



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA
SISTEMÁTICA

LA ESTRUCTURA FLORAL EN LA DIVERSIFICACIÓN DE LAS
EUDICOTILEDÓNEAS PENTÁMERAS (PENTAPETALAE, EUDICOTYLEDONEAE)

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BENÍTEZ VILLASEÑOR ADRIANA

TUTORA: Dra. Susana Aurora Magallón Puebla. Instituto de Biología. UNAM

COMITÉ TUTOR: Dr. Gerardo Adolfo Salazar Chávez. Instituto de Biología. UNAM
Dra. Sonia Vázquez Santana. Facultad de Ciencias. UNAM

MÉXICO, D.F. DICIEMBRE, 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión del Subcomité por Campo de Conocimiento de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 12 de octubre de 2015, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna **BENÍTEZ VILLASEÑOR ADRIANA** con número de cuenta **514012544** con la tesis titulada "**LA ESTRUCTURA FLORAL EN LA DIVERSIFICACIÓN DE LAS EUDICOTILEDÓNEAS PENTÁMERAS (PENTAPETALAE, EUDICOTYLEDONEAE)**", realizada bajo la dirección de la **DRA. SUSANA AURORA MAGALLÓN PUEBLA**:

Presidente: DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN
Vocal: DR. ALFONSO OCTAVIO DELGADO SALINAS
Secretario: DR. GERARDO ADOLFO SALAZAR CHÁVEZ
Suplente: DRA. ALEJANDRA VASCO GUTIÉRREZ
Suplente: DRA. SONIA VÁZQUEZ SANTANA

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 18 de noviembre de 2015.

M. del Coro Arizmendi

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

A CONACYT por la beca otorgada para estudios de maestría. No. de Registro: 294492.

Al programa de apoyos PAEP.

Al Instituto de Biología, UNAM.

Al Missouri Botanical Garden por permitir la revisión de ejemplares de herbario y de la colección viva.

A los miembros del comité tutorial, Dra. Sonia Vázquez y Dra. Gerardo A. Salazar, por enriquecer este proyecto con sus comentarios y sugerencias.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A la Dra. Susana, fuente de inspiración y confianza. Por su guía, apoyo y dedicación durante estos dos años. Gracias por permitirme ser parte de su maravilloso grupo de trabajo.

A los miembros del jurado, Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán, Dr. Alfonso Octavio Delgado Salinas, Dr. Gerardo Adolfo Salazar Chávez, Dra. Alejandra Vasco Gutiérrez y Dra. Sonia Vázquez Santana por sus comentarios, tiempo y correcciones al escrito.

Al Biol. Pedro Tenorio, por su ayuda en la colecta de ejemplares.

Al Dr. Alfonso Delgado, gracias por estar invariablemente dispuesto a compartir su conocimiento y ayudarme siempre.

A mis padres y hermano, gracias por siempre apoyarme en cada una de mis decisiones. Los quiero.

A Ricardo Hernández, por su interés y apoyo, por el cariño y la compañía.

A los miembros del laboratorio B-123, en especial a Luna Sánchez y Rebeca Hernández, por las asesorías con los métodos y análisis de esta tesis; también por las pláticas y tardes divertidas.

Al Dr. Antonio Lazcano y Dr. Arturo Becerra por su amabilidad, amistad y apoyo constante.

Al Laboratorio de Origen de la Vida de la Facultad de Ciencias, gracias por dejarme realizar las pruebas para los análisis, por su amistad sincera y por hacerme sentir parte de ustedes.

A los amigos que pude hacer durante este periodo en el Instituto de Biología, Julieta Álvarez, Ana Gabriela Martínez, Itzi Fragoso, Patricia Rivera, Carolina Granados, Andrés Arguelles, entre muchos otros, ustedes hicieron este periodo más divertido.

A mis amigos de siempre, que sin importar la lejanía están al pendiente de mí.

Itaca

Si vas a emprender el viaje hacia Itaca
pide que tu camino sea largo,
rico en experiencia, en conocimiento.

A Lestrigones y a Cíclopes,
o al airado Poseidón nunca temas,
no hallarás tales seres en tu ruta
si alto es tu pensamiento y limpia
la emoción de tu espíritu y tu cuerpo.

A Lestrigones ni a Cíclopes,
ni al fiero Poseidón hallarás nunca,
si no los llevas dentro de tu alma,
si no es tu alma quien ante ti los pone.

Pide que tu camino sea largo.
Que numerosas sean las mañanas de verano
en que con placer, felizmente
arribes a bahías nunca vistas;
detente en los emporios de Fenicia
y adquiere hermosas mercancías,
madreperlas y coral, y ámbar y ébano,
cuanto puedas invierte en voluptuosos y delicados perfumes;
visita muchas ciudades de Egipto
y con avidez aprende de sus sabios.

Ten siempre a Itaca en la memoria.
Llegar allí es tu meta.
Más no apresures el viaje.
Mejor que se extienda largos años;
y en tu vejez arribes a la isla
con cuanto hayas ganado en el camino,
sin esperar que Itaca te enriquezca,
Itaca te regaló un hermoso viaje.
Sin ella el camino no hubieras emprendido.
Más ninguna otra cosa puede darte.
Aunque pobre la encuentres, no te engañará Ítaca.
Rico en saber y vida, como has vuelto,
comprendes ya qué significan las Itacas.
(Constantino Kavafis, 1863-1933, *Poesías completas*, XXXII)

ÍNDICE

I. RESUMEN -----	1
II. ABSTRACT -----	3
III. INTRODUCCIÓN -----	5
IV. HIPÓTESIS -----	13
V. OBJETIVOS -----	14
VI. MATERIAL Y MÉTODOS -----	14
VII. RESULTADOS -----	27
VIII. DISCUSIÓN -----	39
IX. CONCLUSIONES -----	43
X. LITERATURA CITADA -----	46
XI. ANEXO -----	51

I. RESUMEN

Las plantas con flor (Angiospermae) muestran una gran diversidad de variaciones y configuraciones en su estructura floral. La estabilización en la estructura floral permite una elaboración arquitectónica más compleja, relacionada con la especialización de los síndromes reproductivos y asociaciones con polinizadores. El clado de eudicotiledóneas (Eudicotyledoneae) comprende cerca del 70% de especies de angiospermas. Este grupo consiste en un conjunto de linajes pequeños, tempranamente divergentes, y un grupo monofilético con gran riqueza de especies, Pentapetalae, el cual contiene la mayoría de las especies del grupo.

El plan estructural floral común dentro de Pentapetalae se caracteriza por un patrón merístico pentámero (a veces tetrámero) en el perianto y androceo; además de presentar un perianto con órganos claramente diferenciados en cáliz y corola. En comparación, los grupos hermanos sucesivos de Pentapetalae tienen flores estructuralmente variables que carecen de un patrón merístico fijo, y presentan poca o ninguna diferenciación entre los verticilos del perianto. Sin embargo, no está del todo claro dónde exactamente, dentro del árbol filogenético de eudicotiledóneas, evolucionó el patrón floral de Pentapetalae, o si representa un atributo homólogo dentro del clado. De igual forma se desconoce si los elementos que componen el patrón floral en Pentapetalae evolucionaron simultáneamente o sucesivamente, en una o en diversas ramas, ni si existe una correlación entre los atributos.

Por ello, en este estudio se investigó la distribución del perianto diferenciado a través de Eudicotyledoneae, y se evaluó si este atributo se relaciona con un incremento en la tasa de diversificación en el grupo. Se documentó la distribución del perianto diferenciado y el patrón merístico pentámero o tetrámero en una muestra de 638 especies (de las 200,489 especies de eudicotiledóneas), las cuales representan 299 familias de eudicotiledóneas de un total de 308. Como hipótesis filogenética se hizo uso de un árbol de angiospermas calibrado con un alto número de fósiles, cuyas especies fueron investigadas en el estudio desarrollado en esta tesis. Los análisis se realizaron siguiendo una estrategia de ejemplares.

Los datos sobre los atributos florales se obtuvieron por medio de observaciones de material fresco y de herbario, así como de información publicada y de recursos

electrónicos. Se realizó una reconstrucción de estados ancestrales por medio de máxima verosimilitud. Subsecuentemente, se evaluó si los caracteres perianto diferenciado y patrón merístico pentámero influían en las tasas de especiación y de extinción utilizando el modelo de BISSE. Los resultados muestran el número y la posición filogenética de los cambios en ambos caracteres; e indican que las tasas de especiación y extinción no son afectadas por los caracteres evaluados en este estudio. Para complementar estos resultados se realizó un análisis de correlación entre la presencia de un perianto diferenciado y un patrón merístico pentámero o tetrámero. El análisis mostró que la evolución de ambos caracteres es independiente. De manera importante, los resultados sugieren que, si bien los diferentes elementos que componen el plan floral de las eudicotiledóneas actúan conjuntamente para constituir estructuras integradas estables, su evolución no fue simultánea, sino que posiblemente, evolucionaron secuencialmente ya sea a lo largo de una rama evolutiva, o en diferentes ramas del árbol filogenético, para subsecuentemente integrarse constituyendo una estructura compleja, con un alto potencial funcional. Estos resultados proporcionan un marco para una mejor evaluación de la evolución floral en Eudicotyledoneae, en particular, las correlaciones entre los diferentes caracteres estructurales.

II. ABSTRACT

Flowering plants (Angiospermae) show a wide range of variations and configurations in floral structure. The stabilization of floral structure allows a more complex architectural elaboration, which can lead to the specialization of reproductive syndromes and associations with pollinators. The eudicot clade (Eudicotyledoneae) comprises about 70% of angiosperm species. This group consists of a set of species-poor early-divergent lineages, and an extremely species-rich monophyletic group, Pentapetalae, which contains most of the species in the group.

The usual floral structure plan within Pentapetalae is characterized by a constant meristic pattern, which is a pentamerous (sometimes tetramerous) perianth and androecium; and a two-whorled perianth clearly differentiated into calyx and corolla. In comparison, the early-diverging eudicot lineages encompass a wide variety of floral structural configurations, including a diversity of phyllotactic and meristic patterns, in which perianth organs are mostly undifferentiated. However, it is unclear where exactly did the Pentapetalae floral pattern evolve within the eudicot phylogenetic tree, or whether it represents a homologous attribute within the clade. Another question is whether the individual elements of the Pentapetalae floristic pattern evolved simultaneously or successively into one or several phylogenetic branches, and if there is correlation among these traits.

To address some of these questions, we investigated the distribution of a perianth differentiated into calyx and corolla, and of the pentamerous (or tetramerous) meristic pattern across Eudicotyledoneae, and evaluated its association with an increased rate of diversification. Perianth differentiation and meristic pattern were documented across 638 species (of 200, 489 eudicot species) representing 299 eudicot families from a total of 308. The analyses were based on a time-calibrated phylogenetic tree that was dated with a large number of fossil-derived constraints, and where perianth differentiation and merosity were documented for terminal species, following an exemplar approach.

Data about floral structure, namely, perianth differentiation and merosity, were obtained by combining observations from fresh material, herbarium specimens, published information and electronic resources. Reconstructions of ancestral states were performed

implementing maximum likelihood framework. Subsequently, we assessed whether the presence of a differentiated perianth and of a pentamerous (or tetramerous) pattern are related to increased speciation and extinction rates using BISSE model. The results show the number and the phylogenetic position of changes in both characters. Rates of speciation and extinction are not influenced by the traits evaluated in this study. To complement these results, a correlation analysis between the presence of a differentiated perianth and a pentamerous (tetramerous) meristic pattern was performed. The results indicate that the evolution of both characters is independent. Importantly, they suggest that, whereas the different elements that constitute the eudicot floral plan interact to form integrated and stable structures, these elements did not evolve simultaneously. Rather, they possibly evolved sequentially, either along a single evolutionary branch, or in different branches of the phylogenetic tree, to subsequently become integrated to form a complex structure with high functional potential. These results provide a framework for further detailed evaluation of floral evolution across eudicots, in particular, correlations among different structural characters.

III. INTRODUCCION

Proceso de diversificación

El árbol de la vida presenta una distribución de la riqueza de especies desigual. Existen grupos de organismos que se caracterizan por contar con un número elevado de especies, en contraste con clados que presentan un número bajo de ellas (Rabosky et al. 2012; Silvestro et al. 2014). La riqueza de especies es resultado de la dinámica de especiación y extinción, es decir, las tasas de diversificación son resultado de la resta de las tasas de especiación menos las de extinción (Magallon y Sanderson 2001).

Diversos estudios han examinado aquellos grupos que presentan un número de especies extraordinario para entender los procesos que originan el incremento en el número de especies (Sanderson y Wojciechowski 1996; Richardson et al. 2001; Harmon et al. 2003; Silvestro et al. 2014). Se piensa que estos procesos de diversificación también han dado lugar a eventos de divergencia fenotípica (Revell 2010; Revell et al. 2012). Para poder estudiar los procesos que subyacen a la diversidad de especies de un determinado grupo, es necesario reconstruir su pasado evolutivo, ya sea utilizando información del registro fósil o métodos filogenéticos, y además contar con información de las especies actuales del grupo que deseemos estudiar (Stadler 2011).

Se ha sugerido que los grupos de organismos muestran una tendencia a tener tasas de especiación elevadas cuando se originan y posteriormente las tasas declinan con el paso del tiempo. Por tanto la variación en el número de especies entre clados está dada generalmente por la edad: a mayor edad mayor tiempo para acumular diversidad (Nee et al. 1992). Sin embargo, estudios recientes no han encontrado una relación clara entre la riqueza de especies y la edad de los clados (Rabosky et al. 2012). Aunque aún existen muchas dudas sobre los procesos que originan grupos con un elevado número de especies, se sabe que las tasas de diversificación no son constantes entre los clados, ni a través del tiempo, y que existen otros factores que pueden afectar las tasas, entre ellos, eventos geológicos, extinciones, oportunidades ecológicas, así como el desarrollo caracteres morfológicos que pueden afectar la supervivencia y el éxito reproductivo de un organismo (FitzJohn et al. 2009), llamados innovaciones clave.

Las innovaciones clave (e.g. simetría floral en angiospermas, espolones nectaríferos en *Aquilegia*, sistema de palanca estaminal en *Salvia*, metabolismo CAM en

Bromelioideae, entre otros) son caracteres morfológicos que afectan las tasas relativa de diversificación, ya que son responsables de aumentar las tasas de especiación y disminuir las tasas de extinción. Lo anterior se ha puesto a prueba haciendo comparaciones entre grupos hermanos para identificar clados y atributos que estén correlacionados con un cambio en las tasas de diversificación (Hodges y Arnold 1995; Drummond et al. 2012; Beaulieu et al. 2013; Silvestro et al. 2014).

Las eudicotiledóneas y la morfología floral

Las angiospermas (Angiospermae o Magnoliophyta) han sido un clado importante para el estudio de los procesos de diversificación, ya que es un grupo ampliamente diverso que incluye alrededor de 260,000 especies descritas (Judd et al. 2008). Según el registro fósil las plantas con flor aparecen durante el Cretácico Inferior (140 – 136 millones de años) radiando rápidamente y dominando distintos hábitats durante el Cretácico Superior (Friis et al. 2006), siendo las causas de esta radiación una incógnita que el mismo C. Darwin calificaba como “un abominable misterio” (Darwin y Seward 1903). Dentro de las características principales del grupo se encuentran: presencia de doble fecundación con formación de endospermo, óvulos producidos dentro de un carpelo, área específica para la germinación del polen, y gametofitos reducidos (Judd et al. 2008). La monófila de Angiospermae se sustenta tanto con datos morfológicos como moleculares (Soltis et al. 2003, 2005; Stevens 2012; Ruhfel et al. 2014; Wickett et al. 2014).

Las especies de angiospermas se agrupan en diferentes clados (Figura 1), siendo uno de los principales el clado de eudicotiledóneas (Eudicotyledoneae), el cual comprende aproximadamente el 73.0% de las especies de angiospermas (ca. 202,000 especies) y se caracteriza por la presencia de granos de polen tricolpados o variantes de esta condición (Stevens 2012). Existen diversos estudios donde se han tratado de estimar las edades de los principales grupos de eudicotiledóneas (e.g. Anderson et al. 2005; Leebens-Mack et al. 2005; Smith et al. 2010). Uno de los estudios más recientes (Magallón et al. 2015) estimó las edades para los clados de angiospermas; las edades calculadas para el grupo de eudicotiledóneas fueron entre 133 y 129.7 millones de años.

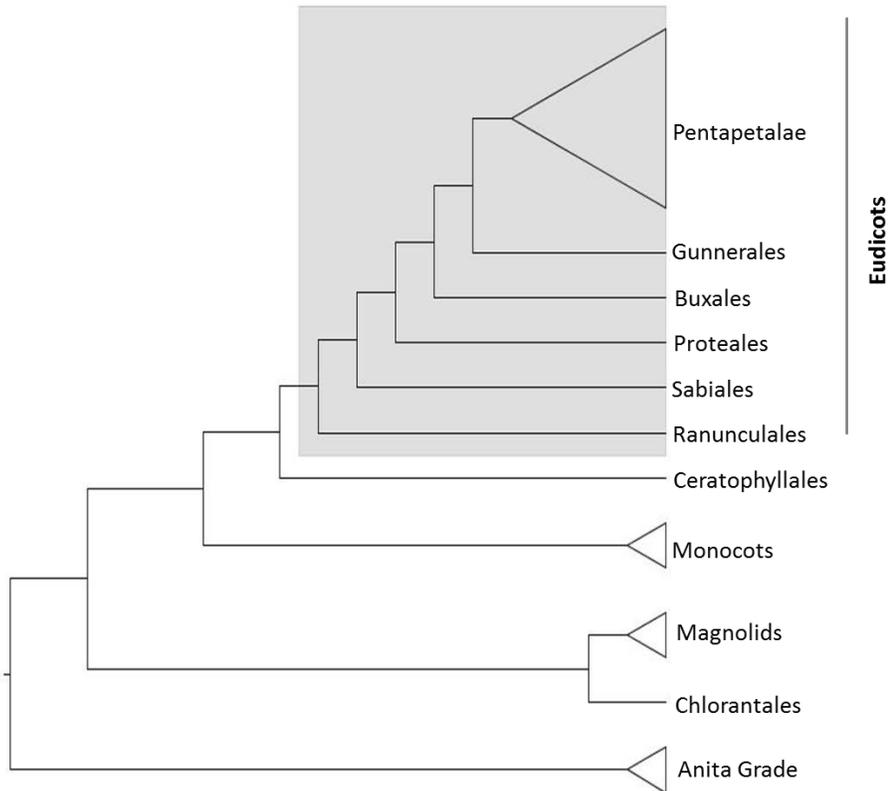


Figura 1. Esquema que muestra las relaciones filogenéticas de los principales clados de angiospermas.

Dentro de Eudicotyledoneae se ha detectado consistentemente un grupo monofilético mayor, que incluye a los clados Dilleniaceae, Caryophyllales, Santales, Berberidopsidales, Asteridae, Saxifragales, Vitales y Rosidae (Doyle y Donoghue 1986; Hoot et al. 1999; Qiu et al. 1999; Soltis et al. 1999), que conjuntamente forman el clado designado como **Pentapetalae** que se caracteriza por la presencia de un patrón merístico pentámero en las flores (Cantino et al. 2007; Figura 2). Pentapetalae incluye al 70.7% (ca. 196,000 especies) y se estima que aparecieron hace 120.9 millones de años (Magallón et al. 2015).

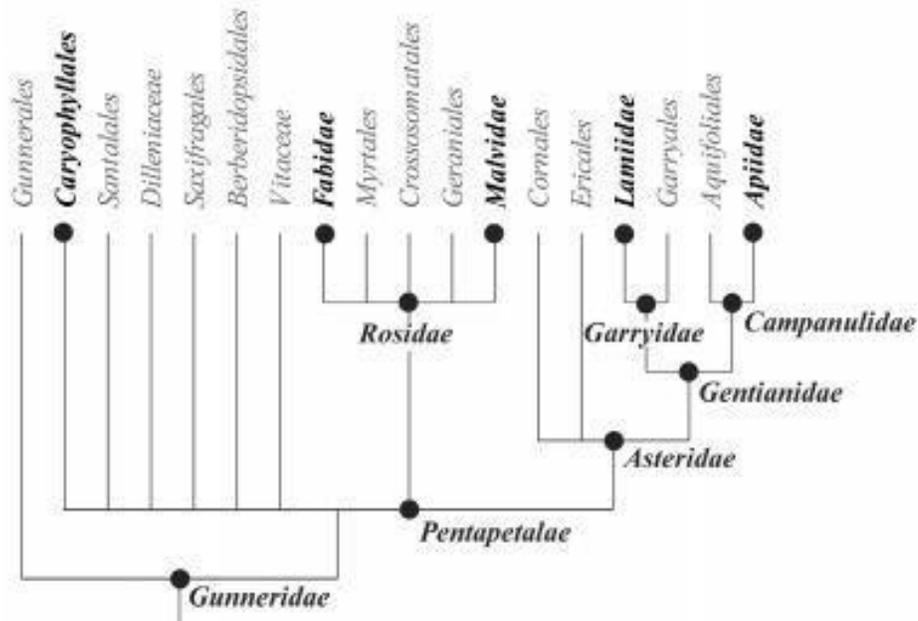


Figura 2. Árbol filogenético basado en datos morfológicos y moleculares donde se muestran los principales grupos de Eudicotyledoneae. Modificado de Cantino et al., 2007.

Las flores de los linajes tempranamente divergentes de Eudicotyledoneae son estructuralmente variables, usualmente con filotaxia verticilada, aunque algunas tienen filotaxia espiralada; con un patrón merístico básico dímero, trímero o no fijo, y con poca o nula diferenciación entre los órganos del perianto. En contraste, el plan estructural floral común dentro de Pentapetalae se caracteriza por un patrón merístico pentámero (a veces tetrámero) del perianto y del androceo. Además, en Pentapetalae el perianto se encuentra diferenciado claramente en un verticilo externo que constituye el **cáliz**, cuyas unidades (sépalos) son generalmente poco conspicuos, y en uno interno, la **corola**, que usualmente está formada por órganos llamativos. De manera importante, cabe mencionar que existe una alternancia radial entre los órganos de los verticilos florales (Figura 3).

