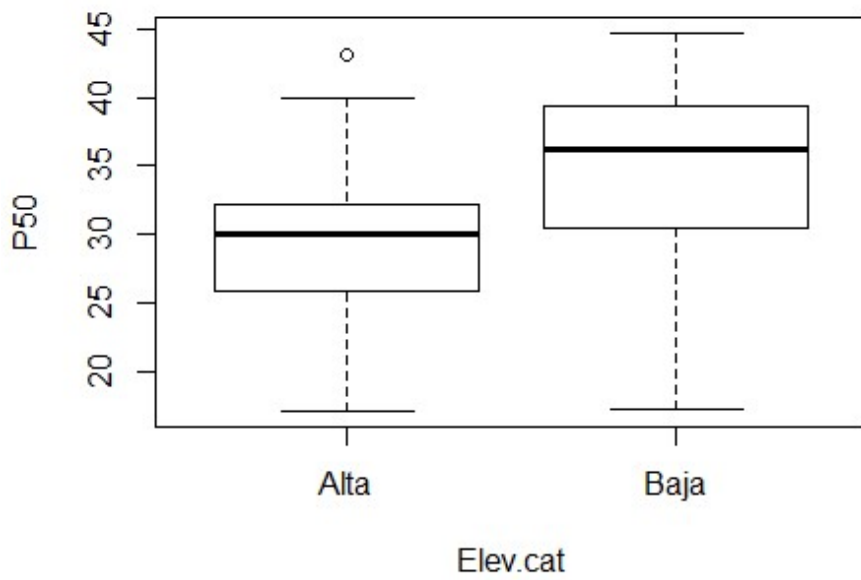
```
##      Min. 1st Qu.  Median      Mean 3rd Qu.      Max.
##      39.0   370.5  2774.0  2548.0  4318.8  4800.0
```

```
hist(Elevacion)
```

Histogram of Elevacion



```
# Exploro relación P50 vs. Elevación (categórica)  
boxplot(P50~Elev.cat)
```




```

# ...y la relación P50 vs. Elevación (numérica)
# Calculamos el coeficiente de correlación entre las dos variables
R = cor(Datos$Elevacion,Datos$P50)

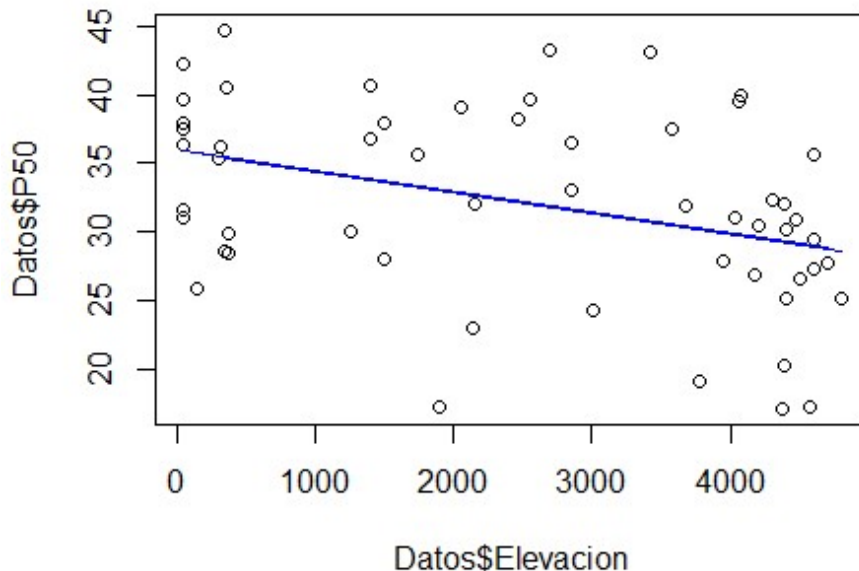
# Aplicar un modelo lineal (Lm) de regresión. Se define a P50 como la
variable dependiente y a Elevacion como la variable independiente.
Regresion <- lm(Datos$P50~Datos$Elevacion)
summary.lm(Regresion)

##
## Call:
## lm(formula = Datos$P50 ~ Datos$Elevacion)
##
## Residuals:
##      Min       1Q   Median       3Q      Max
## -15.8125  -4.1662   0.8666   4.4904  12.3688
##
## Coefficients:
##              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
## (Intercept)    35.9080738  1.5388246  23.335 < 2e-16 ***
## Datos$Elevacion -0.0015162  0.0004991  -3.038  0.00367 **
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
##
## Residual standard error: 6.483 on 54 degrees of freedom
## Multiple R-squared:  0.1459, Adjusted R-squared:  0.1301
## F-statistic: 9.228 on 1 and 54 DF,  p-value: 0.003667

# Graficamos los valores de P50 y elevación, agregando la línea de ajuste
obtenida de la regresión lineal.
plot(Datos$P50~Datos$Elevacion, main = "Relación entre P50 de HbA y
elevación")
lines(Datos$Elevacion, fitted(Regresion), col="blue")

