



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**TASAS DE SUTITUCIÓN EN ROSIDAE
(ANGIOSPERMAE; EUDICOTYLEDONEAE)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**B I Ó L O G A
P R E S E N T A:**

**Carla Sofía
Sandoval Ferrera**



**DIRECTOR DE TESIS:
Dra. SUSANA AURORA MAGALLÓN PUEBLA**

México, D.F., agosto 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Hoja de Datos del Jurado

<p>1. Datos del alumno Sandoval Ferrera Carla Sofía 55494492 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Ciencias Biología 300502194</p>
<p>2. Datos del tutor Dra. Susana Aurora Magallón Puebla</p>
<p>3. Datos del sinodal 1 Dr. Daniel Ignacio Piñero Dalmau</p>
<p>4. Datos del sinodal 2 Dr. Arturo Carlos II Becerra Bracho</p>
<p>5. Datos del sinodal 3 Dra. León Patricio Martínez Castilla</p>
<p>6. Datos del sinodal 4 Biol. Lev Orlando Jardón Barbolla</p>
<p>7. Datos del trabajo escrito "Tasas de sustitución en Rosidae (Angiospermae; Eudicotyledoneae)" 120 p. 2009</p>

TABLA DE CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN

I.I La evolución molecular

- A. El estudio de los patrones de evolución molecular a partir de los patrones de sustitución

I.II Tasas de sustitución molecular

- A. Métodos analíticos
- B. Métodos de máxima verosimilitud basados en un modelo de sustitución de codones

I.III Tasas de sustitución en plantas (utilizando genes de cloroplasto)

I.IV Nuestros genes de estudio: *atpB*, *matK* y *rbcL*

I.V Nuestro grupo de estudio: Rosidae

- A. Sustento filogenético
- B. Composición del grupo
- C. Importancia del grupo

II. OBJETIVOS

III. HIPÓTESIS

IV. JUSTIFICACIÓN

V. METODOLOGÍA

- V.I Obtención y alineación de secuencias de Rosidae
- V.II Selección del modelo de sustitución molecular
- V.III Estimación filogenética
- V.IV Estimación de tasas relativas de sustitución sinónima y no sinónima

A. Intervalos de confianza

V.V Relación entre las tasas relativas de sustitución y atributos

Específicos (ciclo y hábito de vida)

VI. RESULTADOS

VI.I Selección del modelo de sustitución molecular

VI.II Estimación filogenética

VI.III Estimación de tasas relativas de de sustitución sinónima y
no sinónima

A. Análisis de genes concatendos

B. Análisis de genes independientes

VI.IV Relación entre las tasas relativas de sustitución y atributos
específicos (ciclo y hábito de vida)

A. Ciclo de vida

B. Hábito de vida

VII. DISCUSIÓN

VII.I Patrones de sustitución entre genes

VII.II Heterogeneidad de tasa a lo largo del grupo

VII.IV Relación entre la tasa de sustitución y atributos específicos (ciclo y
hábito de vida)

VII.V Sobre las tasas de sustitución en general y los incrementos
dramáticos observados

IX. REFERENCIAS

X. APÉNDICES

I. INTRODUCCIÓN

I.I La evolución molecular

Desde que Darwin (1859) propuso que los linajes (especies) descendían de ancestros comunes y que era la acumulación de pequeños cambios sobre éstos, durante largos periodos de tiempo, lo que los convertía en especies diferentes, entender el origen de estas variaciones y cuantificarla en los grupos de organismos actuales fue una constante inquietud que posteriormente condujo a que el estudio de la evolución se abordara desde una perspectiva molecular.

La incorporación de nuevas técnicas moleculares, así como avances en la genética, la genética de poblaciones, y la biología molecular, revolucionaron el estudio de la evolución y abrieron nuevas puertas y áreas de investigación como, en este caso, el de la evolución molecular. Esta visión surge de la concepción de que las moléculas “contienen el registro de su historia evolutiva y que esta, a su vez, es completamente informativa como aquella obtenida de los caracteres macroscópicos” (Dickerson, 1971).

El inicio formal del estudio de la evolución a nivel molecular, surgió en respuesta al hallazgo de que existía una enorme variación genética entre poblaciones (Hubby y Lewontin, 1966) tanto en el ADN como en las proteínas. Con esto como antecedente y en contraposición a la percepción de que la selección natural jugaba un papel fundamental en la conservación de la variación genotípica y fenotípica (Dobzhansky, 1955), Motoo Kimura propuso su Teoría Neutral de Evolución Molecular (Kimura, 1968, 1983), la cual plantea que la mayor parte de la variación a nivel molecular es mantenida por la mutación que la genera, y, por la deriva génica que la fija o la elimina.

Según esta teoría, como la mayor proporción de cambios en una proteína o en el DNA son efectivamente neutrales y no tienen efecto sobre la adecuación del organismo, la tasa de cambio de

una proteína, es decir la tasa de acumulación de estas mutaciones neutrales, dependerá únicamente de la tasa de mutación y así se mantendrá constante (Kimura y Ohta, 1971).

Parte de los fundamentos de la Teoría Neutral se basaron en resultados obtenidos por Zuckerkandl y Pauling en 1965, donde al comparar las secuencias de aminoácidos de hemoglobinas de diferentes especies y graficando el número de cambios en aminoácidos contra el tiempo de separación de los linajes estimada a partir del registro fósil, encontraron que los cambios en la proteína presentaban una tasa de evolución molecular constante, con base en lo cual propusieron la existencia de un reloj molecular. Este reloj surge de la observación de que la magnitud de la diferencia entre el DNA de dos especies esta en función del tiempo que ha transcurrido a partir de su separación evolutiva.

Trabajos posteriores mostraron que en vez de constante, la tasa de evolución es altamente variable (Langley y Fitch, 1974, Mindel y Tracker, 1996) y mas bien son pocos los casos donde la constancia en la tasa es evidente. Son numerosos los estudios que ahora demuestran la existencia de una gran variación en la tasa de evolución molecular dentro y entre linajes. El reloj molecular es mas bien un reloj probabilístico y no determinístico, por lo que no podemos esperar una relación lineal entre la distancia genética y el tiempo, ya que son muchos los factores que ahora se conoce que puedan influir en la tasa de evolución molecular.