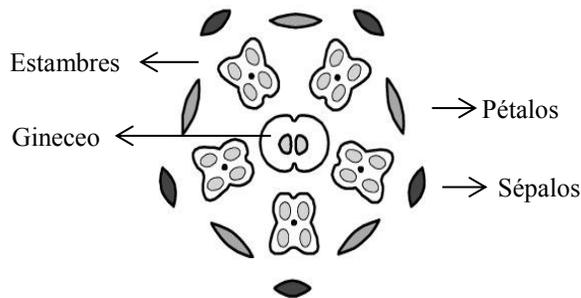


Figura 3. Esquema del plan estructural floral de Pentapetalae. El perianto y el androceo son pentámeros. El perianto está diferenciado en un verticilo externo (cáliz) en el que los sépalos usualmente son pequeños y poco llamativos, y un verticilo interno (la corola) con pétalos usualmente coloridos y llamativos. Los órganos de cada verticilo floral del perianto alternan radialmente.

De manera general, las flores están compuestas comúnmente por verticilos de órganos estériles que rodean a los órganos reproductivos, constituyendo al perianto (o perigonio cuando no hay una diferenciación entre los órganos de los verticilos). Varias características definen al verticilo externo como cáliz, entre ellas, la aparición temprana en el desarrollo floral, su función principal es la protección de los órganos internos de la flor aunque puede tener otras funciones en el fruto, consta de órganos usualmente poco conspicuos, base amplia y presencia de tres haces vasculares. La corola se distingue por tener un desarrollo tardío en la flor, órganos de apariencia llamativa con colores brillantes, base reducida y la presencia de un sólo haz vascular, entre otros (Ronse De Craene 2008; Figura 4).



Figura 4. Diversidad floral en Eudicotyledoneae. A) *Ranunculus acris* (Ranunculaceae); B) *Glaucidium palmatum* (Ranunculaceae); C) *Grevillea robusta* (Proteaceae); D) *Lobelia angulata* (Campanulaceae); E) *Pachysandra procumbens* (Buxaceae); F) *Clarkia xantiana* (Onagraceae); G) *Couroupita guianensis* (Lecythidaceae); H) *Passiflora biflora* (Passifloraceae); I) *Rhododendron hippophaeoides* (Ericaceae); J) *Alnus viridis* (Betulaceae); K) *Scrophularia californica* (Scrophulariaceae); L) *Malpighia emarginata* (Malpighiaceae).

Las discusiones acerca del origen y evolución del perianto diferenciado en las angiospermas han sido amplias, sin embargo la aparición de dicho atributo no se ha establecido claramente debido a que linajes tempranamente divergentes de angiospermas presentan una aparente diferenciación entre pétalos y sépalos. Ejemplo de lo anterior son las familias Magnoliaceae, Annonaceae y Winteraceae, también existen familias de angiospermas (Amborellaceae, Calycanthaceae, Illiciaceae y Lauraceae) que presentan una diferenciación progresiva, es decir, los tépalos externos presentan características sepaloideas y los internos petaloideas (Irish 2009; Ronse De Craene y Brockington 2013). En contraste, dentro de Eudicotyledoneae el perianto diferenciado es un carácter constante, especialmente en Pentapetalae, aunque, no se tiene claro cuándo y cómo surgió. Tradicionalmente se piensa que tanto sépalos como pétalos se han perdido y adquirido en distintos momentos, ya sea a partir de brácteas o estambres, lo cual ha puesto en duda la homología de estas estructuras a lo largo del árbol de eudicotiledóneas (Hileman y Irish 2009; Ronse De Craene y Brockington 2013). Por ello, diversos grupos de investigación se han enfocado en analizar cómo han evolucionado los genes que regulan la expresión y diferenciación de los verticilos florales.

Por ejemplo, el primer modelo propuesto para identificar los genes que participan en la diferenciación de los órganos florales fue el modelo ABC (Coen y Meyerowitz 1991). Aunque el modelo anterior ha sido complementado con más información, se ha identificado que los genes de la familia B MADS-box son los responsables de regular la expresión de los pétalos y estambres en eudicotiledóneas. Dicha familia génica sufrió un evento de duplicación, el cual coincide con la aparición de las angiospermas hace aproximadamente 260 millones de años, dando origen a APETALA3 (AP3) y PISTILLATA (PI) (Kramer et al. 1998; Hernández-Hernández et al. 2007). La aparición de los genes AP3 y PI probablemente ocasionó la aparición de estructuras petaloideas en los linajes tempranamente divergentes de angiospermas; sin embargo, los dominios de expresión de los genes MADS-box presentan una falta de definición (canalización) en su expresión durante el desarrollo floral y una homodimerización obligada, lo cual posiblemente derivó en la poca distinción entre los órganos del perianto en contraste con Pentapetalae (Ronse De Craene y Brockington 2013).

Asimismo, en Pentapetalae se dio un segundo evento de duplicación en AP3: euAP3 y TM6 hace aproximadamente 92.3 millones de años, coincidiendo con la aparición de una heterodimerización obligada para la expresión de los genes MADS-box (Lamb y Irish 2003; Hernández-Hernández et al. 2007; Litt y Kramer 2010). A partir de la información anterior podemos pensar que probablemente la duplicación de AP3 influyó la aparición de un perianto diferenciado en cáliz y corola, así como la canalización para el establecimiento de un patrón merístico constante (Figura5; Kramer et al. 1998; Lamb y Irish 2003).

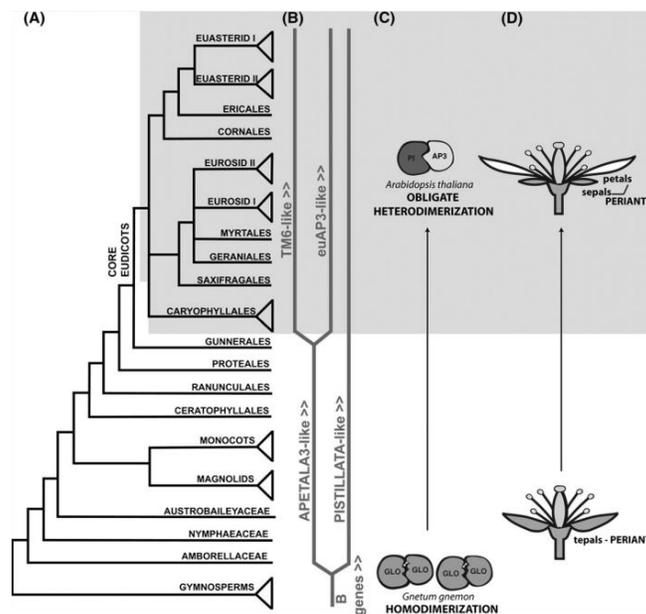


Figura 5. La segunda duplicación de genes de la familia B y la heterodimerización de proteínas MADS-box están ligados a la diferenciación del cáliz y corola en Pentapetalae (Tomado de Hernández-Hernández et al., 2007).

Trabajos previos han intentado comprender cómo se originó la pentamería y la diferenciación del perianto dentro de Eudicotyledoneae, específicamente en el Pentapetalae. Se han realizado reconstrucciones de estados ancestrales bajo un criterio de parsimonia para evaluar la labilidad de los caracteres florales anteriormente mencionados dentro de eudicotiledóneas, encontrando que para Pentapetalae + Gunnerales la pentamería es ancestral, surgiendo al menos tres veces en los linajes tempranamente divergentes del clado de Eudicotyledoneae (Soltis et al. 2003). En contraste, otros estudios han estimado que el

estado de carácter en la rama que da origen al núcleo de eudicotiledóneas como dímero o equívoco (Zanis et al. 2003; Specht y Bartlett 2009).

A pesar de que la mayoría de los linajes dentro de Pentapetalae presentan el patrón florístico que incluye un perianto diferenciado en cáliz y corola, y un patrón merístico pentámero (o tetrámero) existen algunas excepciones, que van desde un aumento en el número de partes en el perianto (más de cinco órganos; e.g. *Cuttsia viburnea* (Roussaceae) *Anopterus macleayanus* (Escalloniaceae) etcétera) y la reducción de órganos del cáliz o corola (e.g. *Polygala pauciflora* (Polygalaceae)), entre otros (Endress 2010). Por lo anterior es importante analizar la aparición del patrón merístico pentámero en sépalos y pétalos en Pentapetalae, ya que no se tiene claro si dicho atributo apareció una o más veces en la evolución del grupo, en cuál(es) ramas del árbol filogenético se originó, y si los elementos de este plan floral aparecieron simultáneamente o sucesivamente.

En este trabajo, se evaluó la distribución y evolución del perianto diferenciado en cáliz y corola, así como el patrón merístico pentámero (o tetrámero) entre las eudicotiledóneas. Para ello se utilizó una hipótesis filogenética calibrada temporalmente, donde se documentó la distribución de ambos atributos entre los principales linajes de eudicotiledóneas. Mediante una reconstrucción de estados ancestrales, se estimó el número de veces y posición filogenética de los orígenes de cada atributo, así como el estado ancestral (plesiomórfico) en los principales linajes de Pentapetalae. Evaluamos la relación de cada atributo con tasas elevadas de diversificación filogenética, de su tasa de cambio en los diferentes grupos de eudicotiledóneas, y la posible correlación entre ambos atributos. Con base en estos resultados, se obtuvo información relevante sobre aspectos críticos de la evolución del patrón estructural floral de Pentapetalae.

IV. HIPÓTESIS

Con base en los estudios previos, se espera que las estimaciones de estados ancestrales confirmen que el último ancestro común de las eudicotiledóneas presentaba un perianto indiferenciado y un patrón merístico dímero o trímero. Así mismo se espera que la evolución del patrón merístico pentámero esté correlacionada con la presencia de un perianto diferenciado en cáliz y corola. De existir dicha correlación entre sépalos y pétalos, se supondría un origen simultáneo de ambos atributos en el nodo corona de Pentapetalae.

V. OBJETIVOS

Objetivo general

· Investigar el origen filogenético del perianto compuesto por cáliz y corola en Pentapetalae, y su correlación con la presencia de un patrón merístico pentámero o tetrámero.

Objetivos particulares

· Obtener información sobre la distribución del perianto compuesto por cáliz y corola característico del plan floral de Pentapetalae, en una muestra representativa de las principales familias de Eudicotyledoneae.

· Mediante una estimación de estados ancestrales, evaluar el número de orígenes del perianto pentámero, compuesto por cáliz y corola, e identificar las ramas del árbol filogenético de Pentapetalae en las que ocurrieron, haciendo mayor énfasis en diez nodos de gran importancia evolutiva: Eudicotyledoneae, Pentapetalae, Asteridae, núcleo de Asteridae, Campanulidae, Lamiidae, Super-Rosidae, Rosidae, Malvidae y Fabidae.

· Examinar si existe una correlación entre la presencia del perianto compuesto por cáliz y corola, y un patrón merístico pentámero o tetrámero dentro de Pentapetalae.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

Hipótesis filogenética y especies seleccionadas

Para poder llevar a cabo los objetivos planteados en este estudio fue necesario elegir un árbol filogenético que tuviera un amplio muestreo de las principales familias de angiospermas y que sus ramas representaran unidades de tiempo absoluto. Por lo anterior, se decidió utilizar el árbol filogenético de angiospermas publicado, que contiene 798 especies, de las cuales 792 son angiospermas (incluidas 638 especies de eudicotiledóneas) y 6 especies como grupos externos (Magallón et al. 2015). Dicho árbol filogenético se obtuvo por medio de datos moleculares utilizando los genes plastídicos *atpB*, *rbcL*, *matK*, y los

marcadores nucleares 18S y 26S, donde las relaciones filogenéticas fueron estimadas con un análisis de máxima verosimilitud y el árbol resultante fue fechado con un alto número de calibraciones fósiles, siguiendo el método de reloj molecular relajado log normal implementado en BEAST (Drummond et al. 2006).

Debido a que este proyecto está enfocado al análisis de la presencia del perianto diferenciado, formado por cáliz y corola, dentro del grupo de Pentapetalae, el árbol filogenético original fue podado. Se mantuvieron sólo 638 especies (anexo I) incluidas en Eudicotyledoneae para poder reconstruir el estado del carácter en el nodo troncal de Pentapetalae. La poda del árbol se realizó con ayuda de los programas Mesquite (Maddison y Maddison, 2008) y FigTree v1.4.2 (Rambaut 2006), lo cual permitió mantener las relaciones filogenéticas y los valores asociados a los largos de ramas.

Aunque el árbol filogenético resultante contiene gran cantidad de especies pertenecientes al grupo de eudicotiledóneas pentámeras, es necesario enfatizar que nuestro muestreo es incompleto y sólo constituye una fracción de la gran diversidad que presenta el grupo. Por lo anterior, las especies fueron consideradas como miembros terminales, y no como representantes del clado (familia, etc.) al que pertenecen; es decir, se implementó una estrategia de ejemplares en la cual los estados codificados fueron los observados en ese ejemplar en particular y no representan necesariamente todas las condiciones presentes en el linaje más incluyente.

Codificación de datos morfológicos

Para esta tesis se definieron seis caracteres morfológicos de la flor. A pesar de que la información de dichos caracteres ya se encuentra codificada y capturada en trabajos previos o en bases de datos, el objetivo de volver a codificar los caracteres es contar con un respaldo de la información de primera fuente, actualizada y específica para las especies del árbol filogenético que utilizamos. Además, es necesario que la información se encuentre organizada y en un formato adecuado para realizar las estimaciones de estados ancestrales. Los caracteres investigados son los siguientes:

- (1) **Patrón merístico del androceo:** El carácter hace referencia al patrón merístico constante en el androceo. Los estados del carácter son: 0) no fijo o indefinido,

cuando el patrón merístico es variable; 1) dímero; 2) trímero; 3) tetrámero; 4) pentámero; y 5) un sólo estambre.

- (2) **Diferenciación del perianto:** Definimos al perianto diferenciado, compuesto por cáliz y corola, como uno consistente estrictamente con todos los siguientes atributos: (a) dos verticilos; (b) un número fijo de órganos en cada uno de los verticilos (aunque puede ser un número diferente entre los dos verticilos); (c) clara diferenciación morfológica entre los órganos de los dos verticilos (aunque puede haber diferenciación morfológica entre los órganos de un mismo verticilo). Por tanto se definieron los siguientes estados del carácter: 0) perianto ausente; 1) perigonio sepalino; 2) perigonio petalino y 3) perianto diferenciado (cáliz y corola).
- (3) **Número de partes en el cáliz:** Se codificó el número fijo de órganos en el cáliz. Con ello se pudo determinar si existe diferencia en el número de órganos entre cáliz y corola. Cuando el perianto no se encuentra presente o es indiferenciado, el carácter fue considerado como no aplicable. Los estados del carácter designados son: 0) dos; 1) tres; 2) cuatro; y 3) cinco.
- (4) **Número de partes en la corola:** Se codificó el número fijo de órganos en la corola. Cuando el perianto no se encuentra presente o es indiferenciado el carácter fue considerado como no aplicable. Los estados del carácter designados son: 0) dos; 1) tres; 2) cuatro; y 3) cinco.
- (5) **Grado de fusión entre sépalos:** Se refiere al grado de fusión entre los órganos del cáliz, i.e., connación entre los sépalos. Se establecieron cuatro estados de carácter: 0) sépalos libres; 1) fusión basal, más o menos unido en la base; 2) fusión cercana a la mitad de los sépalos; 3) fusión extensa, fusión de los sépalos cerca del apice formando un tubo bien definido.
- (6) **Grado de fusión entre pétalos:** Se refiere al grado de fusión entre los órganos de la corola, i.e., connación entre los pétalos. Se establecieron cuatro estados de carácter cualitativamente diferentes: 0) pétalos libres; 1) fusión basal; 2) fusión cercana a la mitad de los pétalos; 3) fusión extensa, fusión de los sépalos cerca del ápice formando un tubo bien definido.

Tabla 1. Caracteres codificados y sus correspondientes estados del carácter.

Carácter	Estado del carácter					
Patrón merístico del androceo	0.- no fijo/indefinido	1.- dímero	2.- trímero	3.- tetrámero	4.- pentámero	5.- un sólo estambre
Diferenciación del perianto	0.- perianto ausente	1.- perigonio sepalino	2.- perigonio petalino	3.- diferenciado (cáliz y corola)		
Número de partes en el cáliz	0.- dos	1.- tres	2.- cuatro	3.- cinco		
Número de partes en la corola	0.- dos	1.- tres	2.- cuatro	3.-cinco		
Grado de fusión entre sépalos	0.- libres	1.- fusión basal	2.- fusión cercana a la mitad	3.- fusionado cerca del ápice		
Grado de fusión entre pétalos	0.- libres	1.- fusión basal	2.- fusión cercana a la mitad	3.- fusionado cerca del ápice		

Obtención de datos morfológicos

Debido a la gran variedad de formas que presenta el perianto, fue necesario realizar una colecta de 16 especies (anexo I) de plantas que se encuentran en la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel y Jardín Botánico, con la finalidad de disectar flores frescas y observarlas al microscopio. Lo anterior se hizo con el propósito de familiarizarse con los diferentes atributos florales y sus formas.

Una vez que se adquirió experiencia básica en la observación de los diferentes verticilos florales, se inició la búsqueda de información para las especies que fueron incluidas en el muestreo (anexo II). Dicha información fue obtenida a partir de observaciones y descripciones existentes que se encuentran recopiladas en distintos medios electrónicos o impresos. Dentro de los recursos utilizados se encuentran, por ejemplo, ilustraciones científicas disponibles en la red (ej. www.plantillustrations.org), textos científicos (diversos artículos de revistas indexadas), libros (e.g. Kubitzki 2007; Judd et al. 2008; Mabberley 2008); imágenes de ejemplares de herbario en línea (proyecto Jstor Plant Science; Plants.jstor.org 2015), material de herbario examinado directamente (Missouri Botanical Garden), material fresco (colecta de flores en la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, Jardín Botánico y Missouri Botanical Garden) y fotografías de acceso público en la red, además de otros recursos disponibles (ej. eFloras (efloras.org), Biodiversity Heritage Library (biodiversitylibrary.org), Jepson Herbarium

(ucjeps.berkeley.edu/IJM.html), Botanicus (botanicus.org), Tropicos (tropicos.org), entre otros). Toda la información se basa en observaciones morfológicas de flores completamente desarrolladas y en estado funcional. Fue de vital importancia hacer uso de artículos científicos recientes, específicamente aquellos que tratan temas de desarrollo floral (e.g. Ronse De Craene y Wanntorp 2006; Wanntorp y Ronse De Craene 2007), ya que contienen aportaciones novedosas sobre la diferenciación de los verticilos, la identidad de los órganos florales y la pérdida o reducción de algún verticilo floral, lo cual, en muchas ocasiones fue de gran ayuda para la asignación de algún estado del carácter.

Dentro de los principales problemas que se presentaron al recolectar datos sobre la morfología del perianto estuvieron: la falta de información de especies que se encuentran en África, Asia y Australia, falta de información de algún carácter en específico; por ejemplo, para algunas de las especies sólo se pudo acceder a ilustraciones científicas del siglo XVIII, que dejan poco claro el número de partes en los diferentes verticilos, o sólo con un dibujo de la vista superior de la flor, por lo que la información sobre la presencia o número de partes del cáliz era incierta. De igual forma la toma de decisiones respecto al grado de fusión que presentan las partes que conforman el cáliz y la corola fue difícil, ya sea por falta de una imagen clara o por la variación dentro de la especie.

También se encontraron casos en que las especies contaban con cierta labilidad en el número de partes de los verticilos, en su mayoría debido a que eran especies cultivadas (e.g. *Mammea americana* (Calophyllaceae), *Jasminum simplicifolium* (Oleaceae), etcétera). Por ello, cuando frecuentemente había individuos con mayor o menor número de partes, el carácter se codificó como polimorfo. La misma solución se aplicó cuando se presentaban diferentes formas relacionadas al sexo de la flor, por ejemplo, algunas flores masculinas no presentaban perianto pero flores femeninas sí (e.g. *Daphniphyllum macropodum* (Daphniphyllaceae)). Cuando había falta de información o información poco clara, se revisó material de herbario, material vivo y material bibliográfico de la colección del Missouri Botanical Garden, St. Louis Missouri, EUA. Una vez completada la matriz de datos morfológicos, se recopiló información sobre los caracteres morfológicos propuestos para el rango taxonómico de familia a la que cada especie pertenecía. Se comparó la información de la familia *versus* la especie con el objetivo de conocer si las especies del

árbol representaban casos raros dentro de sus respectivas familias. Dicha información se obtuvo de los recursos mencionados anteriormente.

Reconstrucción de estados ancestrales

Para cumplir con los objetivos establecidos fue necesario realizar una estimación de estados ancestrales en el árbol de eudicotiledóneas. Sólo se evaluaron tres de los seis caracteres codificados, debido a que eran los caracteres con mayor información y a los objetivos del proyecto. Los caracteres estimados fueron: diferenciación del perianto (Figura 5); número de órganos en el cáliz, y número de órganos en la corola (Figura 6). Los tres caracteres para los cuales se recopiló información y fueron codificados (i.e., caracteres 2, 3 y 4; Tabla 1) fueron transformados en caracteres binarios: presencia/ausencia de perianto diferenciado, presencia/ausencia de cáliz pentámero (o tetrámero), y presencia/ausencia de corola pentámera o tetrámera (Tabla 2).

La codificación de los caracteres se modificó para hacer más sencillo el modelo que utilizan los diferentes métodos para estimar los estados ancestrales, debido a que entre más estados de carácter se incluyan en el análisis, la estimación de estados ancestrales se vuelve más complicada, pues al tener un número limitado de datos para estimar un mayor número de estados ancestrales, los tiempos de cómputo aumentan considerablemente, y los estimados asociados a cada parámetro considerado tienen intervalos de error asociados cada vez más amplios (FitzJohn 2012).

Tabla 2. Caracteres establecidos para realizar la estimación de estados ancestrales. Se muestran los criterios de la codificación ausente y presente.

	Ausente	Presente
Perianto diferenciado	* Perianto ausente	
	* Perianto no diferenciado	* Dos verticilos diferenciados en cáliz y corola
	* Sólo un verticilo presente	
Cáliz pentámero (tetrámero)	* Cáliz ausente	* Patrón merístico claramente pentámero o tetrámero
	* Patrón merístico distinto	
Corola pentámera (tetrámera)	* Corola ausente	
	* Patrón merístico distinto	* Patrón merístico claramente pentámero o tetrámero



Figura 6. Ejemplos de codificación del perianto. Perianto diferenciado presente (fila superior) A) *Campanula trachelium* (Campanulaceae); B) *Ranunculus acris* (Ranunculaceae); C) *Crossosoma bigelovii* (Crossosomataceae). Perianto diferenciado ausente (fila inferior) D) *Opuntia microdasys* (Cactaceae); E) *Fuchsia procumbens* (Onagraceae); F) *Akebia quinata* (Lardizabalaceae).