```

Relación entre P50 de HbA y elevación



Preguntas 3 1. ¿Cuál es el valor del coeficiente de correlación? ¿Qué sugiere respecto a la relación entre las variables (signo, intensidad)? 2. Examinar la tabla de regresión. ¿Qué fracción de la varianza está explicada por el modelo? 3. Identificar y explicar los parámetros relevantes del modelo y el p-valor asociado a cada uno. ¿Qué sugieren estos resultados sobre la hipótesis de trabajo. 4. Examinar la gráfica, incluyendo la predicción obtenida por regresión lineal. ¿Qué sugiere la gráfica y cómo se relaciona con los puntos discutidos más arriba?

Las especies, y por lo tanto sus rasgos, no pueden ser tratadas como variables independientes desde el punto de vista estadístico dado que comparten una historia evolutiva en común. Este problema se hace aún más evidente en taxa cercanamente emparentados. La respuesta a tal problema fue propuesta por Felsenstein (1985) mediante el cálculo de Contrastes Filogenéticos Independientes (CFI), mediante el cual se transforma a los rasgos analizados en variables independientes, empleando la filogenia de las especies como marco de análisis. En la siguiente sección, vamos a abordar este problema y analizaremos nuevamente la correlación entre la P50 y la Altura, pero esta vez corrigiendo la falta de independencia de los datos, utilizando los CFI como nuevas variables, independientes de la historia evolutiva compartida entre las diferentes especies de aves.

```
#Leemos el árbol filogenético  
tree<-read.tree("C:\\Users\\Passer\\Desktop\\R\\tree.tre")
```

```
#enraizamos el árbol en su punto medio  
treeR<-midpoint.root(tree)
```

```
#visualizamos el árbol enraizado
```

```
plotTree(treeR, edge.width=1, ftype="i", fsize=0.7)
```



```
#para simplificar los comandos, leemos otro archivo que contiene solo las especies y las máximas alturas registradas, así como otro archivo con los valores de P50 (se puede corroborar y si no se modificó para la etapa anterior, se puede usar el mismo en ambas partes)
```

```
elevacion_2<-read.table("Elevacion.txt")
```

```
P50_2<-read.table("HbA_KCLHIP_P50.txt")
```

```
#Creamos un vector numérico de las variables para calcular los contrastes
```

```
VP50 <- P50_2$P50
```

```
Velevacion <- elevacion_2$Elevacion
```

```
#Para que los datos y los taxa terminales se asocien correctamente
```

```
names(VP50) <- row.names(P50_2)
```

```
names(Velevacion) <- row.names(elevacion_2)
```

```
#calculamos los contrastes filogenéticamente independientes
```

```
ContrasteVP50 <- pic(VP50, treeR)
```

```
ContrasteVelevacion <- pic(Velevacion, treeR)
```

```
#si queremos extraer además de los contrastes, su varianza asociada
```

```
ContrasteVP50.var <- pic(VP50, treeR, var.contrasts=TRUE)
```

```
ContrasteVelevacion.var <- pic(Velevacion, treeR, var.contrasts=TRUE)
```

#Ahora visualizamos los contrastes filogenéticos calculados anteriormente
ContrasteVP50