La variación en la actividad del reloj se debe a la variación del proceso de sustitución molecular producto de la variación de la tasa de mutación o de la variación en los distintos procesos que influyen en la fijación de estas mutaciones, como la selección y la deriva génica. Por otro lado, la tasa de mutación puede verse influenciada por la eficiencia de reparación de la polimerasa y su fidelidad de replicación (Britten, 1986), por la exposición a mutágenos, por las tasas metabólicas (Martin y Palumbi 1993) y por los tiempos generacionales (Mooers et al. 1994). Sin embargo la probabilidad de fijación de las sustituciones se ha correlacionado con distintos procesos y características propias de las especies o de los genes en un momento dado: la magnitud de las fuerzas evolutivas que operan sobre sitios específicos de un gen, sobre sitios dentro un codón o sobre un gen completo

como sucede cuando un gen se convierte en pseudogen, así como la función génica y los tamaños poblacionales (Ohta 1972). Aunque estas causas no necesariamente son excluyentes entre ellas, la importancia relativa de cada uno de estos factores sobre el proceso de sustitución no ha sido totalmente caracterizada.

A. EL ESTUDIO DE LOS PATRONES DE EVOLUCIÓN MOLECULAR A PARTIR DE LOS PATRONES DE SUSTITUCIÓN

El estudio de los patrones de sustitución molecular es de suma importancia para desentrañar misterios acerca de la evolución de las especies. Con la secuenciación masiva que ha habido en la última década, nueva información se ha generado que nos arroja una luz acerca de los patrones evolutivos de las especies y de las moléculas dentro de estas. Esta información nos ha permitido reconstruir historias evolutivas de numerosas especies, relacionar la estructura de numerosas proteínas con sus secuencias génicas, estudiar la evolución de caracteres moleculares, entre otras muchas más.

Dado que el DNA es la molécula que guarda la información sobre los caracteres de un organismo, el estudio del cambio sobre ésta y la caracterización del proceso de sustitución molecular, dentro de genes y entre organismos, es uno de los propósitos centrales de la investigación en evolución. Para lograr ésto, es necesario contar con métodos adecuados que describan de manera fidedigna este proceso. En las últimas dos décadas se han propuesto distintos métodos que pretenden develar los patrones de sustitución para poder estudiar, a su vez, los patrones de evolución molecular.

Existen diversos métodos para estimar las tasas de sustitución de bases en secuencias de DNA, dependiendo en primera instancia si se trata de secuencias codificantes o no codificantes; sin embargo estos métodos convergen en la utilización de un modelo de evolución molecular que intenta describir cómo es el proceso de sustitución molecular, en términos de probabilidades de

cambio entre los distintos nucleótidos (para secuencias no codificantes) o entre los distintos codones (en secuencias codificantes).

Modelos de sustitución

Para poder estimar relaciones filogenéticas con datos moleculares o procesos que pueden verse reflejados en ellas, como lo son las tasas de sustitución, se hace uso de la información contenida en ellas, específicamente de la distancia genética, como medida del grado de similitud o diferencia entre ellas. Sin embargo, es necesario utilizar modelos de sustitución que caractericen el proceso de sustitución para obtener medidas reales o cercanamente reales del número de cambios o de la distancia genética entre las secuencias, pues éstas pueden ocultar cambios ocurridos sobre ellas sobre todo si ha transcurrido mucho tiempo (“multiple-hits; la ocurrencia de dos o mas sustituciones sobre un mismo sitio de la secuencia”). Los distintos modelos de sustitución, con parámetros de probabilidades de transición de una base a otra, pueden acercarnos a estimar la distancia real entre las secuencias. Existen distintos modelos de sustitución que se enfocan en la sustitución de aminoácidos, codones o nucleótidos individuales.

Modelos de sustitución nucleotídica

Se presume que la sustitución nucleotídica sigue un proceso homogéneo de Markov, es decir, la probabilidad de cambio de un nucleótido (estado i) a otro (estado j) en un sitio dado de la secuencia, no depende de la historia del sitio antes de que su estado fuera i (propiedad markoviana) y, las probabilidades de sustitución no cambian en diferentes partes del árbol (procesos homogéneo). Este proceso puede estar especificado mediante una matriz Q , cuyos elementos (Q_{ij}) representan tasas de cambio instantáneas de una base a otra durante un tiempo t infinitesimalmente pequeño. Las tasas de cambio instantáneas se componen de tres elementos de sustitución: μ que representa la tasa de

sustitución instantánea. Esta es modificada por otro elemento, la tasa relativa: **a, b, c, d, e, f**, que corresponde a cada posible transformación de una base a otra diferente. Y finalmente, los parámetros de frecuencia son incluidos $\pi_A, \pi_C, \pi_T, \pi_G$ los cuales son respectivamente, las frecuencias de las bases A, C, G y T (Yang 1994).

La forma mas general de esta matriz esta especificada por el modelo GTR (General time reversible model, Rodríguez et al. 1990), Los demás modelos de evolución, ponen distintas restricciones sobre la estructura de esta matriz, especificando así distintos parámetros del proceso de sustitución nucleotídica (figura 1).