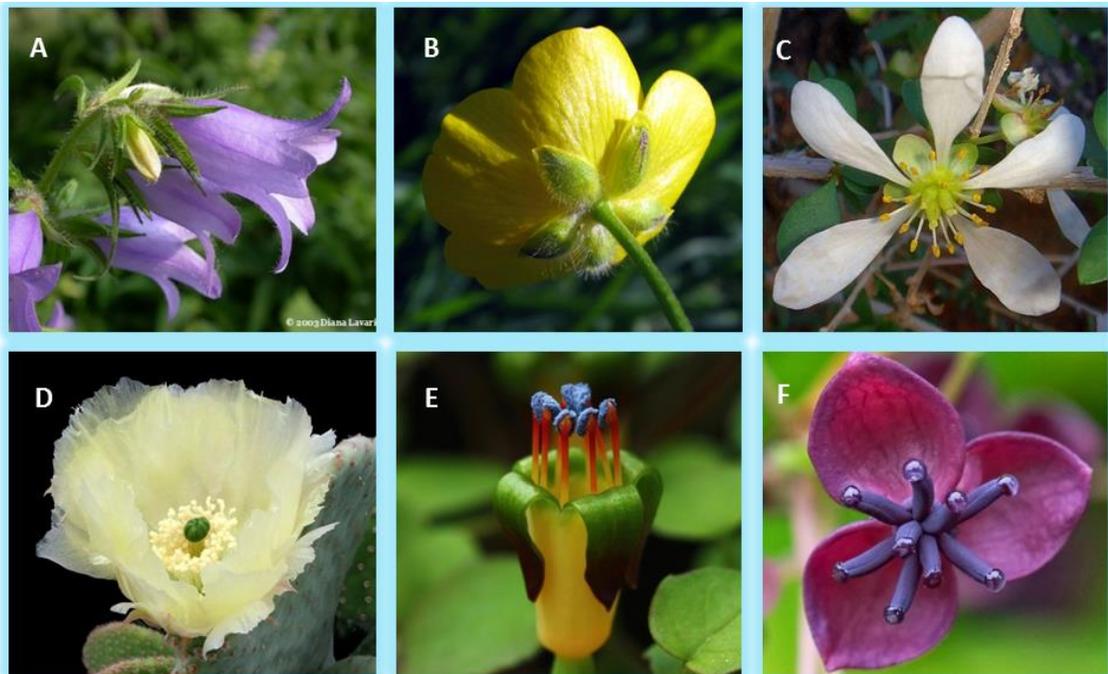


Figura 7. Ejemplos de codificación del cáliz y la corola pentámero (o tetrámero). Cáliz o corola pentámera presente (fila superior). A) *Guaiacum sanctum* (Zygophyllaceae); B) *Oenothera parviflora* (Onagraceae); C) *Atropa belladonna* (Solanaceae). Cáliz o corola pentámera ausente (fila inferior). D) *Portulaca grandiflora* (Portulacaceae); E) *Dicentra eximia* (Papaveraceae); F) *Actinidia chinensis* (Actinidiaceae).

Antes de estimar los nodos ancestrales se calculó la señal filogenética de los caracteres, la cual es definida como la falta de independencia estadística entre los caracteres a pesar de sus relaciones filogenéticas (Revell et al. 2008). Es decir, con esta prueba se infiere si las especies se parecen entre sí por azar o debido a sus relaciones filogenéticas (historia evolutiva; Blomberg y Garland 2002). Por ello se estimó la K de Blomberg (Blomberg et al. 2003) y lambda de Pagel (Pagel 1999), donde K indica la cantidad de señal filogenética que está presente en los datos comparada con la cantidad esperada para la topología dada (tomando en cuenta el largo de las ramas), bajo un modelo de movimiento browniano de evolución de caracteres (*random walk*). Valores cercanos a uno indican la dependencia de los datos y por tanto una alta señal filogenética (Blomberg y Garland 2002; Revell et al. 2008).

Por su parte, el parámetro lambda (Pagel 1999) mide la independencia de los caracteres; los valores de lambda adquieren valores de cero (revela que la correlación filogenética puede no existir, especies independientes) a uno (los datos siguen un modelo browniano y por tanto se ajustan al modelo dependientes; Pagel, 1999; Revell, 2010). Una vez que se obtuvo una matriz binaria (presencia/ausencia) para cada uno de los tres caracteres, los valores de K y lambda fueron calculados para los nodos ancestrales del árbol fechado de eudicotiledóneas utilizando el programa BayesTraits V.1 (Pagel 1999).

BayesTraits es un programa que permite analizar la evolución de caracteres continuos o discretos. Para lograrlo puede hacer uso de una muestra de árboles derivados de un análisis bayesiano, o de un árbol particular. Para llevar a cabo los análisis con los tres caracteres, sólo se utilizó el árbol de eudicotiledóneas fechado mencionado anteriormente. El programa estima los estados de carácter en los nodos internos del árbol dado, calculando los valores de verosimilitud asociados a cada estado del carácter según la matriz de transición del modelo (Figura 8). Esta matriz de transición representa la probabilidad del paso de un estado de carácter a otro; además describe todos los estados posibles que el modelo puede adoptar en cada paso de la cadena markoviana.

<i>State</i>	0,0	0,1	1,0	1,1
0,0	--	q ₁₂	q ₁₃	--
0,1	q ₂₁	--	--	q ₂₄
1,0	q ₃₁	--	--	q ₃₄
1,1	--	q ₄₂	q ₄₃	--

Figura 8. Matriz de transición del programa BayesTraits para el análisis de caracteres binarios. El modelo permite todas las posibilidades de cambio.

La estimación de los estados de carácter en los nodos se hace a través del comando *Addnode*, en el cual se deben especificar todos los miembros terminales que incluye el nodo que se desea estimar. Lo anterior debido a que el programa no estima el estado ancestral de todos los nodos internos del árbol dado, sino sólo aquellos indicados por el usuario. En este trabajo investigamos los estados ancestrales de diez nodos que corresponden a los nodos corona de clados mayores dentro de eudicotiledóneas ya que son entidades evolutivas importantes: 1) Eudicotyledoneae, 2) Pentapetalae, 3) Asteridae, 4) núcleo de Asteridae, 5) Campanulidae, 6) Lamiidae, 7) Super-Rosidae, 8) Rosidae, 9) Malvidae y 10) Fabidae (Figura 9).

Debido a que BayesTraits no toma en cuenta la influencia de los caracteres sobre la tasa de diversificación, se decidió utilizar el modelo BiSSE (Binary State Speciation and Extinction Model; Maddison et al. 2007) que se encuentra en el paquete Diversitree de R (FitzJohn 2012), para evaluar si existe una relación entre los caracteres evaluados con cambios en la tasas de diversificación. Dicho modelo es capaz de estimar los estados de carácter en los nodos ancestrales y también permite evaluar la influencia de un carácter binario sobre la tasa de especiación (λ) y de extinción (μ), además de las tasas de cambio de estado del carácter a través del tiempo (q₀₁ y q₁₀; Maddison et al. 2007). Debido a que el árbol empleado sólo representa un fracción de la riqueza de especies total de Eudicotyledoneae, utilizamos la instrucción *sampling.f* para corregir la representación incompleta de la riqueza total del grupo, lo cual es necesario para estimar correctamente las tasas de especiación y extinción (FitzJohn et al. 2009).

BiSSE crea una función de verosimilitud que puede ser usada con máxima verosimilitud o inferencia bayesiana. En este trabajo, los análisis de BiSSE fueron realizados bajo la aproximación de máxima verosimilitud. Se decidió lo anterior debido a que se hicieron varios intentos por correr un análisis con un enfoque bayesiano, pero dada la cantidad de datos y el tamaño del árbol se requería del uso de un servidor con varios procesadores (a causa del intenso trabajo de computo), el cual no se tenía disponible.

Se estimaron varios modelos con el modelo implementado en BiSSE: a) estimando las 6 tasas (modelo completo), tasa de especiación para el estado 0 y 1 (λ_0 y λ_1), tasa de extinción para 0 y 1 (μ_0 y μ_1), y la probabilidad de cambio del estado 0 a 1 es diferente que la probabilidad de cambio de 1 a 0 ; b) igualando las tasas de especiación ($\lambda_0 = \lambda_1$), lo cual supone que la presencia de uno u otro estado de carácter tiene el mismo efecto en la especiación; y c) igualando las tasas de transición ($q_{01} = q_{10}$), lo cual supone que la probabilidad de cambiar del estado 0 a 1 es la misma que el cambio del estado 1 a 0 . Posteriormente, se compararon las verosimilitudes de los tres modelos y se escogió el modelo completo que calcula todas las tasas de transición, con base en los valores de verosimilitud y de AIC (resultados no mostrados).

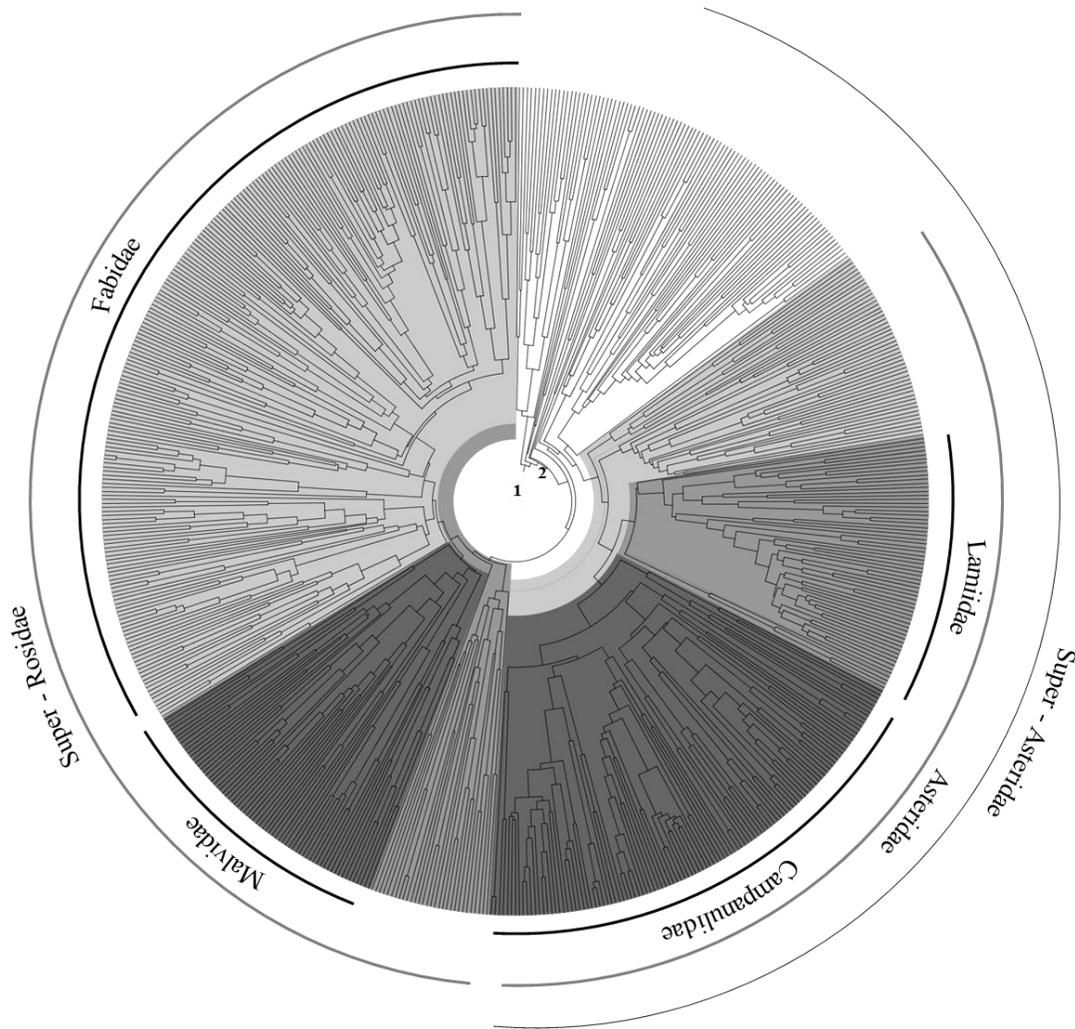


Figura 9. Árbol filogenético que se utilizó en los análisis, el cual cuenta con 638 especies de Eudicotyledoneae. En gris (sombras y líneas) se señalan los principales clados que lo componen. 1= eudicotiledóneas; 2= Pentapetalae.

A pesar de que el modelo de BiSSE ha sido ampliamente aplicado por diversos grupos de trabajo durante los últimos años, existen diversas críticas y preocupaciones de varios investigadores sobre los métodos SSE (State Speciation and Extinction Models; incluido BiSSE), siendo los más relevantes:

(1) **Los modelos SSE pueden incurrir en altas proporciones de error tipo I**, ya que caracteres neutros o sin señal filogenética son asociados a las tasas de especiación con valores estadísticamente significativos. Se ha propuesto que esto sucede principalmente por

la forma del árbol o debido a caracteres neutros que evolucionan rápidamente (Rabosky y Goldberg 2014).

(2) **No se puede distinguir inequívocamente el atributo asociado con un cambio en la diversificación**, específicamente en casos en los que algún carácter fuera de consideración, pero que está altamente correlacionado con el carácter investigado, es el que está asociado con el cambio en la diversificación. Puesto que no conocemos la influencia real del carácter sobre los grupos, es importante tener presente cómo se encuentra distribuido el carácter a lo largo del árbol. Los modelos SSE no pueden identificar si existen caracteres ocultos que sean los que influyan en las tasas de especiación (Maddison y FitzJohn 2014). 3) **La proporción de taxones faltantes (i.e., no incluidos en el árbol filogenético) es muy grande**. Debido a que la mayoría de las filogenias son estimadas con una fracción de las especies de un clado, se considera que estas representan una muestra azarosa de las especies que conforman el linaje. Esta falta de especies en el árbol puede afectar la precisión y exactitud de los estimados de las tasas de especiación y de extinción, debido a que filogenias que incluyen sólo una fracción de las especies del clado tienden a tener ramas terminales más largas. En consecuencia la incertidumbre de los parámetros se incrementa conforme el muestreo se encuentre más incompleto (FitzJohn et al. 2009).

4) **Todos los métodos que estiman diversificación tienen problemas en el cálculo de las tasas de extinción**. Distintos métodos estiman las tasas de especiación y de extinción, siendo esta última problemática ya que las filogenias de taxa vivientes (proceso evolutivo realizado; Nee et al. 1994) carecen de elementos que indiquen la tasa de extinción inequívocamente, ya que una determinada combinación de topología y longitudes de rama puede derivar de muchas diferentes combinaciones de especiación y extinción, y procesos de diversificación a lo largo del tiempo. En cambio, el registro fósil, sí está suficientemente completo para un grupo, puede proporcionar información explícita sobre la tasa de extinción. Las tasas de extinción pueden calcularse con base en filogenias de especies actuales porque la forma del árbol se ve afectada por la tasa neta de diversificación (a través del tiempo) y por la razón entre las tasas de extinción y de especiación. Sin embargo, las tasas de extinción estimadas tienden a cero, este efecto se conoce como “pull of the present” y es el resultado de considerar las tasas de especiación y de extinción constantes

en el tiempo, lo cual no necesariamente es cierto (Nee et al. 1994; Stadler 2011; Rabosky y Goldberg 2014).

Empero, a pesar de los problemas que representa el usar este tipo de métodos, se decidió utilizar BiSSE, ya que representa el único método disponible hasta el momento para evaluar explícitamente la relación de un atributo con el cambio en las tasas de especiación y extinción. Sin embargo, interpretamos los resultados obtenidos con extrema cautela. Asimismo, según Davis et al. (2013) las diferentes tasas son calculadas eficientemente con árboles mayores a 500 especies, en este caso se utilizó un árbol con 638 especies.

Estimación de las tasas de evolución de caracteres

De igual manera, se utilizó el programa Bayesian Analysis of Macroevolutionary Mixtures (BAMM; Rabosky et al. 2014), cuyo principal enfoque se centra en modelar dinámicas complejas de especiación, extinción y evolución de caracteres, para estimar las tasas de evolución de los caracteres antes mencionados (Tabla 2). BAMM permite modelar las tasas de cambio del carácter seleccionado a través del tiempo y entre clados, detectando la parte del árbol filogenético donde se encuentra algún cambio en la dinámica de evolución de este carácter (régimen), en particular regiones del árbol filogenético donde hay cambios significativos en la tasa de cambio del carácter. Para lograr lo anterior, BAMM utiliza una cadena markoviana reversible (i.e., Reversible Jump Markov Chain Monte Carlo) que permite explorar diferentes modelos de diversificación o evolución de caracteres que involucran cambios en las tasas de evolución entre las ramas del árbol filogenético y a través del tiempo, para explicar la distribución de los caracteres en las puntas del árbol filogenético (Rabosky et al. 2014).

El programa BAMM está escrito en el lenguaje C++ y corre directamente en la terminal. Los análisis de evolución fenotípica requieren un árbol ultramétrico (e.g., fechado), un archivo que contenga los estados de carácter del carácter a evaluar en las terminales del árbol, y un archivo de control donde se especifican las características del análisis. Los análisis se corrieron por 2,000 millones de generaciones (el máximo permitido por el programa), muestreando la cadena cada 1, 000,000 generaciones y descartando el 50% de la muestra inicial como burn-in (descarte de una porción inicial de la muestra de una cadena de Markov). Los resultados de BAMM deben ser analizados con el programa

BAMMtools (Rabosky et al. 2014), implementado en R. Se revisaron los valores de tamaño de muestra efectivo, así como la convergencia de las cadenas a un estado estacionario graficando los resultados (Figura 13). Para los tres caracteres seleccionados se obtuvo la mejor configuración de la muestra.

Análisis de correlación de caracteres

El análisis de correlación de caracteres se efectuó con ayuda del programa Mesquite versión 3.04 (Maddison y Maddison 2015) el cual implementa el módulo Pagel94 que calcula la verosimilitud para una combinación entre el estado del carácter y el árbol dado. En dicho modelo se pone a prueba la evolución independiente de dos caracteres binarios comparando la verosimilitud de dos modelos. El paquete Pagel94 implementa un modelo donde las tasas de cambio en cada carácter son independientes del estado del otro carácter (4 parámetros) y un segundo modelo, donde las tasas de cambio son dependientes del estado del carácter (8 parámetros).

El módulo Pagel94 de Mesquite permite además obtener un valor estadístico de P por medio de simulaciones. Se evaluó la independencia de dos pares de caracteres: a) perianto diferenciado y perianto pentámero; y b) cáliz pentámero y corola pentámera. En cada caso se llevaron a cabo 100 simulaciones.

VII. RESULTADOS

Obtención de datos morfológicos.

Después de haber realizado una búsqueda exhaustiva de información sobre la morfología floral del perianto por medio de distintas fuentes, se obtuvo información para las 638 especies que incluía el muestreo (anexo II), por lo que la matriz morfológica no contiene datos faltantes. Dentro de las especies muestreadas, solamente 31 resultaron ser casos excepcionales de la familia a la que pertenecen, aunque en este estudio se siguió una aproximación de ejemplares donde las especies terminales no representan la familia a la que pertenecen.

Reconstrucción de estados ancestrales

Los análisis realizados con BayesTraits y BiSSE se resumen en las Tablas 1 y 2, en donde se muestran diez nodos, para cada carácter, que representan los estados ancestrales de los principales clados de eudicotiledóneas.

En cuanto a la diferenciación del perianto (Tabla 3), los resultados indican que aparentemente el perianto ya se encontraba diferenciado desde el origen de las eudicotiledóneas pero no podemos, con estos análisis, decir con certeza la rama exacta en la cual sucedió el cambio.

Nodo	Estado del carácter presente	
	BayesTraits	BiSSE
1. Eudicots	1	1
2. Pentapetalae	1	1
3. Asteridae	1	1
4. Núcleo de Asteridae	1	1
5. Campanulidae	1	1
6. Lamiidae	1	1
7. Super-Rosidae	1	1
8. Rosidae	1	1
9. Malvidae	1	1
10. Fabidae	1	1

Ambos análisis indican que el estado de carácter estimado en los nodos corona de Pentapetalae, Asteridae, Núcleo de Asteridae, Campanulidae, Lamiidae, Super-Rosidae, Rosidae, Malvidae y Fabidae, es la presencia de un perianto diferenciado. En la Figura 10 se muestran los estados ancestrales del perianto reconstruidos con BiSSE, en el cual se señalaron los nodos discutidos.

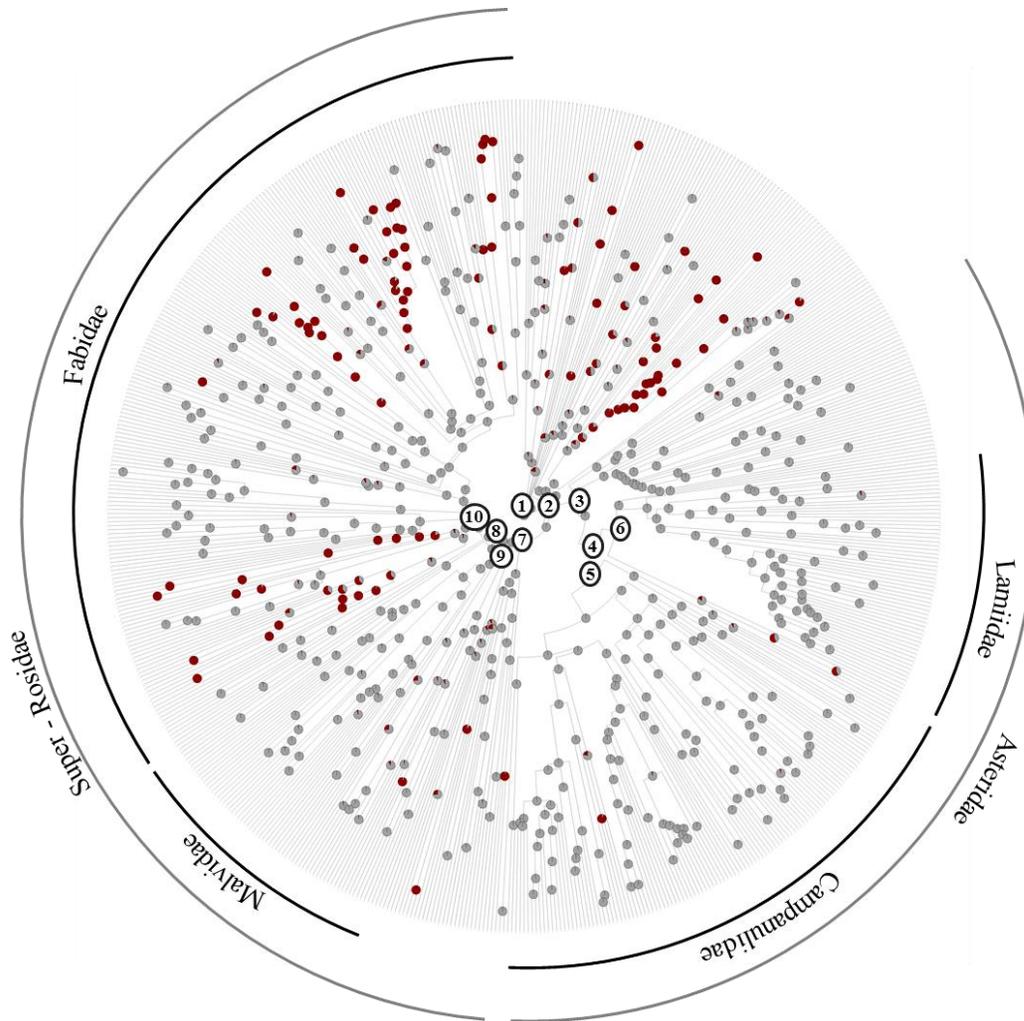


Figura 10. Reconstrucción de estados ancestrales obtenida con BiSSE para el carácter perianto diferenciado. Se encuentran señalados diez nodos que representan los principales clados de eudicotiledóneas. 1) Eudicotyledoneae, (2) Pentapetalae, (3) Asteridae, (4) núcleo de Asteridae (5) Campanulidae, (6) Lamiidae, (7) Super-Rosidae, (8) Rosidae, (9) Malvidae, (10) Fabidae. Rojo = ausente; Gris = presente.