##	57	58	59	60	61	
62						
##	1.21599821	1.56277493	-1.81378821	-4.42508324	6.92515888	
5.37509655						
##	63	64	65	66	67	
68						
##	1.63034354	-2.49099309	-1.63497883	0.77076261	0.34648232	-
6.09526045						
##	69	70	71	72	73	
74						
##	-0.72831998	-0.09192388	2.61629509	-2.62336616	-6.22961074	-
6.15182900						
##	75	76	77	78	79	
80						
##	-13.83807971	0.92603541	1.74299931	1.37103384	-0.68017986	
0.05484828						
##	81	82	83	84	85	
86						
##	-8.72569768	-5.70635172	-4.84396876	-0.62225397	-4.65276262	-
9.07925107						
##	87	88	89	90	91	
92						
##	2.41909763	-5.42350901	-0.96873629	1.08187338	2.90637083	-
0.29722727						
##	93	94	95	96	97	
98						
##	-1.63227832	-2.13005429	-0.82035448	-7.12925805	3.18727496	-
3.00177253						
##	99	100	101	102	103	
104						
##	-2.67286363	8.68064514	-4.29920923	-2.72943218	-2.38730372	
6.67084060						
##	105	106	107	108	109	
110						
##	-0.48083261	-6.72324388	-3.95979797	-0.61518290	-4.05172186	-
4.17900108						
##	111					
##	-1.07480231					

ContrasteVelevacion

##	57	58	59	60	61	
62						
##	-68.16633	443.42685	300.75919	-712.44242	-57.95270	
196.07592						
##	63	64	65	66	67	
68						

```

## 352.72895 -433.84602 79.87683 -625.84769 -2498.91536
2114.24928
## 69 70 71 72 73
74
## 2619.12352 511.23820 2856.71140 2761.95909 2992.47590
1357.64502
## 75 76 77 78 79
80
## 2864.48957 1063.50194 10.44802 -465.67522 26.72612
0.00000
## 81 82 83 84 85
86
## 3225.11403 3225.11403 -57.73503 3083.69267 3225.11403
2333.45238
## 87 88 89 90 91
92
## -288.67513 3111.26984 2121.32034 636.39610 109.80928
146.61554
## 93 94 95 96 97
98
## -110.31928 588.93661 35.75795 532.61130 -859.03997
71.61372
## 99 100 101 102 103
104
## 1164.60487 873.94426 954.59415 1371.78716 906.33164 -
434.03226
## 105 106 107 108 109
110
## 1019.64798 -331.68773 1866.05480 296.98485 1863.22637
2893.48095
## 111
## 2691.24841

```

vemos los contrastes phylogenéticos calculados y también su varianza asociada

ContrasteVP50.var

```

## contrasts variance
## 57 1.21599821 2.933534
## 58 1.56277493 4.660203
## 59 -1.81378821 3.322870
## 60 -4.42508324 3.322849
## 61 6.92515888 3.322746
## 62 5.37509655 3.322242
## 63 1.63034354 3.319767
## 64 -2.49099309 3.307692
## 65 -1.63497883 3.250000
## 66 0.77076261 3.000000
## 67 0.34648232 2.000000
## 68 -6.09526045 2.000000

```

```
## 69 -0.72831998 2.000000
## 70 -0.09192388 2.000000
## 71 2.61629509 2.000000
## 72 -2.62336616 2.000000
## 73 -6.22961074 2.000000
## 74 -6.15182900 2.000000
## 75 -13.83807971 2.000000
## 76 0.92603541 3.395349
## 77 1.74299931 3.583333
## 78 1.37103384 3.375000
## 79 -0.68017986 3.500000
## 80 0.05484828 3.000000
## 81 -8.72569768 2.000000
## 82 -5.70635172 2.000000
## 83 -4.84396876 3.000000
## 84 -0.62225397 2.000000
## 85 -4.65276262 2.000000
## 86 -9.07925107 2.000000
## 87 2.41909763 3.000000
## 88 -5.42350901 2.000000
## 89 -0.96873629 2.000000
## 90 1.08187338 2.000000
## 91 2.90637083 3.326879
## 92 -0.29722727 3.342637
## 93 -1.63227832 3.422768
## 94 -2.13005429 3.702106
## 95 -0.82035448 3.811838
## 96 -7.12925805 3.455556
## 97 3.18727496 3.829787
## 98 -3.00177253 3.357143
## 99 -2.67286363 2.000000
## 100 8.68064514 3.500000
## 101 -4.29920923 2.000000
## 102 -2.72943218 2.000000
## 103 -2.38730372 3.857143
## 104 6.67084060 3.500000
## 105 -0.48083261 2.000000
## 106 -6.72324388 3.000000
## 107 -3.95979797 2.000000
## 108 -0.61518290 2.000000
## 109 -4.05172186 2.000000
## 110 -4.17900108 2.000000
## 111 -1.07480231 2.000000
```