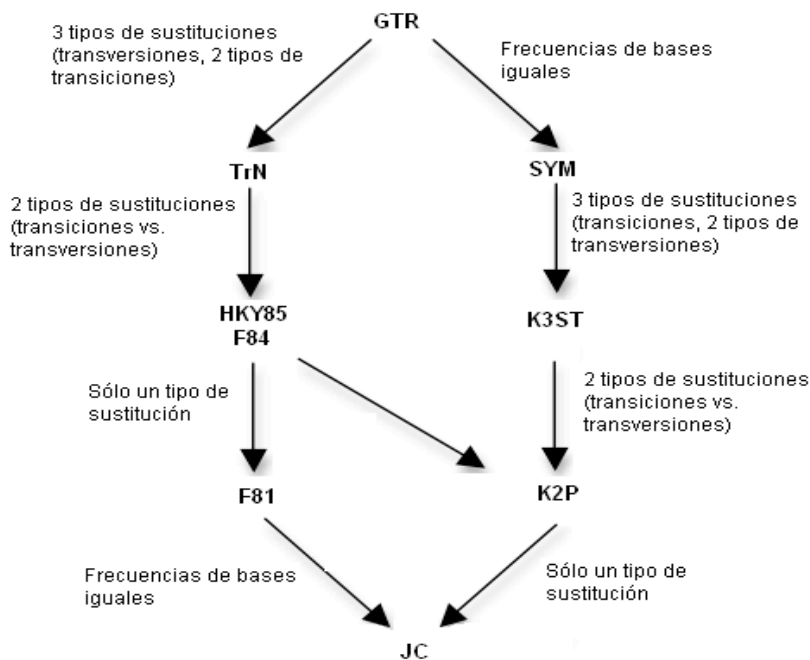


Figura 1. Relación entre los diversos modelos de sustitución. La flechas representan restricciones que convierten un modelo mas general en uno mas específico. Abreviaciones para los modelos: GTR, modelo general reversible en el tiempo (Rodríguez et al., 1990); TrN, modelo de Tamura y Nei (1993); HKY85, modelo de Hasegawa-Kishino-Yano (Hasegawa et al., 1985); F84, modelo de Felsenstein 84 (Felsenstein, 1993; Kishino y Hasegawa,1989); F81, modelo de Felsenstein 1981 (equivalente al modelo de Tajima y Nei, 1982); JC, modelo de Jukes-Cantor (1969); SYM, modelo descrito por Zharkikh (1994); K3ST, modelo de tres tipos de sustitución de Kimura (1980); K2P, modelo de Kimura-2-parámetros (Kimura 1980). Figura tomada de Hillis et al. 1996.

Las matrices características de cada modelo, al incorporar el tiempo, son transformadas en matrices de transición (Hasegawa et al. 1985, Yang 1994) $P(t)$, y son los elementos de esta matriz los que

especifican la probabilidad de cambio entre un estado y otro en un tiempo T ; ésta a su vez es utilizada para estimar la distancia genética o las tasas de sustitución.

Estos modelos son utilizados usualmente para modelar el proceso de sustitución en secuencias no codificantes, aunque también son usadas para modelar a nivel nucleotídico dentro de secuencias codificantes. Sin embargo, se han propuesto nuevos modelos para describir este proceso sobre secuencias codificantes, que tomasen en cuenta al codón como unidad evolutiva y no al nucleótido.

Estos nuevos modelos surgieron simultáneamente que métodos para la estimación de tasas de sustitución, tanto sinónima como no sinónima en este tipo de secuencias, por lo mismo se hará referencia a ellos en el siguiente apartado.

I.II Tasas de sustitución molecular

La tasa de sustitución molecular se define como el número de sustituciones nucleotídicas (esperadas, sinónimas o no sinónimas) por sitio (en la secuencia, sinónimo o no sinónimo) por unidad de tiempo, este concepto también es conocido como tasa relativa de sustitución. Las sustituciones sinónimas se refieren a aquellas que no alteran el producto protéico y las no sinónimas a aquellas que si lo alteran, es decir que la sustitución cae en un sitio de la secuencia del DNA que modifica el codón y ahora éste especifica un aminoácido diferente. Las tasas puede ser divididas en tasas absolutas, donde ya se conocen los tiempos de divergencia de las especies y éstas están medidas en unidades de tiempo, o en tasa relativa, un producto de la tasa absoluta por el tiempo, cuando éste no se conoce. La fechación molecular consiste precisamente en convertir las longitudes de rama de un árbol filogenético, en estimados de tiempos de divergencia, haciendo uso de puntos de calibración absolutos sobre nuestra filogenia (obtenidos del registro fósil o de eventos

biogeográficos) y de un modelo de comportamiento de las tasas de sustitución (reloj molecular estricto o relajado). Se asignan edades a los nodos de la filogenia al separar los componentes de tasa y tiempo en un árbol. La longitud de las ramas, puede dividirse en unidades de tiempo concretas y obtener así, valores de tasa absolutos. Todos los métodos paramétricos actualmente disponibles estiman las longitudes de rama en términos de tasas relativas lo cual hace necesaria la fechación para tener estimados absolutos.

Existen distintos métodos para la estimación de tasas relativas y estos difieren en primera instancia para secuencias no codificantes o codificantes, ya que las segundas podemos separarla en componentes sinónimos y no sinónimos. Estos métodos utilizan la información contenida en el codón, es decir, lo utilizan como unidad evolutiva en lugar de el nucleótido.

Para secuencias codificantes, se puede estimar el número de sustituciones sinónimas y no sinónimas por sitio, mediante métodos analíticos (Nei y Gojobori 1986; Li et al. 1985; Miyata y Yasunaga 1980) que, aunque trabajan a nivel de codón para estimar las tasas, utilizan modelos de sustitución nucleotídica. Alternativamente, se puede estimar mediante métodos que hacen uso del principio de Máxima verosimilitud y están basados en un modelo específico de codones (Muse y Gaut 1994; Goldman y Yang 1994).

A. MÉTODOS ANALÍTICOS

Estos métodos, a excepción del propuesto por Nei y Gojobori (1986), toman en consideración la dependencia entre nucleótidos dentro de un codón y la degeneración del código genético. Se clasifican los sitios de cada codón en clases degeneradas: no-degenerado (si todos los posibles cambios en este sitio son no-sinónimos), 2-veces degenerado (si uno de los tres posibles cambios es sinónimo y 4-veces degenerado (si todos los posibles cambios en este sitio son sinónimos) y se infieren los cambios ocurridos entre dos codones homólogos para estimar el número de

sustituciones sinónimas y no-sinónimas a partir del número de transiciones y transversiones (Li et al., 1985) en cada sitio corrigiendo para las sustituciones múltiples utilizando modelos de evolución como el de Jukes-Cantor (1969) o el de Kimura-2-parámetros (Kimura 1980) en el caso de Nei y Gojobori (1986) y Li (Li et al. 1985) respectivamente. Estos métodos usan una aproximación parsimoniosa y escogen un camino de sustituciones nucleotídicas mínimas.