Los resultados de la estimación de los estados del carácter cáliz pentámero o tetrámero en los nodos selectos se muestran en la Tabla 4. Para el nodo ancestral del clado de eudicotiledóneas ambos métodos, BayesTraits y BiSSE, estiman la ausencia de un cáliz pentámero o tetrámero. Sin embargo, para el nodo del clado Pentapetalae cada método arrojó un resultado diferente: BayesTraits estimó que el cáliz es ancestralmente pentámero o tetrámero, mientras que BiSSE estimó la condición alterna. Sin embargo, ambos métodos estimaron al cáliz pentámero (o tetrámero) como la condición ancestral en Asteridae,

núcleo de Asteridae, Campanulidae, Lamiidae, Super Rosidae, Rosidae, Malvidae y Fabidae.

Tabla 4. Reconstrucción de Estados Ancestrales del Cáliz pentámero/tetrámero

Nodo	Estado del carácter presente	
	BayesTraits	BiSSE
1.Eudicots	0	0
2.Pentapetalae	1	0
3.Asteridae	1	1
4.Núcleo de Asteridae	1	1
5.Campanulidae	1	1
6.Lamiidae	1	1
7.Super-Rosidae	1	1
8.Rosidae	1	1
9.Malvidae	1	1
10.Fabidae	1	1

La Figura 11 muestra la estimación de estados ancestrales obtenida con BiSSE, señalando la presencia o ausencia del cáliz pentámero (o tetrámero). La estimación del estado del carácter mostró resultados similares a los del cáliz. Tanto BayesTraits como BiSSE estimaron su ausencia en el nodo ancestral del clado de eudicotiledóneas. Sin embargo, para el nodo de Pentapetalae los resultados son contradictorios ya que BayesTraits estima la presencia de una corola pentámera (tetrámera), mientras que BiSSE reconstruye la ausencia del carácter (Tabla 5).

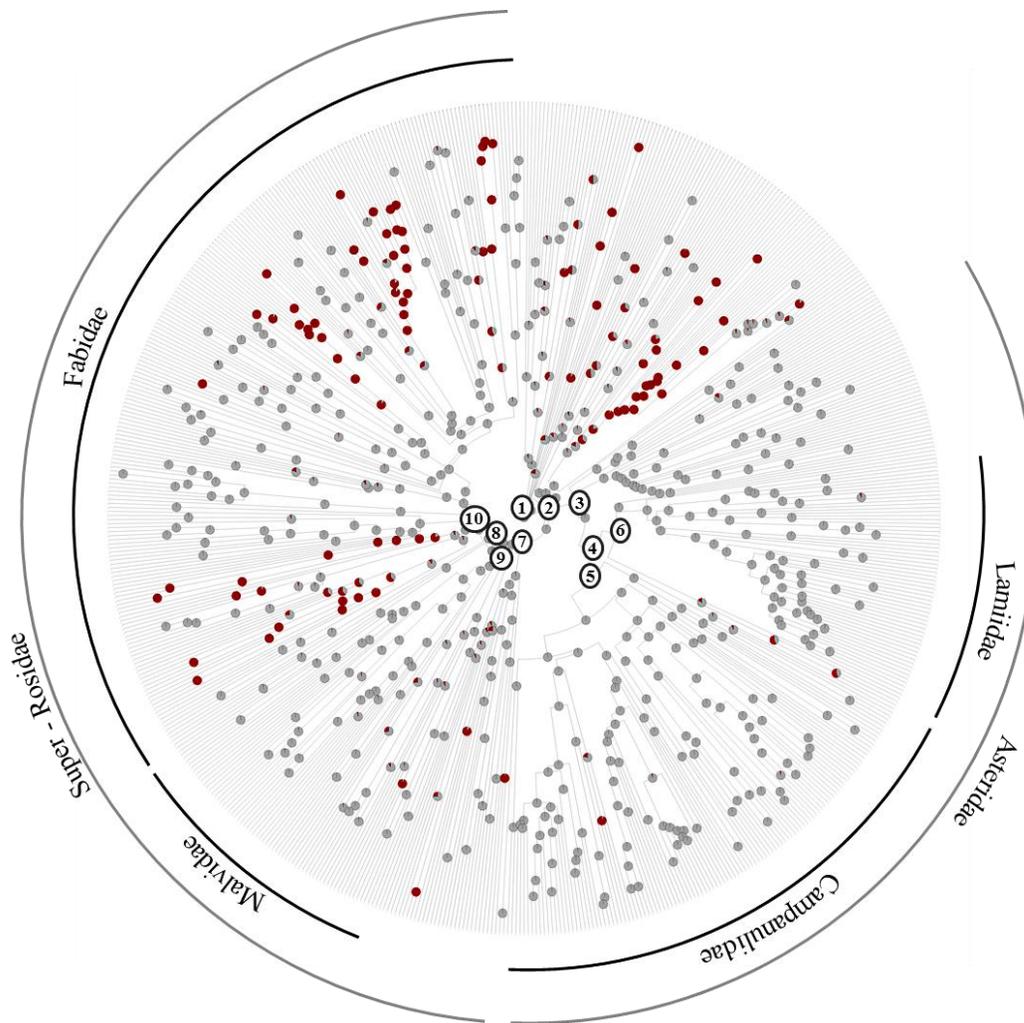


Figura 11. Reconstrucción del carácter cáliz pentámero o tetrámero obtenido con BiSSE. Se encuentran señalados diez nodos que representan los principales clados de eudicotiledóneas: 1) Eudicotyledoneae, (2) Pentapetalae, (3) Asteridae, (4) núcleo de Asteridae (5) Campanulidae, (6) Lamiidae, (7) Super-Rosidae, (8) Rosidae, (9) Malvidae, (10) Fabidae. Rojo = ausente; Gris = presente.

Tabla 5. Reconstrucción de Estados Ancestrales para Corola pentámera/tetrámera

Nodo	Estado del carácter presente	
	BayesTraits	BiSSE
1.Eudicots	0	0
2.Pentapetalae	1	0
3.Asteridae	1	1
4.Núcleo de Asteridae	1	1
5.Campanulidae	1	1
6.Lamiidae	1	1
7.Super-Rosidae	1	1
8.Rosidae	1	1
9.Malvidae	1	1
10.Fabidae	1	1

La estimación con ambos métodos para los nodos de los clados de Asteridae, núcleo de Asteridae, Campanulidae, Lamiidae, Super Rosidae, Rosidae, Malvidae y Fabidae fue la presencia de una corola pentámera (tetrámera). La Figura 12 muestra los estados de carácter de la corola pentámera (tetrámera), estimados en el árbol fechado con el método de BiSSE en los nodos selectos.

BiSSE también estima la influencia de un carácter sobre las tasas de especiación y extinción. La Tabla 6 muestra los resultados de los análisis hechos con BiSSE. Para los tres caracteres (perianto diferenciado, cáliz y corola pentámero/tetrámero) se observa que cuando el estado de carácter se encuentra presente, las tasas de especiación son ligeramente más altas que cuando el estado de carácter está ausente. Cabe resaltar que lo mismo ocurre con las tasas de extinción, que tienden a incrementarse cuando el carácter está presente. De manera general podemos observar que las tasas de especiación y extinción asociadas a todos los estados de carácter son similares, lo que ocasiona que las tasas de diversificación sean muy pequeñas, ya que: diversificación (d) = especiación (λ) - extinción (μ). También, los resultados indican que las tasas de cambio de carácter ausente y presente son iguales, con excepción del carácter perianto diferenciado, que muestra un sutil incremento cuando el carácter pasa de ausente a presente.

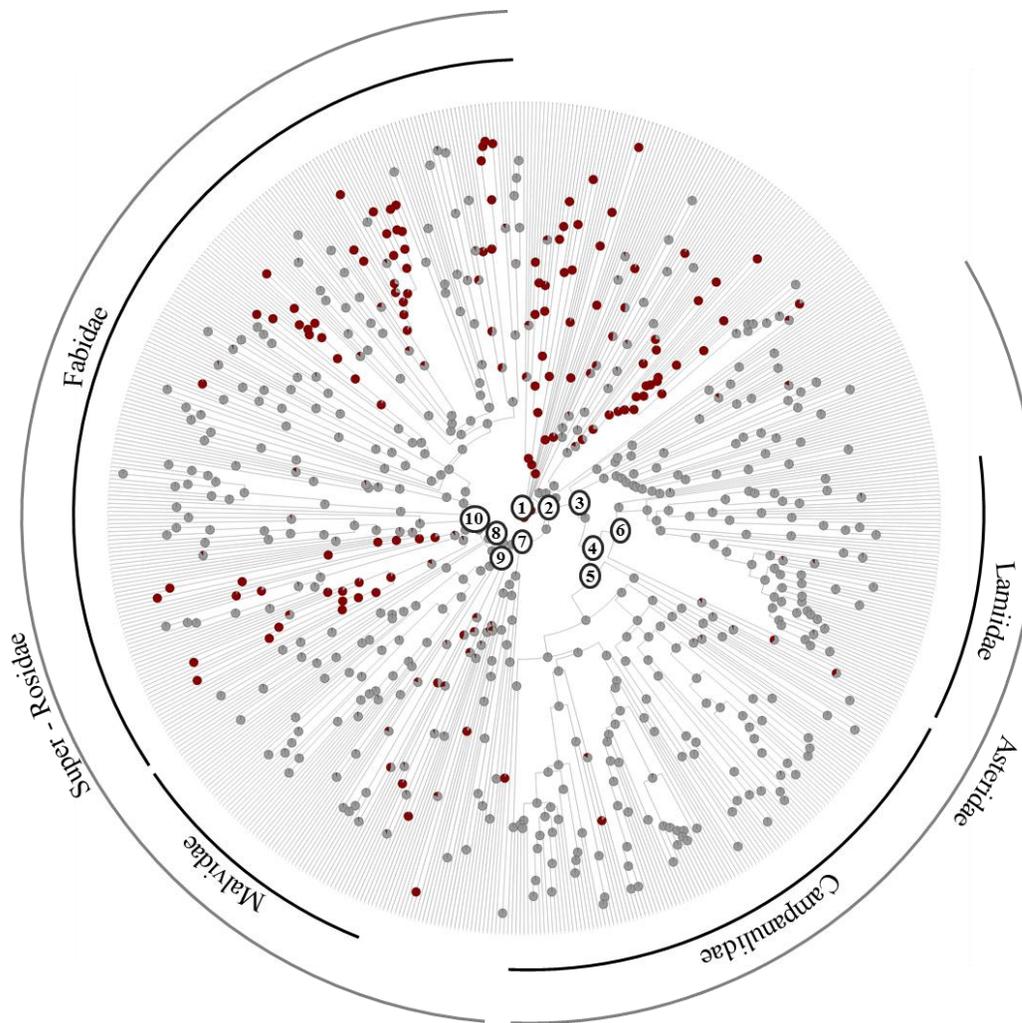


Figura 12. Estimación del carácter corola pentámera o tetrámera en nodos internos del árbol fechado, obtenida con BiSSE. Se encuentran señalados diez nodos que representan los principales clados de eudicotiledóneas. (1) eudicotiledóneas, (2) Pentapetales, (3) Asteridae, (4) núcleo de Asteridae (5) Campanulidae, (6) Lamiidae, (7) Super-Rosidae, (8) Rosidae, (9) Malvidae, (10) Fabidae. Rojo = ausente; Gris = presente.

Tabla 6. Valores estimados de las tasas de especiación, extinción, transición y diversificación obtenidas con BiSSE para los tres caracteres analizados.

	Tasa de especiación (λ)	Tasa de extinción (μ)	Tasa de cambio q01/10	Tasa de diversificación (δ)
perianto diferenciado				
Ausente	0.619	0.564	0.004	0.055
Presente	1.290	1.241	0.002	0.049
cáliz pentámero/tetrámero				
Ausente	0.818	0.769	0.003	0.049
Presente	1.209	1.158	0.003	0.051
corola pentámera/tetrámera				
Ausente	0.804	0.757	0.003	0.047
Presente	1.251	1.199	0.003	0.052

Estimación de las tasas de evolución de caracteres

Como resultado de los 2,000 millones de generaciones que se corrieron en BAMM para los tres caracteres, se obtuvo una muestra de 2,500 configuraciones de cambio del carácter evaluado entre las ramas del árbol y a lo largo del tiempo. A pesar del gran número de generaciones que se corrieron (el máximo que permite el programa) los valores de muestra efectiva fueron menores a 200, se prefieren valores mayores para asegurarse de que la muestra de la fase estacionaria de la cadena de Markov es representativa de su distribución. De igual forma, la evaluación de convergencia de las cadenas markovianas muestra que no alcanzaron un estado estacionario para ninguno de los tres caracteres (Figura 13). Con la información de las curvas se descartó un 50% de las muestras como burn-in, reteniéndose entonces sólo 1250 configuraciones.

La figura 14 muestra la tasa de evolución del perianto diferenciado en cáliz y corola. La configuración (i.e., combinación de número, posición filogenética y temporal del cambio en la tasa de evolución del carácter) que se muestra es la de mayor valor de probabilidad posterior de una muestra de 163 árboles dentro del intervalo de credibilidad del 95%. El número de cambios presentes en esta configuración es de 54. Los colores en las ramas representan la tasa instantánea de evolución del carácter, siendo las ramas de color rojo tasas altas de cambio y las de color azul, tasas bajas.

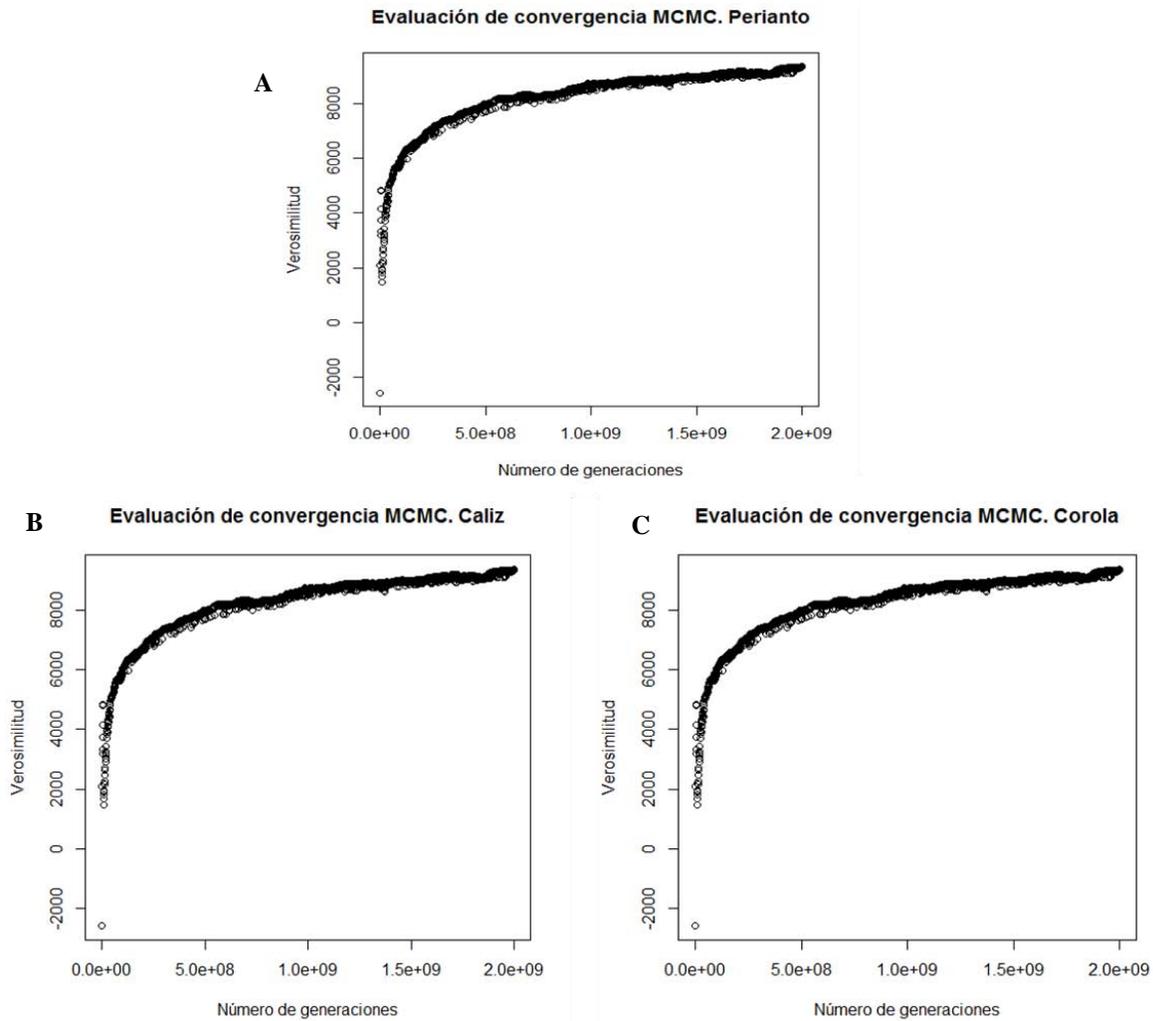


Figura 13. Evaluación de convergencia de cadenas markovianas en 2,000 millones de generaciones para (A) perianto diferenciado, (B) cáliz pentámero (o tetrámero) y (C) corola pentámera (tetrámera).

Como puede observarse en la figura 14 la mayoría de las ramas son de color azul, lo que indica que el carácter presenta tasas bajas de cambio, y por tanto es constante en el clado de eudicotiledóneas. Las zonas rojas indican que hay tasas altas de cambio de carácter, por lo cual existe pérdidas y ganancias del perianto diferenciado en cáliz y corola. Se puede apreciar que diversos grupos presentan ramas de un azul menos intenso, lo cual refleja ligeros incrementos en las tasas de cambio. Es importante destacar que Campanulidae aparentemente posee las tasas de cambio del carácter más constantes del árbol, pero sólo presenta cinco especies cuyas ramas muestran un incremento en las tasas: *Paracryphia alticola* (Paracryphiaceae), *Sphenostemon lobosporus* (Paracryphiaceae),

Hydrocotyle vulgaris (Araliaceae), *Anopterus macleayanus* (Escalloniaceae) y *Donatia fascicularis* (Stylidaceae).

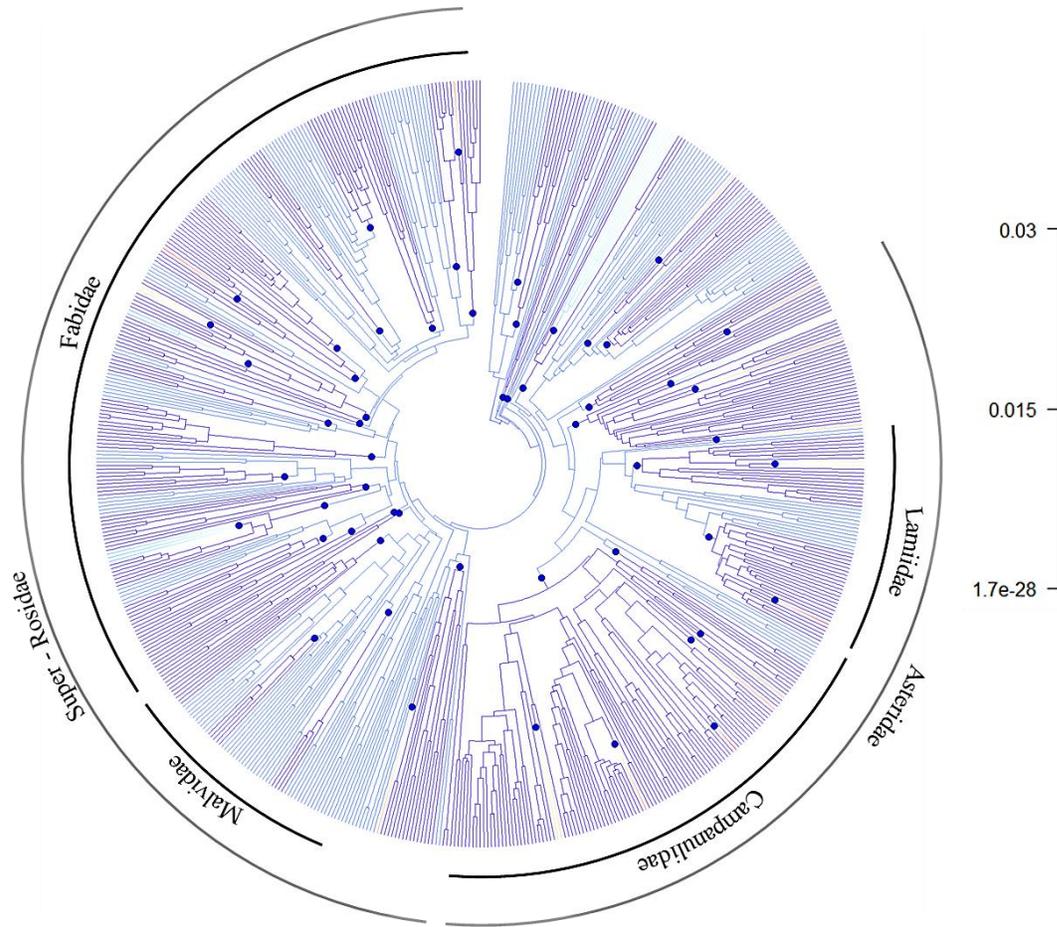


Figura 14. Tasa de evolución del perianto diferenciado en cáliz y corola. Configuración con mayor probabilidad posterior encontrada en el intervalo de credibilidad del 95% simulado por BMM. Los 54 puntos representan cambios significativos en la tasa de evolución del carácter. La escala a la derecha indica la tasa de evolución del carácter. En la configuración mostrada, la mayoría de las ramas son azules, indicando una estabilidad general del carácter.