ContrasteVelevacion.var

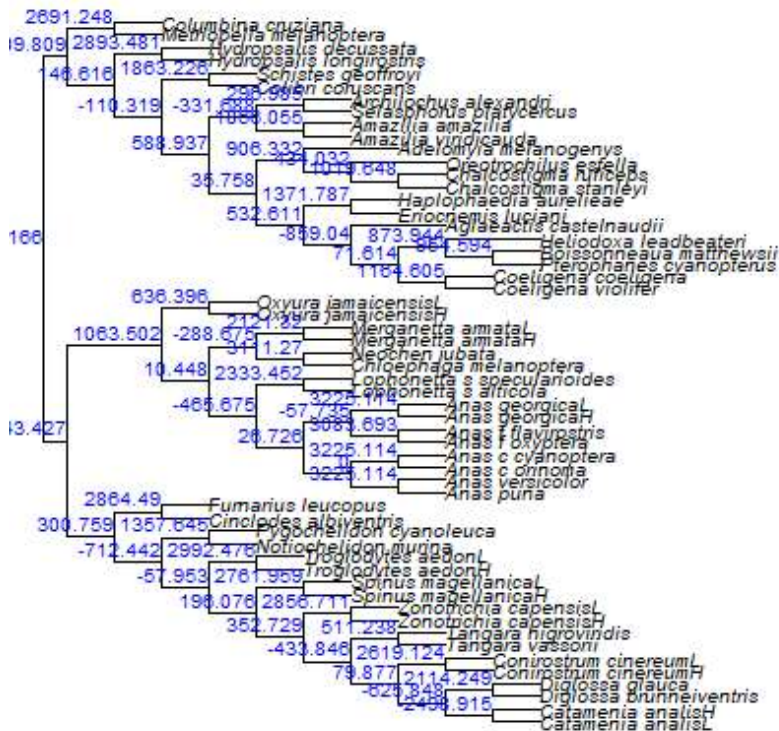
```
## contrasts variance
## 57 -68.16633 2.933534
## 58 443.42685 4.660203
## 59 300.75919 3.322870
```

## 60	-712.44242	3.322849
## 61	-57.95270	3.322746
## 62	196.07592	3.322242
## 63	352.72895	3.319767
## 64	-433.84602	3.307692
## 65	79.87683	3.250000
## 66	-625.84769	3.000000
## 67	-2498.91536	2.000000
## 68	2114.24928	2.000000
## 69	2619.12352	2.000000
## 70	511.23820	2.000000
## 71	2856.71140	2.000000
## 72	2761.95909	2.000000
## 73	2992.47590	2.000000
## 74	1357.64502	2.000000
## 75	2864.48957	2.000000
## 76	1063.50194	3.395349
## 77	10.44802	3.583333
## 78	-465.67522	3.375000
## 79	26.72612	3.500000
## 80	0.00000	3.000000
## 81	3225.11403	2.000000
## 82	3225.11403	2.000000
## 83	-57.73503	3.000000
## 84	3083.69267	2.000000
## 85	3225.11403	2.000000
## 86	2333.45238	2.000000
## 87	-288.67513	3.000000
## 88	3111.26984	2.000000
## 89	2121.32034	2.000000
## 90	636.39610	2.000000
## 91	109.80928	3.326879
## 92	146.61554	3.342637
## 93	-110.31928	3.422768
## 94	588.93661	3.702106
## 95	35.75795	3.811838
## 96	532.61130	3.455556
## 97	-859.03997	3.829787
## 98	71.61372	3.357143
## 99	1164.60487	2.000000
## 100	873.94426	3.500000
## 101	954.59415	2.000000
## 102	1371.78716	2.000000
## 103	906.33164	3.857143
## 104	-434.03226	3.500000
## 105	1019.64798	2.000000
## 106	-331.68773	3.000000
## 107	1866.05480	2.000000
## 108	296.98485	2.000000
## 109	1863.22637	2.000000

```
## 110 2893.48095 2.000000
## 111 2691.24841 2.000000
```