Algunos de estos métodos difieren entre sí, en la probabilidad asignada al camino evolutivo que el codón pudo tomar al compararlo con su homólogo. Li et al. (1985) sugiere un método para asignar distintos pesos a cada camino, tomando en cuenta la frecuencia relativa de cada codón a partir de datos empíricos. Miyata y Yasunaga asignan pesos basados en las diferencias fisicoquímicas entre los aminoácidos que cada codón genera.

B. MÉTODOS DE MÁXIMA VEROSIMILITUD BASADOS EN UN MODELO DE SUSTITUCIÓN DE CODONES

Apartir de la clasificación anterior pueden ocurrir errores; “no tiene sentido clasificar un sitio en base a su degeneración ya que esta pueda variar a lo largo del tiempo, pero sobre todo, es incorrecto que la corrección de las sustituciones múltiples se haga mediante modelos simplistas y parámetros distintos a los que vamos a estimar” (Muse 1996).

En los años 90's se propusieron modelos de sustitución que utilizan simultáneamente la información a nivel nucleotídico en el DNA y la información contenida en el código genético (Goldman y Yang 1994, Muse y Gaut 1999, Muse 1996) y por lo tanto, la información de la sustitución sinónima y no sinónima a nivel de aminoácido. Esto se logró modelando a nivel de codón, y no de nucleótido o aminoácido, como se había hecho antes. Estos nuevos modelos incorporaron la falta de independencia entre sitios vecinos dentro de un codón y la diferencia en tasas de los distintos sitios del codón.

Muse y Gaut (1994) propusieron el primer modelo de evolución basado en codones parametrizado en términos de la sustitución sinónima y no sinónima. Este método utiliza un proceso de Markov continuo en el tiempo para modelar las sustituciones dentro de los codones de una secuencia codificante.

Los estados del proceso de Markov representan la probabilidad de cambio entre los 61 codones con sentido, así, se construye una matriz de tasas instantáneas $Q = q_{ij}$ de 61 x 61 a partir de la cual podemos construir una matriz de transición $P(t) = p_{ij}(t) = e^{Qt}$ para determinar la sustitución en un tiempo T .

Los parámetros del modelo (tasa de sustitución sinónima, tasa de sustitución no sinónima, y frecuencias de los codones) son estimados a partir de los datos por el método de máxima verosimilitud (Felsenstein 1981). Este método supone que cada sitio en la secuencia (en esta caso un codón ocupa un sitio) evoluciona de manera independiente de sus sitios vecinos y de los sitios homólogos en las otras secuencias. De esta forma, el parámetro de máxima verosimilitud es el producto de la máxima verosimilitud de cada uno de los sitios.

Para este modelo, dadas dos secuencias de nucleótidos homólogas, cada una tiene los codones i y j en el sitio k ; la contribución de ese sitio a la verosimilitud es: $L_k = \pi_i P_{ij}(t)$ y la máxima verosimilitud global $L = \prod L_k$.

Se utilizan métodos numéricos estándares para encontrar los valores de los parámetros del modelo que maximicen la función de verosimilitud (Press et al. 1992), es decir, encontrar los valores que maximicen la probabilidad de los datos dados valores de la tasa sinónima, la tasa no sinónima, y la frecuencia de codones. Es importante mencionar que sólo el producto de tasa por tiempo es estimable (Felsenstein 1981).

Aunado al modelo inicial de Muse y Gaut (1994), Goldman y Yang (1994) también propusieron un modelo de codones pero incorporando distintas tasas instantáneas para las transiciones (sustitución

de una purina por una purina, o de una pirimidina por una pirimidina) y para las transversiones (sustitución de una purina por una pirimidina y viceversa). De igual manera, Niesel y Yang (1998), Yang y Nielsen (2000, 2002) proponen modelos mas complejos de codones que incorporan factores de corrección para denotar tanto diferencias en las tasas de transiciones y transversion, como diferencias en la probabilidad de cambios sinónimos y no sinónimos. Podría decirse que estos modelos, por sus propiedades, son modelos de Muse y Gaut combinados con un modelo HKY85, es decir, modelan a nivel de codón y se acepta la diferencia en tasas sinónimas y no sinónimas, pero en sus parámetros se incorporan además aquellos especificados por el modelo de HKY85 (diferencias en tasas de transición y transversion y diferencia en la frecuencia de bases).

I.III Tasas de sustitución en plantas (utilizando genes de cloroplasto)

Las plantas representan un modelo fascinante para los evolucionistas moleculares gracias a la presencia de tres genomas en estos organismos. Estudiar las tasas y los patrones de evolución molecular entre genomas es importante y ha sido de gran interés en las últimas dos décadas. Sin embargo, debido a que los estudios de patrones moleculares hacen uso de las secuencias, y éstas son generadas en su mayoría para los estudios filogenéticos, no es sorprendente que los estudios de tasas de sustitución se hayan enfocado primordialmente a los genes de cloroplasto. Estos se emplean principalmente en la estimación filogenética debido a que sus tasas de sustitución son lo suficientemente lentas para desentrañar antiguas divergencias, y no presentan inconvenientes como aquellos del genoma nuclear (múltiples copias de genes) y mitocondrial (tasas excesivamente lentas).