Análisis de BMM para el carácter cáliz pentámero/tetrámero

El análisis de BMM para reconstruir la tasa de evolución del cáliz pentámero (o tetrámero) identificó un intervalo de credibilidad que contiene 179 configuraciones diferentes del número, posición filogenética y temporal de cambios en la tasa de evolución. La configuración con mayor probabilidad posterior (Figura 14) muestra 62 cambios de esta tasa instantánea de evolución. Al igual que en la figura anterior, el color de las ramas representa la tasa instantánea de evolución del carácter, por lo que tasas altas están

representadas con líneas de color rojo, mientras que los decrementos se muestran en azul. La mayoría de los grupos presentan tasas bajas de cambio, apareciendo ligeros incrementos en el orden Caryophyllales y en Malvidae principalmente. Sin embargo dichos incrementos en las tasas no son drásticos, por lo cual podemos pensar que el carácter es en general constante en las eudicotiledóneas. Algunos grupos presentan ligeros incrementos en las tasas de cambio (similares a 0.024), las cuales son: Morinaceae + Valerianaceae dentro del orden Dipsacales (punto verde, Figura 15); Acanthaceae + Lentibulariaceae + Byblidaceae, dentro de Lamiales (punto amarillo, Figura 15); y Bignoniaceae + Martyniaceae + Pedaliaceae, también dentro de Lamiales (punto naranja, Figura 15). Cabe aclarar que estos incrementos son muy bajos y en general no representan clados mayores.

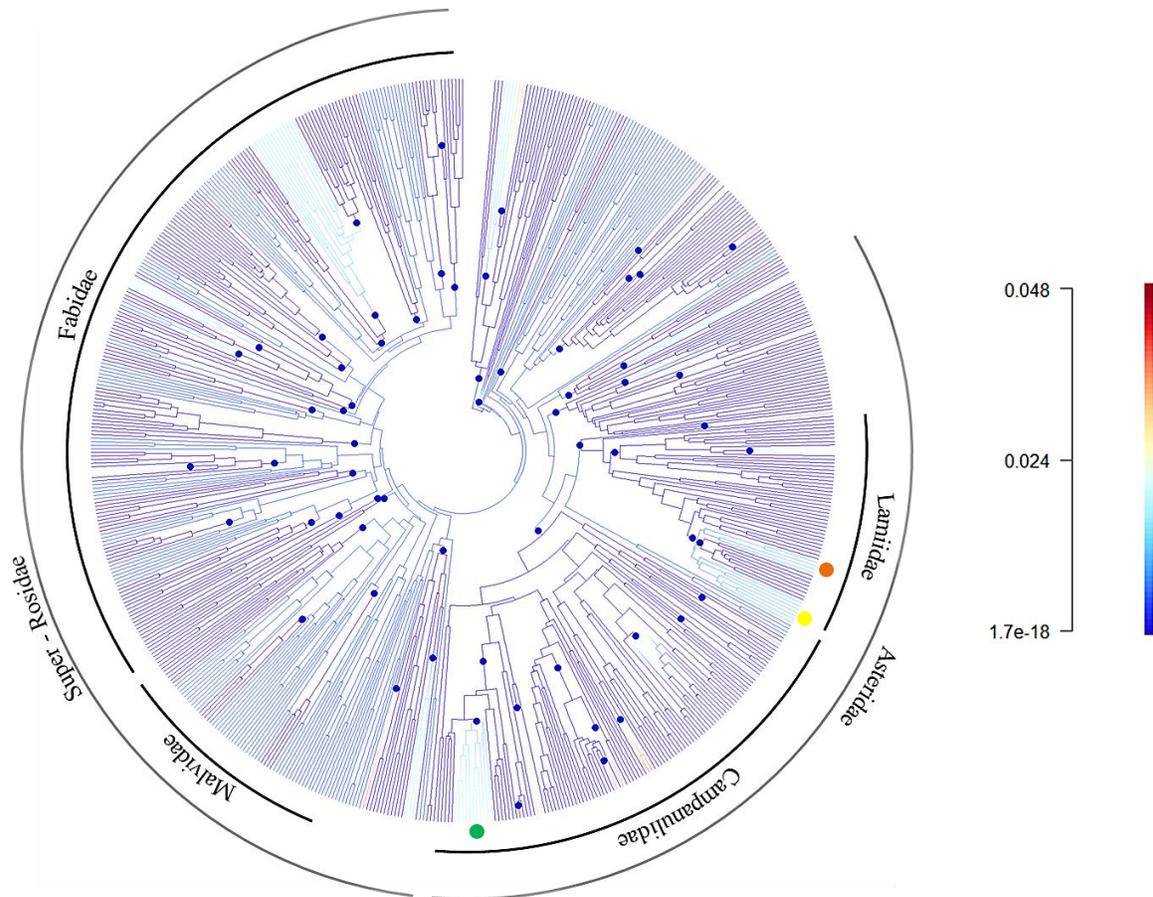


Figura 15. Tasa de evolución de la cáliz pentámero (tetrámero). Configuración con mayor probabilidad posterior encontrada en el intervalo de credibilidad del 95% simulado por BAMM. Los 62 puntos representan cambios significativos en la tasa de evolución del carácter. La escala a la derecha indica la tasa de evolución del carácter. En la configuración mostrada, la mayoría de las ramas son azules, indicando una estabilidad general del carácter.

Análisis de BAMM para el carácter corola pentámera (tetrámera)

El intervalo de credibilidad del 95% simulado por el análisis de BAMM para reconstruir la tasa de evolución de la corola pentámera, o tetrámera, contiene 330 configuraciones distintas del número, posición filogenética y temporal del cambio de tasa. Este número es mayor que el encontrado en la simulaciones de la tasa de evolución del perianto diferenciado y del cáliz pentámero. La Figura 16 muestra la configuración con mayor probabilidad posterior, en la que hay 54 cambios en la tasa de evolución del carácter. El color de las ramas representa la tasa instantánea de evolución del carácter donde el incremento en las tasas están representados por tonos rojos, mientras que tasas bajas de cambio son indicados por tonos azules. La mayoría de los grupos muestran tasas bajas de cambio, especialmente el clado Campanulidae, Cornales, Ericales y algunos clados dentro de Fabidae. Contrariamente, las familias Loranthaceae, Misodendraceae, Schoepfiaceae, Opiliaceae y Santalaceae, todas pertenecientes al orden Santalales (Figura 16, punto verde) muestran un ligero incremento en las tasas. Aún con el resultado anterior el carácter es en general constante dentro del Eudicotyledoneae.

Análisis de correlación de caracteres

Por último, se evaluó la posible existencia de una correlación entre la presencia de un perianto diferenciado y un patrón merístico pentámero (o tetrámero) en Eudicotyledoneae. El modelo independiente, que implica que no existe correlación entre la presencia de ambos caracteres tuvo un valor de verosimilitud de 369.33, mientras que el modelo dependiente, que implica una mayor probabilidad de la presencia de uno de los caracteres si el otro está presente, obtuvo un valor de 349.99. Después de 100 simulaciones, el valor de p fue igual a 0.24, el cual no es estadísticamente significativo y por tanto no podemos rechazar el modelo independiente. Con los resultados anteriores asumimos que el patrón merístico y la presencia de un perianto diferenciado evolucionan de forma independiente.

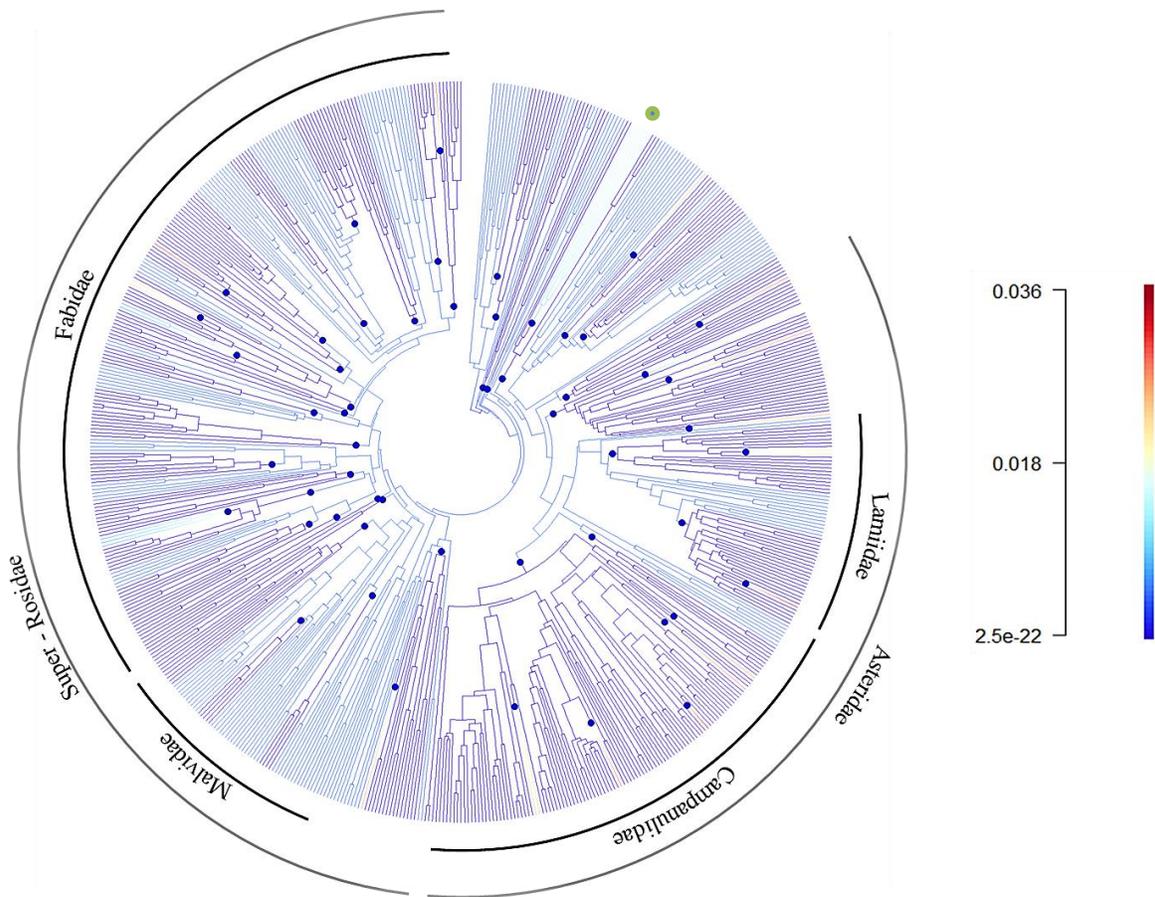


Figura 16. Tasa de evolución de la corola pentámera (tetrámera). Configuración con mayor probabilidad posterior encontrada en el intervalo de credibilidad del 95% simulado por BAMM. Los 54 puntos representan cambios significativos en la tasa de evolución del carácter. La escala a la derecha indica la tasa de evolución del carácter. En la configuración mostrada, la mayoría de las ramas son azules, indicando una estabilidad general del carácter.

(tetrámera) y la corola pentámera (tetrámera). El modelo independiente obtuvo un valor de verosimilitud de 416.61 y el modelo dependiente 408.02. El valor de p con 100 simulaciones fue de 0.12, el cual tampoco es estadísticamente significativo. Los resultados obtenidos de Mesquite sugieren que en ambos casos los datos favorecen al modelo independiente por tanto es probable que la evolución de los caracteres analizados no esté correlacionada.

VIII. DISCUSIÓN

Patrón merístico.

El patrón merístico en eudicotiledóneas ha sido un carácter ampliamente estudiado. Se ha señalado que el patrón merístico en los linajes tempranamente divergentes de

eudicotiledóneas es lábil (Drinnan et al. 1994; Soltis et al. 2003; Zanis et al. 2003). En contraste, en Pentapetalae el patrón pentámero es constante entre los grupos y ha derivado en patrones tetrámeros y dímeros del perianto, o incluso ha derivado en la adquisición de más de cinco órganos por verticilo floral, debido a la pérdida o ganancia de órganos, o debido a cambios en la organización de la flor (Soltis et al. 2003).

Sin embargo, un patrón merístico con más de seis segmentos en los verticilos es raro en el clado Pentapetalae (Cantino et al. 2007), se ha propuesto que los cambios en el patrón merístico son ocasionados por cambios en los mecanismos que inducen genéticamente los órganos florales, o cómo resultado de factores mecánicos de la flor. Sin embargo, aún no queda clara la razón por la cual se originó el cambio en la merosidad de los verticilos (Ronse De Craene 2015).

La mayoría de las reconstrucciones ancestrales que analizan tanto el patrón merístico en Eudicotyledoneae y la diferenciación del perianto, han sido realizadas bajo una aproximación de máxima parsimonia (Soltis et al. 2003; Ronse De Craene 2008). En este estudio, utilizamos herramientas analíticas paramétricas, que aprovechan la totalidad de los datos en el contexto de modelos explícitos de evolución y, de manera especialmente importante, consideran la longitud de las ramas filogenéticas en la estimación de los estados ancestrales y las tasas de cambio de los caracteres evaluados.

Tradicionalmente, según las observaciones morfológicas, se ha considerado que el estado ancestral para la pentamería en Pentapetalae podría ser la condición dímera (Soltis et al. 2003), debido a que el grupo hermano de Pentapetalae, Gunnerales, es dímero. Hipótesis sobre la historia evolutiva del orden Gunnerales proponen que el patrón merístico del orden fue fuertemente influenciado por el tipo de polinización que presenta (polinización por viento) y por ello es probable que haya sufrido cambios en el patrón merístico, por tanto no representa un prototipo morfológico adecuado de la evolución de la estructura floral de Pentapetalae (Ronse De Craene y Wanntorp 2006). De igual forma se ha justificado la presencia constante de un patrón trímero y pentámero en eudicotiledóneas debido a que son parte de la secuencia Fibonacci (Endress 2011), lo cual ha sido fuertemente cuestionado debido a que un patrón dímero también sería parte de la secuencia Fibonacci y debería estar igualmente distribuido en el clado lo cual no es así (Ronse De Craene 2015).

Los linajes tempranamente divergentes de las eudicotiledoneas muestran una diversidad de patrones merísticos, incluyendo patrones dímeros (e.g. Buxaceae, Trochodendrales), trímeros (e.g. Berberidaceae); tetrámeros (e.g. Proteaceae); pentámeros (e.g. Sabiaceae), y variables, tanto en un contexto verticilado (e.g. Platanaceae) como en filotaxia helicoidal (e.g. Nelumbonaceae). Debido a lo anterior, las estimaciones de la condición del patrón merístico al inicio de la diversificación de las eudicotiledóneas han dado resultados equívocos. La pentamería en Ranunculales y Sabiales se originó independientemente y se estima que el estado ancestral es trímero (Soltis et al. 2003; Wanntorp y Ronse De Craene 2005, 2007).

Debido a que los linajes hermanos de Pentapetalae no tienen un patrón merístico estable, los métodos no pueden identificar consistentemente cuando se adquirió el patrón pentámero común dentro de Pentapetalae. En los resultados mostrados en las Tablas 4 y 5 podemos observar la misma problemática: BiSSE estimó como estado ancestral de Pentapetalae la ausencia de un patrón merístico pentámero, lo que implicaría que la pentamería evolucionó dentro del grupo corona de Pentapetalae, en diferentes linajes independientemente, y por lo tanto, que esta condición, aún dentro de Pentapetalae, no es homóloga. Por otra parte, BayesTraits estimó al patrón merístico pentámero como ancestral en Pentapetalae, implicando que el estado de carácter evolucionó muy probablemente en el linaje troncal de este grupo (es decir, a partir de la divergencia de Gunnerales), y que al menos algunas de sus manifestaciones entre los grandes linajes de Pentapetalae son homólogas. Es altamente probable que los resultados contradictorios entre ambos métodos hayan sido fuertemente influenciados por las especies muestreadas, ya que en su mayoría las especies de linajes hermanos a Pentapetalae (Ranunculales y Sabiales) que fueron seleccionadas presentaban verticilos pentámeros y perianto diferenciado. No podemos asegurar con certeza en cual rama filogenética se originó el patrón merístico pentámero que caracteriza a Pentapetalae.

Duplicaciones y expresión de los genes MADS-box

Los trabajos referentes a los eventos de duplicación de la familia B MADS-box sugieren que están ampliamente ligados con el surgimiento de clados principales como el de angiospermas, Pentapetalae y Asteridae (Lamb y Irish 2003; Hernández-

Hernández et al. 2007). En estudios con plantas modelo se han identificado los genes que participan en la diferenciación del perianto, siendo los genes de la familias A los que ayudan a la formación de sépalos; A+B, los pétalos; B+C, los estambres; C, los carpelos, entre muchos otros. Por ello se ha establecido que muy probablemente el patrón merístico y la diferenciación del perianto se vio afectado por la duplicación y expresión de nuevas funciones en los genes en eudicotiledóneas pentámeras. Cambios en los patrones de expresión génica y en las funciones proteicas parecen estar relacionadas con el surgimiento de formas florales, lo cual indica que las modificaciones en la regulación de los genes MADS-box pueden actuar como una fuerza en la evolución de la forma floral (Lamb and Irish 2003). Como ejemplo de lo anterior podemos mencionar el caso del orden Caryophyllales donde aparentemente surgieron diferentes controles génicos para regular la expresión de los verticilos, lo cual provocó pérdidas y ganancia de pétalos en la historia evolutiva del grupo (Brockington et al. 2012). Lo anterior se vio reflejado en las reconstrucciones de estados ancestrales con BiSSE, a pesar de que las especies del muestreo para el clado presentaban un perianto indiferenciado, las estimaciones en nodos ancestrales mostró nodos con perianto diferenciado (Jaramillo y Kramer, 2007; Brockington et al. 2012).

Tanto el perianto diferenciado en cáliz y corola como el patrón merístico pentámero son mayoritariamente constantes dentro de Pentapetalae (resultados de BAMM), aunque como muestran los resultados de la Tabla 6, las tasas de especiación y extinción no se ven afectadas significativamente por la presencia o ausencia de estos atributos.

Atributos florales y su relación con los procesos de diversificación

Los procesos de diversificación se ven afectados tanto por la evolución de un carácter como por factores genéticos, morfológicos, del desarrollo, ecológicos, etcétera. Podemos pensar que el surgimiento y la estabilización de un patrón merístico bien definido (pentámero/tetrámero para este caso) dentro de Pentapetalae permitió la adquisición de arquitecturas florales complejas (e. g., Apocynaceae). Aunque el estado ancestral del grupo pueda ser el mismo, es probable que eventos independientes en cada linaje mayor dieran origen a distintas conformaciones florales. Según la terminología de Donoghue y Sanderson

(2015) tanto el patrón merístico como la presencia de un perianto diferenciado podrían ser interpretados como “innovaciones” que evolucionaron independientemente, posiblemente en diferentes ramas evolutivas y en diferentes tiempos, pero que a lo largo de la evolución interactuaron dando origen a estructuras complejas y/o conjugaciones funcionales que solamente pueden existir dada la presencia de dos o más estructuras individuales (sin innovaciones). Estas interacciones pudieron desarrollarse independientemente en diferentes linajes, difiriendo en detalles de su organización, y en cada caso, pudieron estar asociadas a la evolución de estructuras complejas, que permiten interacciones ecológicas particulares, bajo condiciones abióticas determinadas (Donoghue y Sanderson 2015).

Integrando estos conceptos a los resultados obtenidos en este estudio, la ausencia de correlación entre la evolución del perianto diferenciado en cáliz y corola, y la pentamería sugiere que ambos atributos pudieron haber surgido en diferentes ramas filogenéticas, durante el origen o la diversificación inicial de Pentapetalae, representando innovaciones independientes. Sin embargo, la conjunción de ambos atributos, específicamente en términos de la estabilidad estructural que confieren, permite alcanzar mayor complejidad floral, que puede estar ligada con funciones asociadas a una mayor eficiencia reproductiva, por ejemplo, al incrementar la especificidad de polinizadores, o la eficiencia en la dispersión y captura de polen. Estos atributos a su vez, pueden tener una influencia en el incremento en la tasa de diversificación. Por lo tanto, aunque la presencia del perianto diferenciado en cáliz y corola y la pentamería no están asociados directamente a cambios substanciales en las tasas de especiación y de extinción, representan factores estructurales fundamentales para la evolución de otros atributos (e.g. la formación de flores con corolas fusionadas, formación de espolones, sépalos o pétalos acrescentes para la protección y dispersión del fruto, etcetera), condiciones y funciones, que en conjunto, influyen sobre las tasas de especiación y de extinción.

IX. CONCLUSIONES

Con base en los resultados presentados anteriormente y los resultados obtenidos podemos concluir los siguientes puntos:

(1) La evolución de un perianto pentámero o tetrámero ocurrió cerca del nodo ancestral (nodo corona) de Pentapetalae, pero no podemos distinguir si tuvo lugar en el linaje troncal del clado o dentro del grupo corona de Pentapetalae, ya sea en una o varias ramas particulares.

(2) El perianto diferenciado se estimó como presente en el nodo ancestral del clado Eudicotyledoneae y en Pentapetalae. Sin embargo, las condiciones estimadas para los caracteres de perianto diferenciado y patrón merístico pentámero (a veces tetrámero), podrían haber sido influenciados por las especies utilizadas para representar los linajes tempranamente divergentes de Eudicotyledoneae, en particular de Ranunculales, ya que las especies pertenecientes a este clado que se incluyeron en el análisis presentan ambos caracteres.