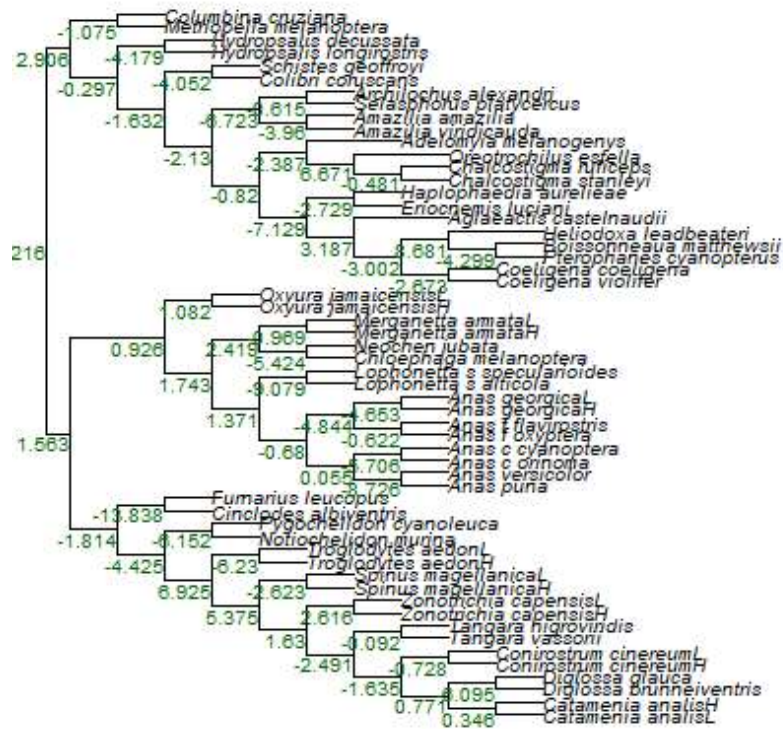
#vemos Los contrastes asociados a cada nodo, a partir del archivo que también contine el cálculo de Las varianzas. Los contrastes asociados a P50 aparecerán en azul y Los asociados a La Elevación aparecerán en verde.

```
plot(treeR, no.margin=TRUE, edge.width=1, cex=c(0.6,0.6))
nodelabels(round(ContrasteVelevacion.var [,1], 3), adj = c(1, -0.4),
frame="n", col = "blue", cex=0.6)
```



#volvemos a plotear La filogenia solo para que nos se superpongan ambos contrastes

```
plot(treeR, no.margin=TRUE, edge.width=1, cex=c(0.6,0.6))
nodelabels(round (ContrasteVP50.var [,1], 3), adj = c(1, 1.1), frame="n",
cex=0.6, col = "darkgreen")
```

#Analizamos la evolución correlacionada de ambos rasgos a partir de los archivos sin el cálculo de varianzas

```
RegresionP50_elevacion <- lm(ContrasteVP50~ContrasteVelevacion)
```

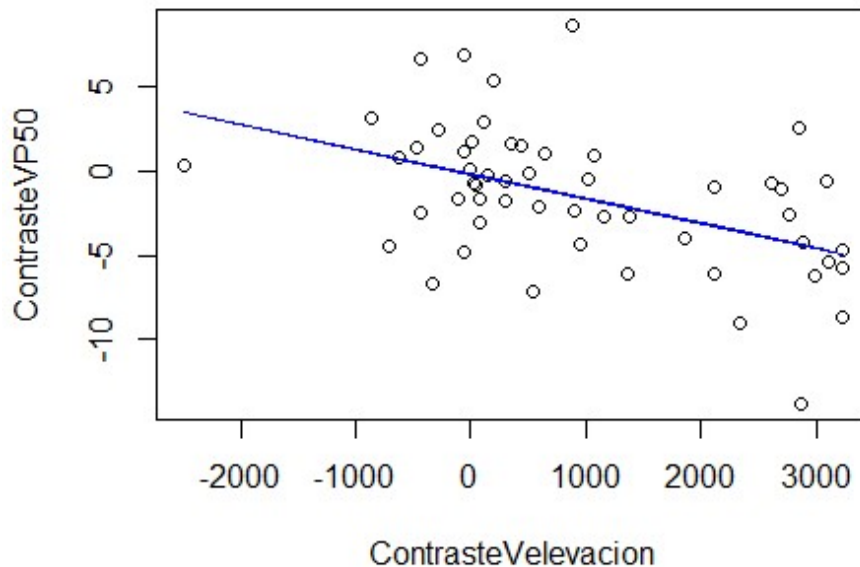
#Visualizamos los parámetros de la regresión

```
summary.lm(RegresionP50_elevacion)

##
## Call:
## lm(formula = ContrasteVP50 ~ ContrasteVelevacion)
##
## Residuals:
##      Min       1Q   Median       3Q      Max
## -9.4792 -1.6509 -0.0061  2.1798 10.1324
##
## Coefficients:
##              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
## (Intercept)    -0.17539     0.60601  -0.289  0.773392
## ContrasteVelevacion -0.00146     0.00037  -3.947  0.000235 ***
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
##
## Residual standard error: 3.671 on 53 degrees of freedom
## Multiple R-squared:  0.2271, Adjusted R-squared:  0.2126
## F-statistic: 15.58 on 1 and 53 DF, p-value: 0.0002347
```