Wolfe et al. (1987) fueron los primeros en caracterizar las tasas de sustitución en los tres genomas, utilizando 31 genes y empleando plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas. Encontró que los genes nucleares evolucionan más rápidamente que los de cloroplasto, y que los genes mitocondriales eran los que evolucionaban más lento (150 veces más lento que los nucleares). Esto representa un contraste con el genoma mitocondrial en animales, pues en estos los genes mitocondriales son los que evolucionan más rápido (Besole et al. 1999, Crawford 2003, Williams et al. 2003). Este análisis fue muy importante al revelar dos características persistentes de la tasa de sustitución en plantas: una, que los tres genomas evolucionan a tasas diferentes, especialmente el genoma nuclear respecto al del cloroplasto y mitocondrial, y en segundo lugar, que los genes de un mismo genoma presentan gran variación de tasas.

La mayoría de los estudios posteriores sobre tasas de sustitución en plantas utilizando genes de cloroplasto pretendieron dos cosas: caracterizar el patrón de las tasas (tanto sinónimas como no sinónima) en distintos linajes, estudiando las tasas de sustitución de distintos genes para un mismo linaje, y, caracterizar el patrón de tasas de sustitución en distintos genes, estudiando si la tasa de sustitución de un mismo gen variaba o se conservaba en distintos linajes.

El estudio de las tasas hace distinción entre sinónima y no sinónima, cuando secuencias codificantes son utilizadas, esto se debe a que cada una sigue un comportamiento diferente y está determinada por distintos procesos. Las tasas sinónimas en secuencias codificantes han resultado consistentemente más altas que las no sinónimas en la mayoría de los trabajos. Este resultado es consistente con el hecho de que las sustituciones no sinónimas afectan la secuencia de la proteína codificada por el gen, lo cual pudiera resultar en la pérdida de función de la misma. En este caso puede ser la selección natural, el proceso que determine su patrón en distintos genes. Las sustituciones sinónimas, por otra parte, al no afectar la secuencia proteica, presentan casi siempre valores más altos que las tasas no sinónimas y será en este caso, otros factores lo que determinen su

comportamiento. Por lo mismo, los estudios que pretenden encontrar patrones de sustitución en linajes o en distintos genes, hacen esta distinción.

Los primeros estudios que estudiaron la tasa de sustitución relativa entre linajes fueron de Gaut et al. (1992). Ellos utilizaron el gen de cloroplasto *rbcL* para este fin y encontraron extensa variación en la tasa sinónima de 35 monocotiledóneas, siendo la familia de los pastos la que presentara una tasa más rápida, en comparación con las palmas. Busquet et. al. (1992) por otra parte encontró evidencia de heterogeneidad de tasas relativas entre linajes (monocotiledóneas, dicotiledóneas y gimnospermas) tanto para sustituciones sinónimas como para no-sinónimas, en este mismo gen. Debido a que ambos análisis se basaban en métodos estadísticos simplistas de estimación de tasas (Busquet empleo el método de Li para la estimación de tasas y Gaut solo tomo en cuenta la 3ª posición del codón para comparar las tasas sinónimas). Muse (2000) repitió ambos análisis utilizando el modelo de codones (Muse y Gaut 1994). Los resultados coincidieron en su mayoría con la de ambos estudios previos, aunque Muse logró encontrar heterogeneidad de tasa no sinónima para las monocotiledóneas, aunque en menor magnitud que aquella presentada por las sinónimas.

Gaut et al. (1993) compararon las tasas de sustitución de 40 loci distribuidos a lo largo del genoma de cloroplasto en el maíz, arroz y tabaco y encontraron que, para la vasta mayoría de genes, la familia de los pastos (arroz y maíz) muestra un incremento en las tasas de sustitución en comparación con el tabaco. De igual manera, Muse y Gaut (1994) analizaron las secuencias del genoma del cloroplasto para el arroz, tabaco y pino. Consistentemente con los resultados de Gaut et al. (1993, 1992), encontraron que los pastos muestran aceleraciones en las tasas de sustitución. Estos resultados mostraron claramente que la aceleración en la familia de los pastos es un efecto de linaje; el resultado de un factor que afecta simultáneamente a todos los genes de un grupo de organismos cercanamente relacionados (Muse 2000). Se han hecho pocos estudios más para evaluar esta heterogeneidad y se ha encontrado consistentemente (Muse y Gaut 1997, Laroche et al. 1997, Eyre-Walker y Gaut 1997, Laroche y Busquet 1999, Whittle y Johnston 2002).

Aunque los estudios de Bousquet et al. (1992), Gaut et al. (1993), Muse y Gaut (1994) demostraron claramente la presencia de efectos de linaje en las tasas de sustitución de plantas, no investigaron si estas tasas de sustitución relativas entre linajes se mantenían para distintos genes. Con la finalidad de determinar si un solo mecanismo evolutivo era suficiente para explicar la variación entre el genoma del maíz, tabaco y pino, Muse y Gaut (1997) compararon las tasas de los genes utilizados en los estudios anteriores para ver si su tasa se conservaba o variaba en estos linajes. Se encontró que en la tasa no sinónima no había casi conservación de ésta, es decir, en un mismo linaje, las tasas de los distintos genes variaban no proporcionalmente. Esto sugiere que las tasas no sinónimas están bajo efectos específicos de cada locus, pudiendo ser en este caso, la selección natural que actúa sobre los genes codificantes de distinta manera. Se encontró que las tasas sinónimas variaban en proporción o estaban conservadas en la mayoría de los genes de cloroplasto, revelando en este caso un efecto de linaje, lo cual demuestra que factores individuales son capaces de crear fenómenos a nivel de genoma (Muse 2000), por lo menos en el caso de las sustituciones sinónimas.