3) Estos escenarios implican que la diferenciación del perianto tuvo lugar en las ramas profundas de Eudicotyledoneae, o que las condiciones observadas entre algunos linajes basales y Pentapetalae son homoplásicos. Los resultados indican que para nuestros datos el modelo que se ajusta mejor supone un origen independiente del perianto diferenciado y del patrón merístico pentámero/tetrámero.

4) Ambos caracteres, perianto diferenciado y patrón merístico pentámero (o tetrámero), se perdieron y ganaron en distintas ramas de eudicotiledóneas, y particularmente, dentro de Pentapetalae. Los grupos que presentan mayor número de pérdidas de ambos caracteres son principalmente el orden Caryophyllales y el clado Fabidae dentro de Rosidae. Sin embargo, Malvidae, también dentro de Rosidae, muestra algunos nodos como ausentes. Esto sugiere que probablemente la historia natural del grupo (polinización, ecología, distribución, etcétera) influyó la expresión de ambos caracteres.

5) Contrario a lo esperado, el patrón merístico pentámero y la presencia de un perianto diferenciado no muestran una correlación significativa entre sí dentro de las eudicotiledóneas pentámeras. Asimismo, se favoreció un modelo de evolución

independiente cuando se evaluó la relación de un cáliz pentámero y una corola pentámera (tetrámera).

6) Las tasas de especiación y de extinción son pocas afectadas por la presencia de un perianto diferenciado o un patrón merístico pentámero o tetrámero.

7) Los análisis para la estimación de tasas evolutivas del carácter realizados con BAMM deben de tomarse con precaución, debido a que las cadenas markovianas no convergieron a pesar del gran número de generaciones. Sin embargo, es importante destacar que ambos caracteres cambian poco a lo largo de las ramas y en el tiempo, lo cual sugiere que ambos caracteres están conservados y son estables dentro de la muestra que se utilizó para los análisis.

X. LITERATURA CITADA

- Anderson C.L., Bremer K., Friis E.M. 2005. Dating phylogenetically basal eudicots using *rbcl* sequences and multiple fossil reference points. *Am. J. Bot.* 92:1737–1748.
- Beaulieu J.M., O’Meara B.C., Donoghue M.J. 2013. Identifying hidden rate changes in the evolution of a binary morphological character: the evolution of plant habit in campanulid angiosperms. *Syst. Biol.* 62:725–737.
- Blomberg S.P., Garland T., Ives A.R. 2003. Testing for phylogenetic signal in comparative data: behavioral traits are more labile. *Evolution (N. Y.)* 57:717–745.
- Blomberg S.P., Garland T. 2002. Tempo and mode in evolution: phylogenetic inertia, adaptation and comparative methods. *J. Evol. Biol.* 15:899–910.
- Brockington S.F., Rudall P.J., Frohlich M.W., Oppenheimer D.G., Soltis P.S., Soltis D.E. 2012. “Living stones” reveal alternative petal identity programs within the core eudicots. *Plant J.* 69:193–203.
- Cantino P.D., Doyle J.A., Graham S.W., Judd W.S., Olmstead R.G., Soltis D.E., Soltis P.S., Donoghue M.J. 2007. Towards a phylogenetic nomenclature of Tracheophyta. *Taxon.* 56:1E–44E.
- Coen E.S., Meyerowitz E.M. 1991. The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development. *Nature.* 353:31–37.
- Darwin F., Seward A.C. 1903. *More letters of Charles Darwin* (London: Murray). .
- Davis M.P., Midford P.E., Maddison W. 2013. Exploring power and parameter estimation of the BiSSE method for analyzing species diversification. *BMC Evol. Biol.* 13:38.
- Donoghue M.J., Sanderson M.J. 2015. Confluence, synnovation, and depauperons in plant diversification. *New Phytol.* 207:260–74.
- Doyle J.A., Donoghue M.J. 1986. Seed plant phylogeny and the origin of angiosperms: an experimental cladistic approach. *Bot. Rev.* 52:321–431.
- Drinnan A., Crane P., Hoot S. 1994. *Patterns of floral evolution in the early diversification of non-magnoliid dicotyledons (eudicots)*. Springer Viena.
- Drummond A.J., Ho S.Y.W., Phillips M.J., Rambaut A. 2006. Relaxed phylogenetics and dating with confidence. *PLoS Biol.* 4:e88.
- Drummond C.S., Eastwood R.J., Miotto S.T.S., Hughes C.E. 2012. Multiple continental radiations and correlates of diversification in *Lupinus* (Leguminosae): testing for key innovation with incomplete taxon sampling. *Syst. Biol.* 61:443–460.

- Endress P.K. 2010. Flower structure and trends of evolution in eudicots and their major subclades. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 97:541–583.
- Endress P.K. 2011. Evolutionary diversification of the flowers in angiosperms. *Am. J. Bot.* 98:370–396.
- FitzJohn R.G., Maddison W.P., Otto S.P. 2009. Estimating trait-dependent speciation and extinction rates from incompletely resolved phylogenies. *Syst. Biol.* 58:595–611.
- FitzJohn R.G. 2012. Diversitree : comparative phylogenetic analyses of diversification in R. *Methods Ecol. Evol.* 3:1084–1092.
- Friis E.M., Pedersen R.K., Ronse De Craene L.P. 2006. Cretaceous angiosperm flowers: Innovation and evolution in plant reproduction. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 232:251–293.
- Harmon L.J., Schulte J.A., Larson A., Losos J.B. 2003. Tempo and mode of evolutionary radiation in iguanian lizards. *Science.* 301:961–4.
- Hernández-Hernández T., Martínez-Castilla L.P., Alvarez-Buylla E.R. 2007. Functional diversification of B MADS-box homeotic regulators of flower development: Adaptive evolution in protein-protein interaction domains after major gene duplication events. *Mol. Biol. Evol.* 24:465–481.
- Hileman L.C., Irish V.F. 2009. More is better: the uses of developmental genetic data to reconstruct perianth evolution. *Am. J. Bot.* 96:83–95.
- Hodges S.A., Arnold M.L. 1995. Spurring Plant Diversification: Are Floral Nectar Spurs a Key Innovation? *Proc. Biol. Sci.* 262:343–348.
- Hoot S., Magallón S., Ronse De Craene L.P. 1999. Phylogeny of basal eudicots based on three molecular data sets: *atpB*, *rbcL*, and 18s nuclear ribosomal DNA sequences. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 86:1–32.
- Irish V.F. 2009. Evolution of petal identity. *J. Exp. Bot.* 60:2517–27.
- Jaramillo M.A., Kramer E. 2007. The role of developmental genetics in understanding homology and morphological evolution in plants. *Int. J. Plant Sci.* 168:61–72.
- Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Peter F. Stevens, Donoghue M.J. 2008. *Plant systematics: a phylogenetic approach.* Sinauer Associates.
- Kramer E.M., Dorit R.L., Irish V.F. 1998. Molecular evolution of genes controlling petal and stamen development: duplication and divergence within the APETALA3 and PISTILLATA MADS-box gene lineages. *Genetics.* 149:765–783.
- Kubitzki K. 2007. *The Families and Genera of Vascular Plants.* Berlín: Springer Verlag. p.

48–66.

- Lamb R.S., Irish V.F. 2003. Functional divergence within the APETALA3/PISTILLATA floral homeotic gene lineages. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100:6558–6563.
- Leebens-Mack J., Raubeson L.A., Cui L., Kuehl J. V., Fourcade M.H., Chumley T.W., Boore J.L., Jansen R.K., Depamphilis C.W. 2005. Identifying the basal angiosperm node in chloroplast genome phylogenies: sampling one's way out of the Felsenstein zone. *Mol. Biol. Evol.* 22:1948–1963.
- Litt A., Kramer E.M. 2010. The ABC model and the diversification of floral organ identity. *Semin. Cell Dev. Biol.* 21:129–137.
- Mabberley D.J. 2008. *Mabberley's Plant-Book: A Portable Dictionary of Plants, Their Classifications, and Uses.* New York: Cambridge University Press.
- Maddison W.P., FitzJohn R.G. 2014. The unsolved challenge to phylogenetic correlation tests for categorical characters. *Syst. Biol.* 64:127–136.
- Maddison W.P., Maddison D.R. 2015. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Available from <http://mesquiteproject.org>.
- Maddison W.P., Midford P.E., Otto S.P. 2007. Estimating a binary character's effect on speciation and extinction. *Syst. Biol.* 56:701–710.
- Magallón S., Gómez-Acevedo S., Sánchez-Reyes L.L., Hernández-Hernández T. 2015. A metacalibrated time-tree documents the early rise of flowering plant phylogenetic diversity. *New Phytol.* 207:437–453.
- Magallon S., Sanderson M.J. 2001. Absolute diversification rate in angiosperm clades. *Evolution (N. Y.)* 55:1762–1780.
- Nee S., Holmes E.C., May R.M., Harvey P.H. 1994. Extinction rates can be estimated from molecular phylogenies. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 344:77–82.
- Nee S., Mooers A.O., Harvey P.H. 1992. Tempo and mode of evolution revealed from molecular phylogenies. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 89:8322–8326.
- Pagel M. 1999. Inferring the historical patterns of biological evolution. *Nature.* 401:877–884.
- Plants.jstor.org. 2015. Global Plants on JSTOR. Available from <https://plants.jstor.org/>.
- Qiu Y.-L., Lee J., Bernasconi-Quadroni F., Soltis D.E., Soltis P.S., Zanis M., Zimmer E.A., Chen Z., Savolainen V., Chase M.W. 1999. The earliest angiosperms: evidence from mitochondrial, plastid and nuclear genomes. *Nature.* 402:404–407.
- Rabosky D.L., Goldberg E.E. 2014. Model inadequacy and mistaken inferences of trait-

- dependent speciation. *Syst. Biol.* 64:340–355.
- Rabosky D.L., Grudler M., Anderson C., Title P., Shi J.J., Brown J.W., Huang H., Larson J.G. 2014. BAMMtools: an R package for the analysis of evolutionary dynamics on phylogenetic trees. *Methods Ecol. Evol.* 5:701–707.
- Rabosky D.L., Slater G.J., Alfaro M.E. 2012. Clade age and species richness are decoupled across the eukaryotic tree of life. *PLoS Biol.* 10:e1001381.
- Rambaut A. 2006. FigTree. .
- Revell L.J., Harmon L., Collar D.C. 2008. Phylogenetic signal, evolutionary process, and rate. *Syst. Biol.* 57:591–601.
- Revell L.J., Mahler D.L., Peres-Neto P.R., Redelings B.D. 2012. A new phylogenetic method for identifying exceptional phenotypic diversification. *Evolution (N. Y.)* 66:135–146.
- Revell L.J. 2010. Phylogenetic signal and linear regression on species data. *Methods Ecol. Evol.* 1:319–329.
- Richardson J.E., Pennington R.T., Pennington T.D., Hollingsworth P.M. 2001. Rapid diversification of a species-rich genus of neotropical rain forest trees. *Science* 293:2242–5.
- Ronse De Craene L.P., Brockington S.F. 2013. Origin and evolution of petals in angiosperms. *Plant Ecol. Evol.* 146:5–25.
- Ronse De Craene L.P., Wanntorp L. 2006. Evolution of floral characters in *Gunnera* (Gunneraceae). *Syst. Bot.* 31:671–688.
- Ronse De Craene L.P. 2008. Homology and Evolution of Petals in the Core Eudicots. *Syst. Bot.* 33:301–325.
- Ronse De Craene L.P. 2015. Meristic changes in flowering plants: how flowers play with numbers. *Flora - Morphol. Distrib. Funct. Ecol. Plants*.
- Ruhfel B.R., Gitzendanner M.A., Soltis P.S., Soltis D.E., Burleigh J.G. 2014. From algae to angiosperms-inferring the phylogeny of green plants (Viridiplantae) from 360 plastid genomes. *BMC Evol. Biol.* 14:23.
- Sanderson M.J., Wojciechowski M.F. 1996. Diversification rates in a temperate legume clade: are there “so many species” of *Astragalus* (Fabaceae). *Am. J. Bot.* 83:1488–1502.
- Silvestro D., Zizka G., Schulte K. 2014. Disentangling the effects of key innovations on the diversification of Bromelioideae (Bromeliaceae). *Evolution*. 68:163–175.

- Smith S.A., Beaulieu J.M., Donoghue M.J. 2010. An uncorrelated relaxed-clock analysis suggests an earlier origin for flowering plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 107:5897–5902.
- Soltis D.E., Senters A.E., Zanis M.J., Kim S., Thompson J.D., Soltis P.S., Ronse De Craene L.P., Endress P.K., Farris J.S. 2003. Gunnerales are sister to other core eudicots: implications for the evolution of pentamery. *Am. J. Bot.* 90:461–70.
- Soltis D.E., Soltis P.S., Endress P.K., Chase M.W. 2005. *Phylogeny and evolution of angiosperms*. Sinauer Associates Incorporated.
- Soltis P.S., Soltis D.E., Chase M.W. 1999. Angiosperm phylogeny inferred from multiple genes as a tool for comparative biology. *Nature*. 402:402–404.
- Specht C.D., Bartlett M.E. 2009. Flower Evolution: The Origin and Subsequent Diversification of the Angiosperm Flower. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 40:217–243.
- Stadler T. 2011. Inferring speciation and extinction processes from extant species data. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108:16145–16146.
- Stevens P.F. 2012. Angiosperm Phylogeny Website. Version 12, July 2012. Available from <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.
- Wanntorp L., Ronse De Craene L.P. 2005. The Gunnera flower: key to eudicot diversification or response to pollination mode? *Int. J. Plant Sci.* 166:945–953.
- Wanntorp L., Ronse De Craene L.P. 2007. Flower development of *Meliosma* (Sabiaceae): evidence for multiple origins of pentamery in the eudicots. *Am. J. Bot.* 94:1828–36.
- Wickett N.J., Mirarab S., Nguyen N., Warnow T., Carpenter E., Matasci N., Ayyampalayam S., Barker M.S., Burleigh J.G., Gitzendanner M.A., Ruhfel B.R., Wafula E., Der J.P., Graham S.W., Mathews S., Melkonian M., Soltis D.E., Soltis P.S., Miles N.W., Rothfels C.J., Pokorny L., Shaw A.J., DeGironimo L., Stevenson D.W., Surek B., Villarreal J.C., Roure B., Philippe H., dePamphilis C.W., Chen T., Deyholos M.K., Baucom R.S., Kutchan T.M., Augustin M.M., Wang J., Zhang Y., Tian Z., Yan Z., Wu X., Sun X., Wong G.K.-S., Leebens-Mack J. 2014. Phylotranscriptomic analysis of the origin and early diversification of land plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 111:E4859–E4868.
- Zanis M.J., Soltis P.S., Qiu Y.L., Zimmer E., Soltis D.E. 2003. Phylogenetic Analyses and Perianth Evolution in Basal Angiosperms. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 90:129.

XI. ANEXO

I. Especies estudiadas en la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA) y Jardín Botánico.

ORDEN	FAMILIA	ESPECIE
PROTEALES	Proteaceae	Grevillea robusta
CARYOPHYLLALES	Nyctaginaceae	Bougainvillea glabra
CARYOPHYLLALES	Simmondsiaceae	Simmondsia chinensis
CARYOPHYLLALES	Phytolaccaceae	Phytolacca icosandra
CARYOPHYLLALES	Nyctaginaceae	Mirabilis jalapa
FABALES	Fabaceae	Leucaena esculenta
APIALES	Pittosporaceae	Pittosporum tobira
APIALES	Apiaceae	Foeniculum vulgare
GENTIANALES	Rubiaceae	Bouvardia ternifolia
SOLANALES	Solanaceae	Nicotiana glauca
SAXIFRAGALES	Crassulaceae	Kalanchoe delagoensis
MYRTALES	Lythraceae	Cuphea wrightii
LAMIALES	Lamiaceae	Leonotis nepetifolia
BRASSICALES	Resedaceae	Reseda luteola
ERICALES	Polemoniaceae	Loeselia mexicana
ASTERALES	Asteraceae	Tithonia tubiformis

II. Matriz de caracteres morfológicos utilizada para la estimación de caracteres ancestrales. 0.- Ausente; 1.- Presente.

ORDEN	FAMILIA	ESPECIE	PERIANTO DIFERENCIADO	CÁLIZ PENTÁMERO	COROLA PENTÁMERA
MALPIGHIALES	Malpigiaceae	Acridocarpus natalitius	1	1	1
MALPIGHIALES	Malpigiaceae	Dicella nucifera	1	1	1
MALPIGHIALES	Malpigiaceae	Malpighia emarginata	1	1	1
MALPIGHIALES	Malpigiaceae	Thryallis latifolia	1	1	1
MALPIGHIALES	Malpigiaceae	Tetrapteryx tinifolia	1	1	1
MALPIGHIALES	Malpigiaceae	Byrsonima crassifolia	1	1	1
MALPIGHIALES	Elatinaceae	Bergia texana	1	1	1
MALPIGHIALES	Elatinaceae	Elatine triandra	1	0	0
MALPIGHIALES	Picrodendraceae	Androstachys johnsonii	0	0	0
MALPIGHIALES	Picrodendraceae	Tetracoccus dioicus	0	0	0
MALPIGHIALES	Picrodendraceae	Austrobuxus megacarpus	0	0	0
MALPIGHIALES	Picrodendraceae	Micrantheum hexandrum	0	0	0
MALPIGHIALES	Picrodendraceae	Dissiliaria muelleri	0	0	0
MALPIGHIALES	Picrodendraceae	Petalostigma pubescens	0	0	0
MALPIGHIALES	Picrodendraceae	Podocalyx loranthoides	0	0	0
MALPIGHIALES	Phyllanthaceae	Aporosa frutescens	0	0	0
MALPIGHIALES	Phyllanthaceae	Bischofia javanica	0	0	0
MALPIGHIALES	Phyllanthaceae	Croizatia brevipetiolata	1	1	1
MALPIGHIALES	Phyllanthaceae	Lachnostylis bilocularis	1	1	1
MALPIGHIALES	Phyllanthaceae	Heywoodia lucens	1	0	1
MALPIGHIALES	Phyllanthaceae	Phyllanthus flexuosus	0	0	0
MALPIGHIALES	Chrysobalanaceae	Atuna racemosa	1	1	1
MALPIGHIALES	Chrysobalanaceae	Chrysobalanus icaco	1	1	1
MALPIGHIALES	Chrysobalanaceae	Hirtella bicornis	1	1	1
MALPIGHIALES	Chrysobalanaceae	Afrolicania elaeosperma	0	0	0
MALPIGHIALES	Euphroniaceae	Euphronia guianensis	1	1	0

MALPIGHIALES	Dichapetalaceae	Dichapetalum rugosum	1	1	1
MALPIGHIALES	Dichapetalaceae	Tapura guianensis	1	1	1
MALPIGHIALES	Trigoniaceae	Trigonia nivea	1	1	1
MALPIGHIALES	Balanopaceae	Balanops vieillardii	0	0	0
MALPIGHIALES	Centroplacaceae	Bhesa paniculata	1	1	1
MALPIGHIALES	Centroplacaceae	Centroplacus glaucinus	1	1	1
MALPIGHIALES	Linaceae	Durandea pentagyna	1	1	1
MALPIGHIALES	Linaceae	Hugonia platysepala	1	1	1
MALPIGHIALES	Linaceae	Linum perenne	1	1	1
MALPIGHIALES	Linaceae	Reinwardtia indica	1	1	1
MALPIGHIALES	Pandaceae	Galearia filiformis	1	1	1
MALPIGHIALES	Pandaceae	Panda oleosa	1	1	1
MALPIGHIALES	Pandaceae	Microdesmis puberula	1	1	1
MALPIGHIALES	Euphorbiaceae	Dalechampia spathulata	0	0	0
MALPIGHIALES	Euphorbiaceae	Lasiocroton bahamensis	0	0	0
MALPIGHIALES	Euphorbiaceae	Acalypha californica	0	0	0
MALPIGHIALES	Euphorbiaceae	Spathiostemon javensis	0	0	0
MALPIGHIALES	Euphorbiaceae	Ricinus communis	0	0	0
MALPIGHIALES	Euphorbiaceae	Conceveiba martiana	0	0	0
MALPIGHIALES	Euphorbiaceae	Euphorbia epithymoides	0	0	0
MALPIGHIALES	Euphorbiaceae	Homalanthus populneus	0	0	0
MALPIGHIALES	Euphorbiaceae	Hura crepitans	0	0	0
MALPIGHIALES	Euphorbiaceae	Pimelodendron zoanthogyne	0	0	0
MALPIGHIALES	Euphorbiaceae	Codiaeum peltatum	1	0	1
MALPIGHIALES	Euphorbiaceae	Trigonostemon verrucosus	1	1	1
MALPIGHIALES	Euphorbiaceae	Croton alabamensis	1	1	1
MALPIGHIALES	Euphorbiaceae	Hevea brasiliensis	0	0	0
MALPIGHIALES	Euphorbiaceae	Manihot esculenta	0	0	0
MALPIGHIALES	Euphorbiaceae	Moultonianthus leembruggianus	1	1	1

MALPIGHIALES	Euphorbiaceae	Suregada boiviniana	0	0	0
MALPIGHIALES	Euphorbiaceae	Endospermum moluccanum	0	0	0
MALPIGHIALES	Euphorbiaceae	Omphalea diandra	0	0	0
MALPIGHIALES	Euphorbiaceae	Tetrorchidium gabonense	0	0	0
MALPIGHIALES	Euphorbiaceae	Neoscortechinia kingii	0	0	0
MALPIGHIALES	Peraceae	Clutia pulchella	1	1	1
MALPIGHIALES	Peraceae	Pera bicolor	0	0	0
MALPIGHIALES	Peraceae	Pogonophora schomburgkiana	1	1	1
MALPIGHIALES	Ochnaceae	Cespedesia spathulata	1	1	1
MALPIGHIALES	Ochnaceae	Sauvagesia erecta	1	1	1
MALPIGHIALES	Ochnaceae	Ochna multiflora	1	1	1
MALPIGHIALES	Ochnaceae	Luxemburgia octandra	1	1	1
MALPIGHIALES	Ochnaceae	Medusagyne oppositifolia	1	1	1
MALPIGHIALES	Ochnaceae	Quiina pteridophylla	1	1	1
MALPIGHIALES	Ochnaceae	Touroulia guianensis	1	1	1
MALPIGHIALES	Caryocaraceae	Caryocar glabrum	1	1	1
MALPIGHIALES	Erythroxylaceae	Aneulophus africanus	1	1	1
MALPIGHIALES	Erythroxylaceae	Erythroxylum confusum	1	1	1
MALPIGHIALES	Rhizophoraceae	Bruguiera gymnorhiza	1	0	0
MALPIGHIALES	Rhizophoraceae	Carallia brachiata	1	1	1
MALPIGHIALES	Rhizophoraceae	Rhizophora stylosa	1	1	1
MALPIGHIALES	Rhizophoraceae	Crossostylis grandiflora	1	1	1
MALPIGHIALES	Rhizophoraceae	Cassipourea lanceolata	1	1	1
MALPIGHIALES	Rhizophoraceae	Paradrypetes subintegrifolia	0	0	0
MALPIGHIALES	Ctenolophonaceae	Ctenolophon englerianus	1	1	1
MALPIGHIALES	Putranjivaceae	Drypetes madagascariensis	0	0	0
MALPIGHIALES	Lohopyxidaceae	Lophopyxis maingayi	1	1	1
MALPIGHIALES	Salicaceae	Abatia parviflora	0	0	0
MALPIGHIALES	Salicaceae	Prockia crucis	0	0	0