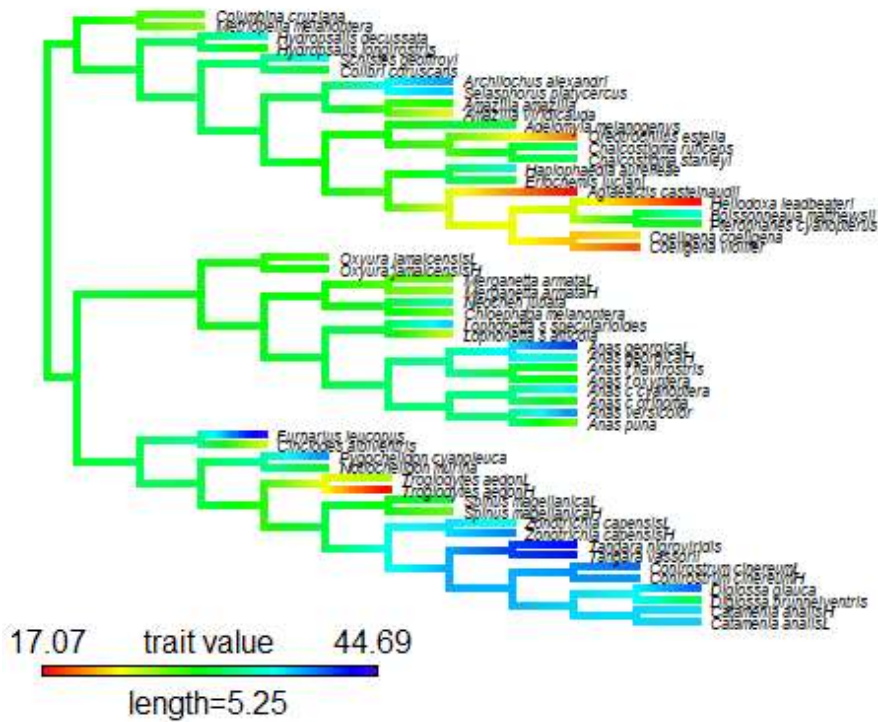
```
#visualizamos la relación entre los contrastes y agregamos una línea de
tendencia a la regresión
plot(ContrasteVP50~ContrasteVelevacion, main = "Relación entre contrastes
de P50 de HbA y de elevación")
lines(ContrasteVelevacion, fitted(RegresionP50_elevacion), col="blue")
```