Con la finalidad de entender un poco más los factores causales de la heterogeneidad de tasas encontrada entre linajes, varios trabajos intentaron correlacionar las tasas de sustitución con atributos específicos propios de las especies. Aunque la causa de esta heterogeneidad aún no es clara, algunos factores que influyen son las tasas de mutación y la probabilidad de fijación de las mutaciones, se han propuesto como determinantes (aunque no se sabe en que medida) en dichos patrones. El tiempo generacional y efectos de las tasas de especiación, así como la fidelidad de la replicación del DNA y la frecuencia del daño ocurrido sobre este, la eficiencia de la reparación del DNA y cambios en los tamaños poblacionales (Britten 1986, Martin y Palumbi 1993, Eyre-Walker y Gaut 1997, Gaut et al. 1997), son los frecuentemente propuestos. Estos factores afectarían preferencialmente a las tasas sinónimas. Debido a que muchas de estas hipótesis son imposibles de evaluar en este momento, encontrar una relación entre ciclo de vida o el hábito de vida (que se relacionan con algunas de estas características) y las tasas de sustitución, ha sido un intento válido

para tratar de entender un poco el proceso de heterogeneidad en las tasas entre los distintos linajes, aunque los resultados no han sido siempre claros.

Diversos autores han encontrado diferencias entre las tasas de sustitución, tanto de las plantas con hábito de vida herbáceo en comparación con aquellas de hábito leñoso (Laroche et al. 1997, Kay et al. 2006, Smith et al. 2008), como entre plantas de ciclo de vida anual comparadas con plantas de ciclo perene (Ainouche y Bayer 1999, Andreasen y Baldwin 2001, Bousquet et al. 1992, Laroche y Bousquet 1999, Soria-Herranz et al. 2008). Estas diferencias han sido atribuidas a diferencias en el tiempo generacional o en los tamaños poblacionales. La hipótesis de tiempo generacional propone que aquellos organismos con tiempo generacionales más cortos presentarán tasas de sustitución más altas que aquellas con tiempo generacionales mayores (Kimura 1983, Wu y Li 1985). Esta predicción es pertinente en sistemas biológicos con una replicación de la línea germinal determinada puesto que organismos con tiempos generacionales mas cortos experimentan mas divisiones germinales por unidad de tiempo y por lo tanto, una tasa de mutación neutral por unidad de tiempo más alta. Como las plantas anuales y las herbáceas presentan menor tiempo generacional (tiempo que transcurre desde la germinación hasta la primera floración) que las perennes y las leñosas respectivamente, se supone que éstas primeras también experimentarán frecuencias más altas de replicación celular por unidad de tiempo y por lo tanto, exhibirán tasas de sustitución más altas en comparación con las perennes y las leñosas. Aunque la hipótesis de tiempo generacional en plantas ha sido altamente discutida, puesto que en éstos organismos no hay distinción entre células somáticas y germinales y las mutaciones somáticas pueden ser transmitidas a los gametos, numerosos estudios han encontrado una relación inversamente proporcional entre el tiempo generacional y la tasas de sustitución (Andreasen y Baldwin 2001, Eyre-Walker y Gaut 1997, Muse y Gaut 1997, Soria-Herranz et al. 2008, Smith et al. 2008).

Además del tiempo generacional, los tamaños poblacionales también han sido correlacionados con las tasas de sustitución debido a las diferencias en los efectos de la tasa de especiación que

presentan poblaciones de distinto tamaño. Se ha propuesto que en aquellos organismos con tamaños poblacionales pequeños, como las plantas anuales, probablemente generan más especies que las perennes (Levin y Wilson 1976, Levin 1988, Govindaraju 1989). Y si cuellos de botella genéticos u organización genómica acompañan a la especiación, esto podrá acelerar la fijación de nuevas variantes por lo que estos organismos mostrarían tasas de sustitución mas altas. “Aunque las consecuencias genéticas de la especiación no se han entendido del todo bien en plantas, las plantas anuales parecen desarrollar mecanismos más fuertes de aislamiento post-cigótico que las perennes y parecen sufrir cambios ecológicos y efectos fundadores durante la especiación.” (Bousquet et al. 1992). En contraste, la especiación en las perennes, ocurre con menor frecuencia vía el aislamiento lento de poblaciones alopátricas grandes (Barton y Charlesworth, 1984).

En vista de lo anterior, se predice que las plantas herbáceas presenten tasas de sustitución mayores que las leñosas por tener tiempos generacionales mas cortos que estas . Las plantas anuales, de igual manera, presentarán tasas de sustitución mayores que las perennes puesto que éstas, además de tener tiempos generacionales más cortos, también tienen tamaños poblacionales más chicos que las perennes, lo cual puede afectar sus tasas. Estas hipótesis serán puestas a prueba en la presente tesis al examinar el patrón de sustitución de distintos genes en varios linajes de angiospermas.

I.IV Nuestro genes de estudio: *atpB*, *matK* y *rbcL*

La naturaleza no recombinante y la herencia uniparental (en su mayoría) del genoma de cloroplasto hace que sea una herramienta atractiva útil para estudios evolutivos. Los cloroplastos han mantenido un genoma independiente, aunque con transferencias génicas al núcleo sucesivas, que codifica para una importante parte de las proteínas requeridas por la actividad fotosintética y bioenergética, así como para proteínas con diferentes funciones de regulación (“housekeeping”). Aunque el genoma varía entre 120 y 170 pares de kilobases (kb) existe un grado relativamente alto

de conservación en su tamaño, estructura, contenido génico y orden lineal de los genes en las plantas terrestres (Bownie y Palmer 1992). Típicamente el genoma del cloroplasto consta de 100-250 genes repartidos en una de las dos regiones invertidas (IR, “inverted repeat”) o en las regiones de genes de un sola copia (SSC, “single-copy region” o LSC “large single-copy region”) (Sigura 1995); (Figura 2). Se ha visto que estas regiones evolucionan a tasas diferentes, las regiones de una sola copia mas rápido que las IR (Wolfe 2002). Esto, aunado a que las primeras regiones caracterizadas para el cloroplasto pertenecen a las de una sola copia, condujo a que los genes dentro de éstas regiones hayan sido los más utilizados para estudios evolutivos y filogenéticos.

Los tres genes que utilizamos en este estudio, *atpB*, *matK* y *rbcL*, se encuentran en la región LSC del cloroplasto (Figura 2). Los genes *atpB* y *rbcL* codifican para productos necesarios para las funciones del cloroplasto. El gen *rbcL* codifica para la subunidad grande de la ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa (RUBISCO), una enzima clave que participa en la fijación del carbono durante la fotosíntesis (Miziorko 1983). Por su parte, el gen *atpB* codifica para la subunidad β de la ATP-sintasa, una proteína altamente conservada que acopla la translocación de protones a través de la membrana para la síntesis de ATP (Zurawski et al. 1982).