MALPIGHIALES	Salicaceae	<i>Dovyalis rhamnoides</i>	0	0	0
MALPIGHIALES	Salicaceae	<i>Flacourtia indica</i>	0	0	0
MALPIGHIALES	Salicaceae	<i>Idesia polycarpa</i>	0	0	0
MALPIGHIALES	Salicaceae	<i>Populus tremuloides</i>	0	0	0
MALPIGHIALES	Salicaceae	<i>Salix reticulata</i>	0	0	0
MALPIGHIALES	Salicaceae	<i>Poliothyrsis sinensis</i>	0	0	0
MALPIGHIALES	Salicaceae	<i>Scyphostegia borneensis</i>	0	0	0
MALPIGHIALES	Salicaceae	<i>Casearia sylvestris</i>	0	0	0
MALPIGHIALES	Salicaceae	<i>Lunania parviflora</i>	1	0	0
MALPIGHIALES	Lacistemataceae	<i>Lacistema aggregatum</i>	0	0	0
MALPIGHIALES	Lacistemataceae	<i>Lozania pittieri</i>	0	0	0
MALPIGHIALES	Goupiaceae	<i>Goupia glabra</i>	1	1	1
MALPIGHIALES	Violaceae	<i>Hybanthus concolor</i>	1	1	1
MALPIGHIALES	Violaceae	<i>Leonia glycyarpa</i>	1	1	1
MALPIGHIALES	Violaceae	<i>Hymenanchera alpina</i>	1	1	1
MALPIGHIALES	Violaceae	<i>Viola pubescens</i>	1	1	1
MALPIGHIALES	Violaceae	<i>Rinorea pubiflora</i>	1	1	0
MALPIGHIALES	Passifloraceae	<i>Malesherbia linearifolia</i>	1	1	1
MALPIGHIALES	Passifloraceae	<i>Paropsia madagascariensis</i>	1	1	1
MALPIGHIALES	Passifloraceae	<i>Passiflora biflora</i>	1	1	1
MALPIGHIALES	Passifloraceae	<i>Turnera ulmifolia</i>	1	1	1
MALPIGHIALES	Achariaceae	<i>Acharia tragodes</i>	1	1	1
MALPIGHIALES	Achariaceae	<i>Kiggelaria africana</i>	1	1	1
MALPIGHIALES	Achariaceae	<i>Pangium edule</i>	1	0	0
MALPIGHIALES	Achariaceae	<i>Erythrospermum phytolaccoides</i>	1	1	1
MALPIGHIALES	Achariaceae	<i>Hydnocarpus heterophylla</i>	1	1	1
MALPIGHIALES	Bonnetiaceae	<i>Archytaea triflora</i>	1	1	1
MALPIGHIALES	Bonnetiaceae	<i>Bonnetia sessilis</i>	1	1	1
MALPIGHIALES	Calophyllaceae	<i>Calophyllum soulattri</i>	0	0	0

MALPIGHIALES	Calophyllaceae	Mammea americana	1	0	1
MALPIGHIALES	Calophyllaceae	Mesua larnachiana	1	1	1
MALPIGHIALES	Hypericaceae	Cratoxylum cochinchinense	1	1	1
MALPIGHIALES	Hypericaceae	Eliea articulata	1	1	1
MALPIGHIALES	Hypericaceae	Hypericum perforatum	1	1	1
MALPIGHIALES	Hypericaceae	Vismia baccifera	1	1	1
MALPIGHIALES	Podostemaceae	Marathrum rubrum	0	0	0
MALPIGHIALES	Podostemaceae	Podostemum ceratophyllum	0	0	0
MALPIGHIALES	Clusiaceae	Clusia gundlachii	1	1	1
MALPIGHIALES	Clusiaceae	Garcinia subelliptica	1	1	1
MALPIGHIALES	Clusiaceae	Symphonia tanalensis	1	1	1
MALPIGHIALES	Irvingiaceae	Irvingia malayana	1	1	1
MALPIGHIALES	Irvingiaceae	Klainedoxa gabonensis	1	1	1
MALPIGHIALES	Ixonanthaceae	Ochthocosmus longipedicellatus	1	1	1
MALPIGHIALES	Humiriaceae	Humiria balsamifera	1	1	1
MALPIGHIALES	Humiriaceae	Vantanea guianensis	1	1	1
MALPIGHIALES	Humiriaceae	Sacoglottis amazonica	1	1	1
OXALIDALES	Huaceae	Afrostryax lepidophyllus	1	1	1
OXALIDALES	Huaceae	Hua gabonii	1	1	1
OXALIDALES	Oxalidaceae	Averrhoa carambola	1	1	1
OXALIDALES	Oxalidaceae	Dapania racemosa	1	1	1
OXALIDALES	Oxalidaceae	Oxalis dillenii	1	1	1
OXALIDALES	Connaraceae	Connarus championii	1	1	1
OXALIDALES	Connaraceae	Rourea minor	1	1	1
OXALIDALES	Brunelliaceae	Brunellia acutangula	0	0	0
OXALIDALES	Cephalotaceae	Cephalotus follicularis	0	0	0
OXALIDALES	Cunoniaceae	Davidsonia pruriens	0	0	0
OXALIDALES	Cunoniaceae	Eucryphia lucida	1	1	1
OXALIDALES	Elaeocarpaceae	Crinodendron hookerianum	1	1	1

OXALIDALES	Elaeocarpaceae	Elaeocarpus reticulatus	1	1	1
OXALIDALES	Elaeocarpaceae	Sloanea latifolia	1	1	1
CELASTRALES	Celastraceae	Brexia madagascariensis	1	1	1
CELASTRALES	Celastraceae	Cassine orientalis	1	1	1
CELASTRALES	Celastraceae	Plagiopteron suaveolens	1	1	1
CELASTRALES	Celastraceae	Gymnosporia senegalensis	1	1	1
CELASTRALES	Celastraceae	Celastrus scandens	1	1	1
CELASTRALES	Celastraceae	Tripterygium wilfordii	1	1	1
CELASTRALES	Celastraceae	Euonymus americanus	1	1	1
CELASTRALES	Celastraceae	Paxistima canbyi	1	1	1
CELASTRALES	Celastraceae	Denhamia celastroides	1	1	1
CELASTRALES	Celastraceae	Stackhousia minima	1	1	1
CELASTRALES	Celastraceae	Siphonodon celastrineus	1	1	1
CELASTRALES	Parnassiaceae	Parnassia palustris	1	1	1
CELASTRALES	Lepidobotryaceae	Lepidobotrys staudtii	1	1	1
CELASTRALES	Lepidobotryaceae	Ruptiliocarpon caracolito	1	1	1
FABALES	Quillajaceae	Quillaja saponaria	1	1	1
FABALES	Fabaceae	Acacia fimbriata	1	1	1
FABALES	Fabaceae	Albizia julibrissin	1	1	1
FABALES	Fabaceae	Ceratonia siliqua	0	0	0
FABALES	Fabaceae	Astragalus membranaceus	1	1	1
FABALES	Fabaceae	Cicer arietinum	1	1	1
FABALES	Fabaceae	Medicago sativa	1	1	1
FABALES	Fabaceae	Pisum sativum	1	1	1
FABALES	Fabaceae	Lotus corniculatus	1	1	1
FABALES	Fabaceae	Erythrina cristagalli	1	0	1
FABALES	Fabaceae	Glycine max	1	1	1
FABALES	Fabaceae	Indigofera heterantha	1	1	1
FABALES	Fabaceae	Mimosa polycarpa	1	1	1

FABALES	Fabaceae	Bauhinia galpinii	1	1	1
FABALES	Fabaceae	Cercis canadensis	1	1	0
FABALES	Fabaceae	Schotia brachypetala	1	1	1
FABALES	Surianaceae	Stylobasium spathulatum	0	0	0
FABALES	Polygalaceae	Polygala pauciflora	1	1	0
FAGALES	Betulaceae	Alnus viridis	0	0	0
FAGALES	Casuarinaceae	Casuarina cunninghamiana	0	0	0
FAGALES	Juglandaceae	Juglans mandshurica	0	0	0
FAGALES	Myricaceae	Myrica cerifera	0	0	0
FAGALES	Myricaceae	Myrica gale	0	0	0
FAGALES	Fagaceae	Chrysolepis sempervirens	0	0	0
FAGALES	Fagaceae	Quercus rubra	0	0	0
FAGALES	Fagaceae	Fagus grandifolia	0	0	0
FAGALES	Nothofagaceae	Nothofagus antarctica	0	0	0
CUCURBITALES	Anisophylleaceae	Anisophyllea fallax	1	1	1
CUCURBITALES	Begoniaceae	Begonia sanguinea	0	0	0
CUCURBITALES	Datisceae	Datisca cannabina	0	0	0
CUCURBITALES	Tetramelaceae	Tetrameles nudiflora	0	0	0
CUCURBITALES	Cucurbitaceae	Coccinia sessilifolia	1	1	1
CUCURBITALES	Cucurbitaceae	Cucumis melo	1	1	1
CUCURBITALES	Cucurbitaceae	Cucurbita pepo	1	1	1
CUCURBITALES	Cucurbitaceae	Dendrosicyos socotrana	1	1	1
CUCURBITALES	Cucurbitaceae	Xerosicyos danguyi	1	1	1
CUCURBITALES	Coriariaceae	Coriaria ruscifolia	1	1	1
CUCURBITALES	Corynocarpaceae	Corynocarpus laevigatus	1	1	1
ROSALES	Dirachmaceae	Dirachma socotrana	1	0	0
ROSALES	Elaeagnaceae	Elaeagnus umbellata	0	0	0
ROSALES	Barbeyaceae	Barbeya oleoides	0	0	0
ROSALES	Rhamnaceae	Ceanothus sanguineus	1	1	1

ROSALES	Rhamnaceae	Rhamnus cathartica	1	1	1
ROSALES	Urticaceae	Boehmeria nivea	0	0	0
ROSALES	Urticaceae	Urtica dioica	0	0	0
ROSALES	Urticaceae	Pilea cadierei	0	0	0
ROSALES	Moraceae	Ficus carica	0	0	0
ROSALES	Moraceae	Morus indica	0	0	0
ROSALES	Cannabaceae	Cannabis sativa	0	0	0
ROSALES	Cannabaceae	Humulus lupulus	0	0	0
ROSALES	Cannabaceae	Celtis yunnanensis	0	0	0
ROSALES	Ulmaceae	Zelkova serrata	0	0	0
ROSALES	Rosaceae	Photinia fraseri	1	1	1
ROSALES	Rosaceae	Prunus persica	1	1	1
ROSALES	Rosaceae	Spiraea betulifolia	1	1	1
ZYGOPHYLLALES	Zygophyllaceae	Guaiacum sanctum	1	1	1
ZYGOPHYLLALES	Zygophyllaceae	Larrea tridentata	1	1	1
ZYGOPHYLLALES	Krameriaceae	Krameria ixine	1	1	1
GERANIALES	Geraniaceae	Geranium sanguineum	1	1	1
GERANIALES	Geraniaceae	Pelargonium cotyledonis	1	1	1
GERANIALES	Melanthaceae	Greyia radlkoferi	1	1	1
GERANIALES	Melanthaceae	Melianthus major	1	1	1
GERANIALES	Vivianiaceae	Viviania marifolia	1	1	1
SAPINDALES	Burseraceae	Bursera fagaroides	1	1	1
SAPINDALES	Anacardiaceae	Rhus copallinum	1	1	1
SAPINDALES	Anacardiaceae	Schinus molle	1	1	1
SAPINDALES	Sapindaceae	Aesculus pavia	1	1	1
SAPINDALES	Sapindaceae	Cupaniopsis anacardioides	1	1	1
SAPINDALES	Simaroubaceae	Ailanthus altissima	1	1	1
SAPINDALES	Rutaceae	Citrus paradisi	1	1	1
SAPINDALES	Meliaceae	Swietenia macrophylla	1	1	1

SAPINDALES	Meliaceae	Trichilia emetica	1	1	1
SAPINDALES	Nitrariaceae	Nitraria retusa	1	1	1
SAPINDALES	Biebersteiniaceae	Biebersteinia orphanidis	1	1	1
MALVALES	Dipterocarpaceae	Anisoptera marginata	1	1	1
MALVALES	Cistaceae	Helianthemum grandiflorum	1	1	1
MALVALES	Bixaceae	Bixa orellana	1	1	1
MALVALES	Malvaceae	Bombax ceiba	1	1	1
MALVALES	Malvaceae	Ochroma pyramidale	1	1	1
MALVALES	Malvaceae	Durio zibethinus	1	1	1
MALVALES	Malvaceae	Gossypium hirsutum	1	1	1
MALVALES	Malvaceae	Sterculia apetala	0	0	0
MALVALES	Thymelaeaceae	Thymelaea hirsuta	0	0	0
MALVALES	Neuradaceae	Neurada procumbens	1	1	1
BRASSICALES	Brassicaceae	Arabidopsis thaliana	1	1	1
BRASSICALES	Brassicaceae	Brassica napus	1	1	1
BRASSICALES	Brassicaceae	Raphanus sativus	1	1	1
BRASSICALES	Capparaceae	Capparis spinosa	1	1	1
BRASSICALES	Pentadiplandraceae	Pentadiplandra brazzeana	1	1	1
BRASSICALES	Tovariaceae	Tovaria pendula	1	0	0
BRASSICALES	Gyrostemonaceae	Gyrostemon tepperi	0	0	0
BRASSICALES	Resedaceae	Reseda alba	1	1	1
BRASSICALES	Bataceae	Batis maritima	1	1	1
BRASSICALES	Koeberliniaceae	Koeberlinia spinosa	1	1	1
BRASSICALES	Limnanthaceae	Floerkea proserpinacoides	1	1	1
BRASSICALES	Caricaceae	Carica papaya	1	1	1
BRASSICALES	Tropaeolaceae	Tropaeolum tricolor	1	1	1
HUERTEALES	Dipentodontaceae	Dipentodon sinicus	1	0	0
HUERTEALES	Dipentodontaceae	Perrottetia ovata	1	1	1
HUERTEALES	Tapisciaceae	Tapiscia sinensis	1	1	1

HUERTEALES	Gerrardiaceae	Gerrardina foliosa	1	1	1
PICRAMNIALES	Picramniaceae	Picramnia polyantha	1	1	1
CROSSOSSOMATALES	Aphloiaceae	Aphloia theiformis	0	0	0
CROSSOSOMATALES	Geissolomataceae	Geissoloma marginatum	0	0	0
CROSSOSOMATALES	Ixerbaceae	Ixerba brexioides	1	1	1
CROSSOSSOMATALES	Strasburgeriaceae	Strasburgeria robusta	1	1	1
CROSSOSOMATALES	Crossosomataceae	Crossosoma bigelovii	1	1	1
CROSSOSOMATALES	Stachyuraceae	Stachyurus praecox	1	1	1
CROSSOSOMATALES	Guamatelaceae	Guamatela tuerckheimii	1	1	1
CROSSOSOMATALES	Staphyleaceae	Staphylea trifolia	1	1	1
MYRTALES	Onagraceae	Clarkia xantiana	1	1	1
MYRTALES	Onagraceae	Oenothera parviflora	1	1	1
MYRTALES	Onagraceae	Fuchsia procumbens	0	0	0
MYRTALES	Lythraceae	Lythrum salicaria	1	0	0
MYRTALES	Combretaceae	Terminalia catappa	0	0	0
MYRTALES	Melastomataceae	Clidemia petiolaris	1	1	1
MYRTALES	Melastomataceae	Mouriri cyphocarpa	1	1	1
MYRTALES	Crypteroniaceae	Crypteronia paniculata	0	0	0
MYRTALES	Penaeaceae	Olinia ventosa	0	0	0
MYRTALES	Myrtaceae	Eucalyptus lehmannii	1	0	0
MYRTALES	Myrtaceae	Myrtus communis	1	1	1
MYRTALES	Myrtaceae	Metrosideros nervulosa	1	1	1
MYRTALES	Myrtaceae	Heteropyxis natalensis	1	1	1
MYRTALES	Vochysiaceae	Qualea grandiflora	1	1	0
MYRTALES	Vochysiaceae	Vochysia guatemalensis	1	0	0
VITALES	Vitaceae	Leea guineense	1	1	1
VITALES	Vitaceae	Vitis aestivalis	1	1	1
SAXIFRAGALES	Hamamelidaceae	Corylopsis pauciflora	1	1	1

SAXIFRAGALES	Hamamelidaceae	Hamamelis virginiana	1	1	1
SAXIFRAGALES	Hamamelidaceae	Disanthus cercidifolius	1	1	1
SAXIFRAGALES	Hamamelidaceae	Exbucklandia populnea	1	0	1
SAXIFRAGALES	Hamamelidaceae	Rhodoleia championii	0	0	0
SAXIFRAGALES	Altingiaceae	Altingia excelsa	0	0	0
SAXIFRAGALES	Altingiaceae	Liquidambar styraciflua	0	0	0
SAXIFRAGALES	Cercidiphyllaceae	Cercidiphyllum japonicum	0	0	0
SAXIFRAGALES	Daphniphyllaceae	Daphniphyllum macropodum	0	0	0
SAXIFRAGALES	Paeoniaceae	Paeonia californica	1	1	1
SAXIFRAGALES	Aphanopetalaceae	Aphanopetalum resinosum	0	0	0
SAXIFRAGALES	Haloragaceae	Haloragis aspera	1	1	1
SAXIFRAGALES	Haloragaceae	Myriophyllum sibiricum	1	1	1
SAXIFRAGALES	Penthoraceae	Penthorum sedoides	1	1	1
SAXIFRAGALES	Tetracarpaeaceae	Tetracarpaea tasmanica	1	1	1
SAXIFRAGALES	Crassulaceae	Crassula marnierana	1	1	1
SAXIFRAGALES	Crassulaceae	Dudleya viscida	1	1	1
SAXIFRAGALES	Crassulaceae	Sedum rubrotinctum	1	1	1
SAXIFRAGALES	Crassulaceae	Kalanchoe daigremontiana	1	1	1
SAXIFRAGALES	Iteaceae	Choristylis rhamnoides	1	1	1
SAXIFRAGALES	Iteaceae	Itea virginica	1	1	1
SAXIFRAGALES	Pterostemonaceae	Pterostemon rotundifolius	1	1	1
SAXIFRAGALES	Saxifragaceae	Heuchera micrantha	1	0	1
SAXIFRAGALES	Saxifragaceae	Sullivantia oregana	1	1	1
SAXIFRAGALES	Saxifragaceae	Saxifraga cernua	1	1	1
SAXIFRAGALES	Grossulariaceae	Ribes aureum	1	1	1
SAXIFRAGALES	Peridiscaceae	Peridiscus lucidus	0	0	0
SAXIFRAGALES	Peridiscaceae	Soyauxia talbotii	0	0	0
BRUNIALES	Bruniaceae	Berzelia lanuginosa	1	1	1
BRUNIALES	Bruniaceae	Brunia albiflora	1	1	1

BRUNIALES	Columelliaceae	Columellia oblonga	1	1	1
BRUNIALES	Columelliaceae	Desfontainia spinosa	1	1	1
DIPSACALES	Linnaeaceae	Abelia triflora	1	1	1
DIPSACALES	Linnaeaceae	Dipelta yunnanensis	1	1	1
DIPSACALES	Linnaeaceae	Kolkwitzia amabilis	1	1	1
DIPSACALES	Linnaeaceae	Linnaea borealis	1	1	1
DIPSACALES	Valerianaceae	Valeriana officinalis	1	1	1
DIPSACALES	Valerianaceae	Valerianella locusta	1	0	1
DIPSACALES	Valerianaceae	Nardostachys chinensis	1	1	1
DIPSACALES	Valerianaceae	Patrinia triloba	1	1	1
DIPSACALES	Dipsacaceae	Dipsacus sativus	1	1	1
DIPSACALES	Dipsacaceae	Pterocephalodes hookeri	1	0	1
DIPSACALES	Dipsacaceae	Scabiosa columbaria	1	1	1
DIPSACALES	Dipsacaceae	Triplostegia glandulifera	1	1	1
DIPSACALES	Morinaceae	Centranthus ruber	1	1	1
DIPSACALES	Morinaceae	Morina longifolia	1	0	1
DIPSACALES	Morinaceae	Zabelia tyaihyonii	1	0	1
DIPSACALES	Caprifoliaceae	Heptacodium miconioides	1	1	1
DIPSACALES	Caprifoliaceae	Leycesteria formosa	1	1	1
DIPSACALES	Caprifoliaceae	Triosteum perfoliatum	1	1	1
DIPSACALES	Caprifoliaceae	Symphoricarpos albus	1	1	1
DIPSACALES	Caprifoliaceae	Lonicera japonica	1	1	1
DIPSACALES	Diervillaceae	Diervilla sessilifolia	1	1	1
DIPSACALES	Diervillaceae	Weigela hortensis	1	1	1
DIPSACALES	Adoxaceae	Adoxa moschatellina	1	0	1
DIPSACALES	Adoxaceae	Tetradoxa omeiensis	1	1	1
DIPSACALES	Adoxaceae	Sinadoxa corydalifolia	1	1	1
DIPSACALES	Adoxaceae	Sambucus racemosa	1	1	1
DIPSACALES	Adoxaceae	Viburnum acerifolium	1	1	1