Relación entre contrastes de P50 de HbA y de elevación

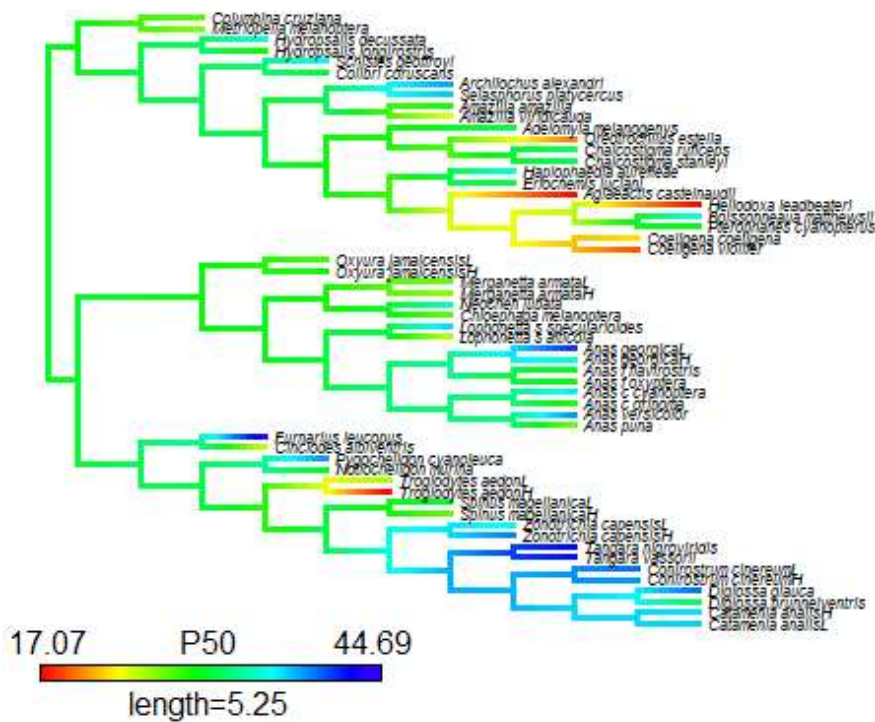


```
#Veamos ahora cómo se distribuyen los caracteres sobre la filogenia
#primero definimos el nombre de los datos
P50_2<-setNames(P50_2[,1],rownames(P50_2))
elevacion_2<-setNames(elevacion_2[,1],rownames(elevacion_2))

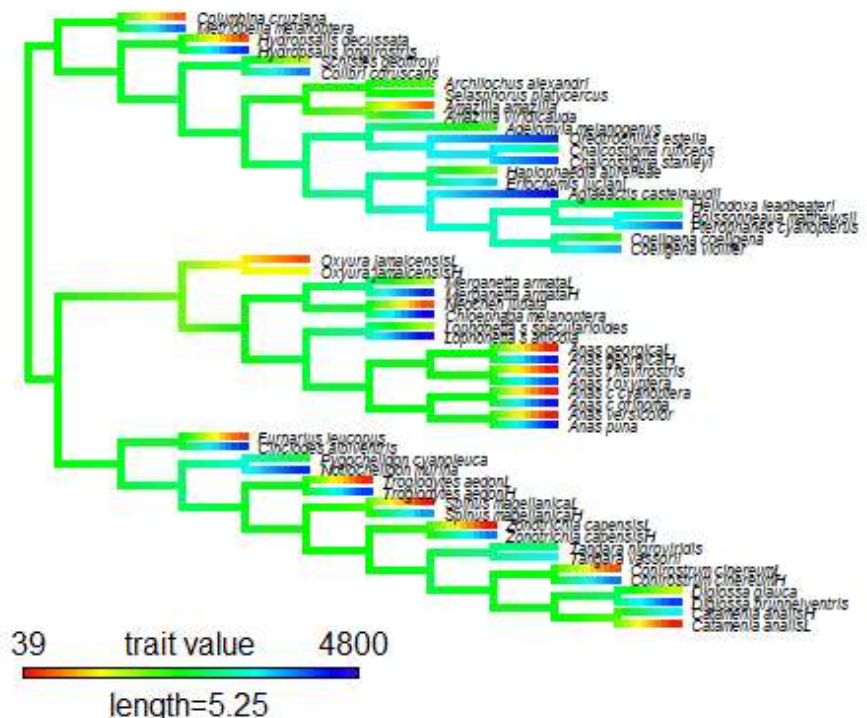
#y luego obtenemos su distribución sobre la filogenia propuesta
#para el valor de P50
Dist_P50<-contMap(treeR,P50_2,fsize=c(0.5,1),outline=FALSE)
```



#modicamos la Leyenda del gráfico
`plot(Dist_P50, fsize=c(0.5,1), outline=FALSE, lwd=c(3,7), leg.txt="P50")`



```
#para las altitudes máximas registradas para cada taxón
Dist_elevacion<-contMap(treeR,elevacion_2,fsize=c(0.5,1),outline=FALSE)
```



```
#nuevame, modicamos la leyenda del gráfico
plot(Dist_elevacion,fsize=c(0.5,1),outline=FALSE,lwd=c(3,7),leg.txt="Elevacion")
```