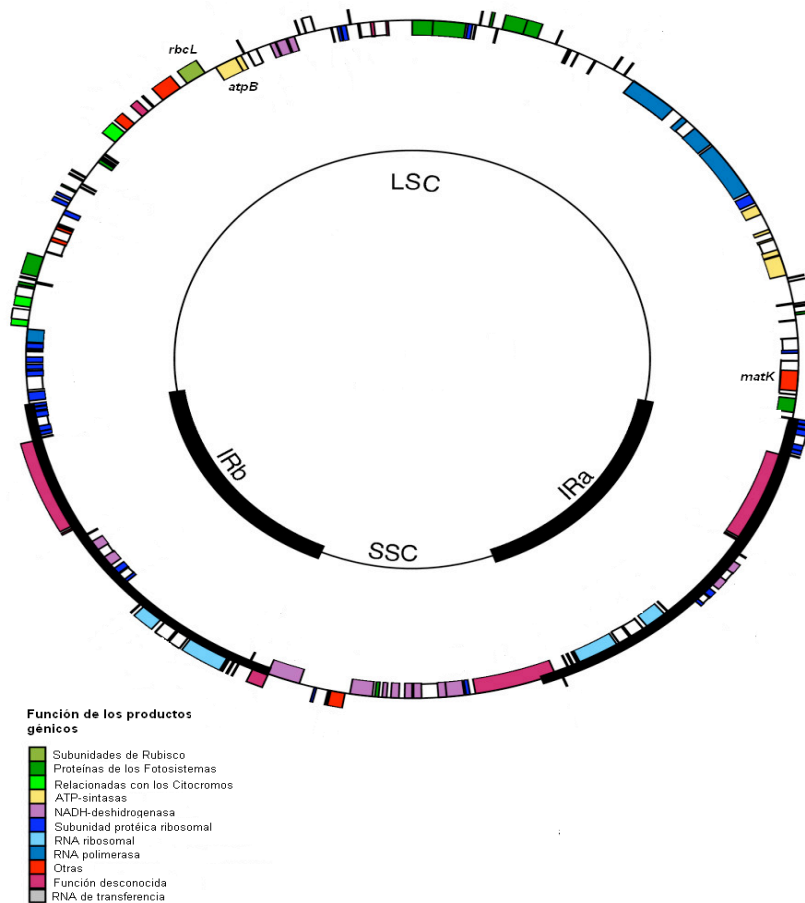


Figura 2. Mapa del cloroplasto de *Citrus sinensis* (Bausher et al. 2006). Los cuadros de color corresponden a los distintos genes. LSC: región grande de una sola copia (“Large single copy region”). SSC: region pequeña de una sola copia (“Small single-copy region). IR: región invertida (“Inverted repeat”).

Debido a que tienen tasas de evolución relativamente conservadas, ambos marcadores han sido utilizados en la inferencia filogenética de la mayoría de los estudios moleculares de plantas. El gen *rbcL*, ha sido el marcador más utilizado en los trabajos pioneros sobre tasas de sustitución.

El gen *matK* por su parte, tiene una función mas enigmática. *matK* se encuentra embebido dentro del intrón de *trnK* que codifica para el tRNA-lisina (UUU). En su secuencia se observa la presencia de una región conservada en el extremo 3 con homología al dominio X de las maturasas mitocondriales de los intrones del grupo II. Estas enzimas que catalizan la remoción de los pre-RNAs, el domino X es aquel donde la actividad catalítica se lleva a cabo (Neuhaus y Link 1987).

Esto y la presencia de una region N-terminal que contiene remanentes de un dominio de reverso-transcripción (dominio RT) común en las maturasas de intrones del grupo II (Barthet y Hilu 2008), sugiere una actividad de maturasa de intrones del grupo II en el cloroplasto para el gen *matK*.

Este gen presenta una tasa de evolución mayor que los otros dos genes y ha sido útil en la estimación filogenética para desentrañar relaciones basales en las angiospermas así como relaciones a nivel de género (Hilu et al. 2003).

Existen muchas secuencias disponibles para estos tres genes dada su utilidad en la inferencia filogenética y por eso pueden realizarse muchos estudios de tasas de sustitución sobre ellos.

I.V Nuestro grupo de estudio: Rosidae

El clado de las angiospermas (Angiospermae, Cantino et al. 2007) es el grupo de mayor tamaño dentro de las plantas terrestres comprendiendo alrededor de 250,000 especies. Después de veinte años de numerosos estudios filogenéticos que intentaban revelar las relaciones dentro de sus grandes clados utilizando datos moleculares (revisados en Soltis et al. 2005), ya se cuenta con propuestas de las relaciones dentro de ellas, a diversos niveles, que han sido bastante aceptadas (e.g., Jansen et al. 2007, Moore et al. 2007). Mesangiospermae (Cantino et al. 2007), grupo principal de las angiospermas y que cuya monofilia está muy bien soportada estadísticamente, se compone principalmente de cinco grupos: Chlorantaceae, Magnoliidae, Monocotyledoneae, *Ceratophyllum* y Eudicotyledoneae (Figura 3). Nuestro grupo de estudio, Rosidae, se encuentra dentro de Eudicotyledoneae, un grupo monofilético que se caracteriza por presentar polen tricolpado. Dentro de este gran clado, Rosidae se encuentra ubicado dentro del clado Pentapetalae al igual que Asteridae, el mayor clado de angiospermas, Caryophyllales y otros grupos cuya posición dentro de este grupo no ha sido del todo resuelta. Rosidae aparece recurrentemente como grupo



Figura 3. Hipótesis filogenética que muestra los principales clados de plantas vasculares. Los círculos y nombres en negritas corresponden a los principales clados. El óvalo delimita la posición de Rosidae en el árbol. La flecha indica al grupo de angiospermas. Los nombres asignados a los clados están definidos filogenéticamente como se presentan en la versión preliminar del *Phylocode*. Figura tomada y modificada de Cantino et al. 2007.

hermano de Vitaceae y Saxifragales aunque con un bajo soporte (Soltis et. al. 2005, Soltis et. al. 2007). Esta nomenclatura filogenética para el clado se basa en la que fue propuesta por la base de datos *PhyloCode* que de manera preliminar aparece en el trabajo de Cantino et. al. 2007.