PARACRYPHIALES	Paracryphiaceae	Paracryphia alticola	0	0	0
PARACRYPHIALES	Paracryphiaceae	Sphenostemon lobosporus	0	0	0
PARACRYPHIALES	Paracryphiaceae	Quintinia verdonii	1	1	1
APIALES	Apiaceae	Anethum graveolens	1	1	1
APIALES	Apiaceae	Apium graveolens	1	1	1
APIALES	Apiaceae	Angelica sylvestris	1	1	1
APIALES	Apiaceae	Coriandrum sativum	1	1	1
APIALES	Apiaceae	Daucus carota	1	1	1
APIALES	Apiaceae	Heteromorpha trifoliata	1	1	1
APIALES	Apiaceae	Arctopus echinatus	1	1	1
APIALES	Apiaceae	Sanicula gregaria	1	1	1
APIALES	Apiaceae	Azorella selago	1	1	1
APIALES	Apiaceae	Mackinlaya confusa	1	1	1
APIALES	Apiaceae	Platysace lanceolata	1	1	1
APIALES	Myodocarpaceae	Delarbrea michieana	1	1	1
APIALES	Myodocarpaceae	Myodocarpus fraxinifolius	1	1	1
APIALES	Araliaceae	Aralia spinosa	1	1	1
APIALES	Araliaceae	Panax quinquefolius	1	1	1
APIALES	Araliaceae	Cussonia spicata	1	1	1
APIALES	Araliaceae	Pseudopanax arboreus	1	1	1
APIALES	Araliaceae	Tetraplasandra hawaiiensis	1	1	1
APIALES	Araliaceae	Hedera helix	1	1	1
APIALES	Araliaceae	Schefflera arboricola	1	1	1
APIALES	Araliaceae	Tetrapanax papyrifer	1	0	1
APIALES	Araliaceae	Polyscias guilfoylei	1	1	1
APIALES	Araliaceae	Hydrocotyle vulgaris	0	0	0
APIALES	Pittosporaceae	Pittosporum japonicum	1	1	1
APIALES	Pittosporaceae	Billardiera heterophylla	1	1	1
APIALES	Griselinaceae	Griselinia littoralis	1	1	1

APIALES	Torricelliaceae	Aralidium pinnatifidum	1	1	1
APIALES	Torricelliaceae	Melanophylla alnifolia	1	1	1
APIALES	Torricelliaceae	Torricellia tiliifolia	1	1	1
APIALES	Pennantiaceae	Pennantia corymbosa	1	1	1
ASTERALES	Roussaceae	Abrophyllum ornans	1	1	1
ASTERALES	Roussaceae	Cuttsia viburnea	1	0	1
ASTERALES	Roussaceae	Carpodetus serratus	1	1	1
ASTERALES	Rousseaceae	Roussea simplex	1	1	1
ASTERALES	Campanulaceae	Campanula elatines	1	1	1
ASTERALES	Campanulaceae	Campanula trachelium	1	1	1
ASTERALES	Campanulaceae	Cyphia elata	1	1	1
ASTERALES	Campanulaceae	Dialypetalum floribundum	1	1	1
ASTERALES	Campanulaceae	Lobelia angulata	1	1	1
ASTERALES	Campanulaceae	Pseudonemacladus oppositifolius	1	1	1
ASTERALES	Alseuosmiaceae	Alseuosmia macrophylla	1	1	1
ASTERALES	Alseuosmiaceae	Wittsteinia vacciniacea	1	1	1
ASTERALES	Alseuosmiaceae	Crispiloba disperma	1	1	1
ASTERALES	Alseuosmiaceae	Platyspermatium crassifolium	1	1	1
ASTERALES	Argophyllaceae	Argophyllum laxum	1	1	1
ASTERALES	Argophyllaceae	Corokia cotoneaster	1	1	1
ASTERALES	Phellinaceae	Phelline billardierei	1	1	1
ASTERALES	Calyceraceae	Acicarpha tribuloides	1	1	1
ASTERALES	Calyceraceae	Moschopsis rosulata	1	1	1
ASTERALES	Calyceraceae	Boopis graminea	1	1	1
ASTERALES	Asteraceae	Barnadesia caryophylla	1	0	1
ASTERALES	Asteraceae	Cichorium intybus	0	0	0
ASTERALES	Asteraceae	Lactuca sativa	1	0	1
ASTERALES	Asteraceae	Tragopogon dubius	1	0	1

ASTERALES	Asteraceae	Guizotia abyssinica	1	0	1
ASTERALES	Asteraceae	Helianthus annuus	1	0	1
ASTERALES	Asteraceae	Tagetes erecta	1	0	1
ASTERALES	Asteraceae	Echinops exaltatus	1	0	1
ASTERALES	Asteraceae	Gerbera jamesonii	1	0	1
ASTERALES	Goodeniaceae	Dampiera spicigera	1	1	1
ASTERALES	Goodeniaceae	Goodenia ovata	1	1	1
ASTERALES	Goodeniaceae	Scaevola aemula	1	1	1
ASTERALES	Menyanthaceae	Neprophyllidium cristagalli	1	1	1
ASTERALES	Menyanthaceae	Menyanthes trifoliata	1	1	1
ASTERALES	Menyanthaceae	Nymphoides peltata	1	1	1
ASTERALES	Menyanthaceae	Villarsia calthifolia	1	1	1
ASTERALES	Stylidaceae	Donatia fascicularis	1	1	0
ASTERALES	Stylidaceae	Forstera bidwillii	1	1	1
ASTERALES	Stylidaceae	Stylidium graminifolium	1	1	1
ASTERALES	Pentaphragmataceae	Pentaphragma ellipticum	1	1	1
ESCALLONIALES	Escalloniaceae	Anopterus macleayanus	1	0	0
ESCALLONIALES	Escalloniaceae	Eremosyne pectinata	1	1	1
ESCALLONIALES	Escalloniaceae	Escallonia rubra	1	1	1
ESCALLONIALES	Escalloniaceae	Forgesia racemosa	1	1	1
ESCALLONIALES	Escalloniaceae	Valdivia gayana	1	1	1
ESCALLONIALES	Escalloniaceae	Polyosma cunninghamii	1	1	1
AQUIFOLIALES	Cardiopteridaceae	Cardiopteris quinqueloba	1	1	1
AQUIFOLIALES	Cardiopteridaceae	Gonocaryum litorale	1	1	1
AQUIFOLIALES	Cardiopteridaceae	Citronella suaveolens	1	1	1
AQUIFOLIALES	Stemonuraceae	Gomphandra javanica	1	1	1
AQUIFOLIALES	Stemonuraceae	Irvingbaileya australis	1	1	1
AQUIFOLIALES	Helwingiaceae	Helwingia japonica	0	0	0
AQUIFOLIALES	Phyllonomaceae	Phyllonoma laticuspis	1	1	1

AQUIFOLIALES	Aquifoliaceae	Ilex cornuta	1	1	1
GARRYALES	Aucubaceae	Aucuba japonica	1	1	1
GARRYALES	Garryaceae	Garrya elliptica	0	0	0
GARRYALES	Eucommiaceae	Eucommia ulmoides	0	0	0
ICACINACEAE	Icacinaceae	Icacina mannii	1	1	1
LAMIALES	Acanthaceae	Acanthus montanus	1	1	1
LAMIALES	Acanthaceae	Barleria prionitis	1	1	1
LAMIALES	Acanthaceae	Justicia americana	1	1	1
LAMIALES	Acanthaceae	Thunbergia alata	1	0	1
LAMIALES	Lentibulariaceae	Pinguicula moranensis	1	1	1
LAMIALES	Lentibulariaceae	Utricularia alpina	1	0	0
LAMIALES	Byblidaceae	Byblis liniflora	1	1	1
LAMIALES	Lamiaceae	Callicarpa dichotoma	1	1	1
LAMIALES	Lamiaceae	Lamium amplexicaule	1	1	1
LAMIALES	Phrymaceae	Mazus pumilus	1	1	1
LAMIALES	Phrymaceae	Phryma leptostachya	1	1	1
LAMIALES	Orobanchaceae	Pedicularis foliosa	1	1	1
LAMIALES	Paulowniaceae	Paulownia tomentosa	1	1	1
LAMIALES	Thomandersiaceae	Thomandersia laurifolia	1	1	1
LAMIALES	Verbenaceae	Junellia succulentifolia	1	1	1
LAMIALES	Bignoniaceae	Campsis radicans	1	1	1
LAMIALES	Bignoniaceae	Catalpa speciosa	1	0	1
LAMIALES	Martyniaceae	Martynia annua	1	1	1
LAMIALES	Pedaliaceae	Sesamum indicum	1	1	1
LAMIALES	Plantaginaceae	Antirrhinum majus	1	1	1
LAMIALES	Plantaginaceae	Plantago lanceolata	1	1	1
LAMIALES	Plantaginaceae	Veronica anagallisaquatica	1	1	1
LAMIALES	Scrophulariaceae	Myoporum mauritianum	1	1	1
LAMIALES	Scrophulariaceae	Scrophularia californica	1	1	1

LAMIALES	Scrophulariaceae	Verbascum thapsus	1	1	1
LAMIALES	Stilbaceae	Halleria lucida	1	1	1
LAMIALES	Calceolariaceae	Calceolaria integrifolia	1	1	0
LAMIALES	Gesneriaceae	Rhynchoglossum notonianum	1	1	0
LAMIALES	Gesneriaceae	Titanotrichum oldhamii	1	1	1
LAMIALES	Gesneriaceae	Peltanthera floribunda	1	1	1
LAMIALES	Tethracondraceae	Polypremum procumbens	1	1	1
LAMIALES	Oleaceae	Jasminum simplicifolium	1	1	0
LAMIALES	Oleaceae	Syringa vulgaris	1	1	1
LAMIALES	Oleaceae	Olea europaea	1	1	1
LAMIALES	Plocospermataceae	Plocosperma buxifolium	1	1	1
LAMIALES	Boraginaceae	Borago officinalis	1	1	1
LAMIALES	Boraginaceae	Ehretia acuminata	1	1	1
LAMIALES	Boraginaceae	Hydrophyllum capitatum	1	1	1
SOLANALES	Solanaceae	Atropa belladonna	1	1	1
SOLANALES	Solanaceae	Solanum dulcamara	1	1	1
SOLANALES	Solanaceae	Nicotiana tabacum	1	1	1
SOLANALES	Solanaceae	Nolana humifusa	1	1	1
SOLANALES	Solanaceae	Petunia axillaris	1	1	1
SOLANALES	Convolvulaceae	Cuscuta cuspidata	1	1	1
SOLANALES	Convolvulaceae	Ipomoea alba	1	1	1
SOLANALES	Hydroleaceae	Hydrolea ovata	1	1	1
SOLANALES	Sphenocleaceae	Sphenoclea zeylanica	1	1	1
SOLANALES	Montiniaceae	Montinia caryophyllacea	1	1	1
GENTIANALES	Rubiaceae	Coffea arabica	1	1	1
GENTIANALES	Rubiaceae	Galium aparine	0	0	0
GENTIANALES	Rubiaceae	Mitchella repens	1	1	1
GENTIANALES	Rubiaceae	Luculia gratissima	1	1	1
GENTIANALES	Gentianaceae	Exacum affine	1	1	1

GENTIANALES	Gentianaceae	Gentiana saponaria	1	1	1
GENTIANALES	Apocynaceae	Nerium oleander	1	1	1
GENTIANALES	Gelsemiaceae	Gelsemium sempervirens	1	1	1
GENTIANALES	Loganiaceae	Spigelia marilandica	1	1	1
GENTIANALES	Loganiaceae	Strychnos nuxvomica	1	1	1
VAHLIACEAE	Vahliaceae	Vahlia capensis	1	1	1
ONCOTHEACEAE	Oncothecaceae	Oncotheca balansae	1	1	1
ERICALES	Actinidiaceae	Actinidia chinensis	1	0	0
ERICALES	Roridulaceae	Roridula gorgonias	1	1	1
ERICALES	Sarraceniaceae	Sarracenia purpurea	1	1	1
ERICALES	Ericaceae	Arbutus canariensis	1	1	1
ERICALES	Ericaceae	Rhododendron hippophaeoides	1	1	1
ERICALES	Ericaceae	Vaccinium uliginosum	1	1	1
ERICALES	Ericaceae	Enkianthus campanulatus	1	1	1
ERICALES	Cyrillaceae	Cyrilla racemiflora	1	1	1
ERICALES	Clethraceae	Clethra alnifolia	1	1	1
ERICALES	Diapensiaceae	Galax urceolata	1	1	1
ERICALES	Styracaceae	Halesia carolina	1	1	1
ERICALES	Styracaceae	Styrax officinalis	1	1	1
ERICALES	Symplocaceae	Symplocos zizyphoides	1	1	1
ERICALES	Theaceae	Camellia sinensis	1	1	1
ERICALES	Pentaphylacaceae	Eurya japonica	1	1	1
ERICALES	Pentaphylacaceae	Ternstroemia stahlii	1	1	1
ERICALES	Myrsinaceae	Anagallis tenella	1	1	1
ERICALES	Primulaceae	Androsace spinulifera	1	1	1
ERICALES	Primulaceae	Primula sieboldii	1	1	1
ERICALES	Primulaceae	Clavija eggersiana	1	1	1
ERICALES	Primulaceae	Maesa tenera	1	1	1
ERICALES	Ebenaceae	Diospyros lotus	1	1	1

ERICALES	Ebenaceae	Euclea crispa	1	1	1
ERICALES	Ebenaceae	Lissocarpa benthamii	1	1	1
ERICALES	Sapotaceae	Manilkara zapota	1	0	0
ERICALES	Polemoniaceae	Cobaea scandens	1	1	1
ERICALES	Polemoniaceae	Gilia capitata	1	1	1
ERICALES	Polemoniaceae	Phlox longifolia	1	1	1
ERICALES	Polemoniaceae	Polemonium reptans	1	1	1
ERICALES	Fouquieriaceae	Fouquieria splendens	1	1	1
ERICALES	Lecythidaceae	Barringtonia asiatica	1	0	1
ERICALES	Lecythidaceae	Couroupita guianensis	1	0	0
ERICALES	Balsaminaceae	Impatiens repens	1	1	1
ERICALES	Tetrameristaceae	Tetramerista crassifolia	1	1	1
ERICALES	Marcgraviaceae	Marcgravia trinitatis	1	1	1
CORNALES	Cornaceae	Alangium chinense	1	1	1
CORNALES	Cornaceae	Cornus mas	1	1	1
CORNALES	Nyssaceae	Camptotheca acuminata	1	1	1
CORNALES	Nyssaceae	Nyssa ogeche	1	1	1
CORNALES	Curtisiaceae	Curtisia dentata	1	1	1
CORNALES	Grubbiaceae	Grubbia tomentosa	0	0	0
CORNALES	Loasaceae	Eucnide bartonioides	1	1	1
CORNALES	Loasaceae	Mentzelia lindleyi	1	1	1
CORNALES	Loasaceae	Petalonyx nitidus	1	1	1
CORNALES	Hydrangeaceae	Fendlera rupicola	1	1	1
CORNALES	Hydrangeaceae	Hydrangea macrophylla	1	1	1
CORNALES	Hydrangeaceae	Philadelphus lewisii	1	1	1
CORNALES	Hydrostachyaceae	Hydrostachys multifida	0	0	0
BERBERIDOPSIDALE S	Aextoxicaceae	Aextoxicon punctatum	1	1	1
BERBERIDOPSIDALE S	Berberidopsidaceae	Berberidopsis corallina	0	0	0

CARYOPHYLLALES	Cactaceae	<i>Opuntia microdasys</i>	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Cactaceae	<i>Pereskia aculeata</i>	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Portulacaceae	<i>Portulaca grandiflora</i>	1	0	1
CARYOPHYLLALES	Talinaceae	<i>Talinum paniculatum</i>	1	0	1
CARYOPHYLLALES	Didieraceae	<i>Alluaudia procera</i>	1	0	1
CARYOPHYLLALES	Basellaceae	<i>Anredera cordifolia</i>	1	0	1
CARYOPHYLLALES	Basellaceae	<i>Basella alba</i>	1	1	1
CARYOPHYLLALES	Halophytaceae	<i>Halophytum ameghinoi</i>	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Montiaceae	<i>Claytonia virginica</i>	1	0	1
CARYOPHYLLALES	Molluginaceae	<i>Hypertelis spergulacea</i>	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Molluginaceae	<i>Mollugo verticillata</i>	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Barbeuiaceae	<i>Barbeuia madagascariensis</i>	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Nyctaginaceae	<i>Bougainvillea glabra</i>	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Nyctaginaceae	<i>Mirabilis jalapa</i>	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Phytolaccaceae	<i>Rivina humilis</i>	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Phytolaccaceae	<i>Phytolacca americana</i>	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Sarcobataceae	<i>Sarcobatus vermiculatus</i>	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Gisekiaceae	<i>Gisekia africana</i>	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Aizoaceae	<i>Delosperma echinatum</i>	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Aizoaceae	<i>Lampranthus blandus</i>	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Lophiocarpaceae	<i>Corbichonia decumbens</i>	1	1	0
CARYOPHYLLALES	Limeaceae	<i>Limeum africanum</i>	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Stegospermataceae	<i>Stegnosperma halimifolium</i>	1	1	1
CARYOPHYLLALES	Amaranthaceae	<i>Beta vulgaris</i>	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Amaranthaceae	<i>Celosia argentea</i>	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Amaranthaceae	<i>Spinacia oleracea</i>	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Achatocarpaceae	<i>Phaulothamnus spinescens</i>	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Caryophyllaceae	<i>Stellaria media</i>	1	1	1
CARYOPHYLLALES	Asteropeiaceae	<i>Asteropeia micraster</i>	1	1	1

CARYOPHYLLALES	Physenaceae	Physena madagascariensis	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Simmondsiaceae	Simmondsia chinensis	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Rhabdodendraceae	Rhabdodendron amazonicum	1	1	1
CARYOPHYLLALES	Ancistrocladaceae	Ancistrocladus korupensis	1	1	1
CARYOPHYLLALES	Dioncophyllaceae	Triphyophyllum peltatum	1	1	1
CARYOPHYLLALES	Drosophyllaceae	Drosophyllum lusitanicum	1	1	1
CARYOPHYLLALES	Droseraceae	Drosera capensis	1	1	1
CARYOPHYLLALES	Nepenthaceae	Nepenthes alata	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Polygonaceae	Fagopyrum esculentum	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Polygonaceae	Fallopia sachalinensis	0	0	0
CARYOPHYLLALES	Plumbaginaceae	Limonium arborescens	1	1	1
CARYOPHYLLALES	Plumbaginaceae	Plumbago auriculata	1	1	1
CARYOPHYLLALES	Frankeniaceae	Frankenia pulverulenta	1	1	1
CARYOPHYLLALES	Tamaricaceae	Tamarix chinensis	1	1	1
SANTALALES	Coulaceae	Coula edulis	1	0	1
SANTALALES	Coulaceae	Minquartia guianensis	1	1	1
SANTALALES	Coulaceae	Ochanostachys amentacea	1	1	1
SANTALALES	Loranthaceae	Gaiadendron punctatum	0	0	0
SANTALALES	Misodendraceae	Misodendrum linearifolium	0	0	0
SANTALALES	Schoepfiaceae	Schoepfia schreberi	1	1	1
SANTALALES	Opiliaceae	Opilia amentacea	1	1	1
SANTALALES	Santalaceae	Osyris lanceolata	0	0	0
SANTALALES	Santalaceae	Santalum album	0	0	0
SANTALALES	Olacaceae	Ximenia americana	1	1	1
SANTALALES	Olacaceae	Heisteria parvifolia	1	1	1
DILLENIALES	Dilleniaceae	Dillenia retusa	1	1	1
DILLENIALES	Dilleniaceae	Hibbertia volubilis	1	1	1
DILLENIALES	Dilleniaceae	Tetracera asiatica	1	1	0
GUNNERALES	Gunneraceae	Gunnera hamiltonii	1	0	0

GUNNERALES	Myrothamnaceae	Myrothamnus flabellifolia	0	0	0
BUXALES	Buxaceae	Buxus sempervirens	0	0	0
BUXALES	Buxaceae	Pachysandra procumbens	0	0	0
BUXALES	Didymelaceae	Didymeles perrieri	0	0	0
TROCHODENDRALES	Trochodendraceae	Tetracentron sinense	0	0	0
TROCHODENDRALES	Trochodendraceae	Trochodendron aralioides	0	0	0
PROTEALES	Proteaceae	Grevillea robusta	0	0	0
PROTEALES	Proteaceae	Roupala montana	0	0	0
PROTEALES	Proteaceae	Petrophile canescens	0	0	0
PROTEALES	Platanaceae	Platanus occidentalis	1	0	0
PROTEALES	Nelumbonaceae	Nelumbo lutea	0	0	0
SABIALES	Sabiaceae	Meliosma veitchiorum	1	1	0
SABIALES	Sabiaceae	Sabia swinhoei	1	1	1
RANUNCULALES	Eupteleaceae	Euptelea polyandra	0	0	0
RANUNCULALES	Lardizabalaceae	Akebia quinata	0	0	0
RANUNCULALES	Lardizabalaceae	Lardizabala biternata	1	0	0
RANUNCULALES	Lardizabalaceae	Sargentodoxa cuneata	1	0	0
RANUNCULALES	Circaeasteraceae	Circaeaster agrestis	0	0	0
RANUNCULALES	Circaeasteraceae	Kingdonia uniflora	0	0	0
RANUNCULALES	Berberidaceae	Caulophyllum thalictroides	1	0	0
RANUNCULALES	Berberidaceae	Nandina domestica	1	0	0
RANUNCULALES	Berberidaceae	Podophyllum peltatum	1	0	0
RANUNCULALES	Berberidaceae	Mahonia bealei	1	0	0
RANUNCULALES	Ranunculaceae	Glaucidium palmatum	0	0	0
RANUNCULALES	Ranunculaceae	Hydrastis canadensis	0	0	0
RANUNCULALES	Ranunculaceae	Ranunculus acris	1	1	1
RANUNCULALES	Ranunculaceae	Xanthorrhiza simplicissima	1	1	1
RANUNCULALES	Menispermaceae	Cissampelos pareira	1	1	1
RANUNCULALES	Menispermaceae	Cocculus orbiculatus	1	0	0

RANUNCULALES	Menispermaceae	Menispermum canadense	1	0	0
RANUNCULALES	Menispermaceae	Tinospora sinensis	1	0	0
RANUNCULALES	Papaveraceae	Decaisnea fargesii	0	0	0
RANUNCULALES	Papaveraceae	Dicentra eximia	1	0	1
RANUNCULALES	Papaveraceae	Hypecoum imberbe	1	0	1
RANUNCULALES	Papaveraceae	Eschscholzia californica	1	0	1