Rosidae (Cantino et al. 2007) se caracteriza por ser el segundo mayor clado de angiospermas, pero a su vez el de menor resolución pues sus clados basales han tenido consistentemente bajo soporte estadístico (Judd y Olmstead 2004; Soltis et al. 2005; Schönenberger y von Balthazar 2006). Ha sido muy difícil obtener resolución sobre las relaciones de sus principales linajes, aunque algunos estudios recientes (Wang et al. 2009) parecen mostrar el patrón de relaciones.

Este clado comprende alrededor de 80,000 especies y aproximadamente 140 familias (Stevens, APW 2009), conteniendo alrededor de, por lo menos, el 50% de la diversidad total de angiospermas y alrededor del 67% de la diversidad de las eudicotiledóneas (Magallón y Castillo 2009).

A. SUSTENTO FILOGENÉTICO

El actual concepto taxonómico de Rosidae (APG 2003) difiere en varios aspectos de la clasificación tradicional (e.g. Cronquist 1981). Este clado contiene varias familias de las subclases Dilleniidae y Hamamelidae en el sentido de Cronquist (1981) y varios de los taxa que formaban parte de él fueron reasignados a otros grupos, principalmente a Asteridae y Saxifragales. Consistentemente se han encontrado varias dificultades al tratar de resolver las relaciones del grupo a varios niveles y estas pueden deberse a la probable rápida y temprana diversificación de Rosidae y de algunos de sus subclados durante el Cretácico (Davis et al. 2005, Soltis et al. 2005, Wang et. al. 2009, Magallón y Castillo 2009).

Rosidae empezó a surgir como grupo en su actual delimitación taxonómica (APG 2003; Stevens APW), en análisis de datos moleculares utilizando genes individuales (Chase et al. 1993, Savolainen 2000, *rbcL*; Soltis et al. 1997, 18s rDNA) pero con bajo soporte a su monofilia. Solo en aquellos análisis donde se combinaban dos o tres marcadores (Savolainen et al. 2000, *atpB* y *rbcL*;

Soltis et al. 2000, *atpB*, *rbcL*, 18s rDNA) y en un trabajo donde se utilizaron secuencias de *matK* (Hilu et al. 2003) se encontró un fuerte apoyo a la monofilia de Rosidae.

No se conocen hasta el momento sinapomorfias que caractericen a Rosidae ni a algunos de sus órdenes (Soltis et al. 2005), sin embargo, comparten caracteres (aunque no sinapomorfias) morfológicos importantes como grupo: el desarrollo nuclear del endospermo, la exina del polen reticulado, perforaciones simples de las paredes terminales de los vasos y una frecuente diplostemonía (Soltis et al. 2005).

B. COMPOSICIÓN DEL GRUPO

Rosidae se compone de dos principales subclados: (1) **Fabidae** (también llamado “Fabids” o “Eurosids I”) con un aproximado de 80 familias (Stevens APW) el cual incluye a los órdenes Celastrales, Malpighiales y Oxalidales que forman un subgrupo (Matthews y Endress 2006), y al subgrupo de los fijadores de nitrógeno: Cucurbitales, Fabales, Fagales, Rosales y Zygophyllales, además de la familia Huaceae no perteneciente a ninguno de estos dos; y (2) **Malvidae** (también llamado “Malvids” o “Eurosids II”) formado por Brassicales, Huerteales (o Gerrardinaceae), Malvales, Sapindales, Dipedntodontaceae y Tapisciaceae que contiene alrededor de 40 familias (tabla 1 y figura 4). Además de estos subclados, Rosidae incluye clados cuya posición filogenética con respecto a estos no es clara: Myrtales, Geraniales, Picramniaceae (o Pricramniales), Apodanthaceae, Crossomatales, Aphloiaceae, Gleissolomataceae, Ixerbaceae, Strasburgeriaceae. Las últimas cuatro familias se han ubicado dentro de Crossosomatales (Soltis et al. 2000, Savolainen et al. 2000) aunque esta inclusión y la monofilia de este grupo es poco probable.

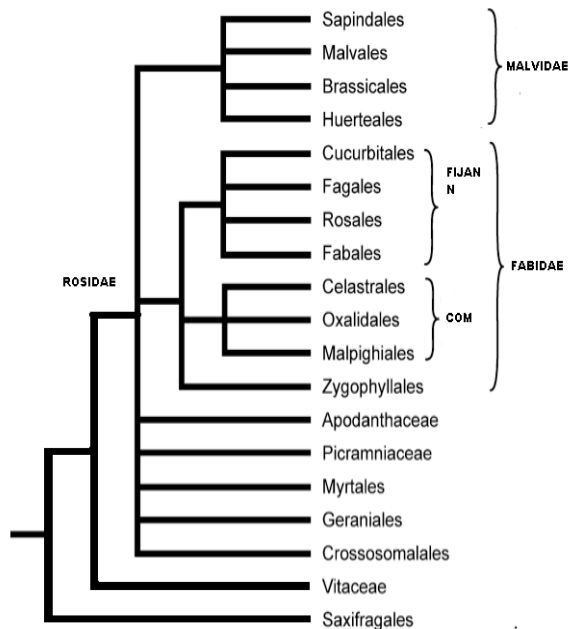
Tabla 1. Composición taxonómica de los principales clados de Rosidae (APW 2009)			
ORDENES	# FAMILIAS	# GENEROS	# ESPECIES
Zygophyllales	2	27	305
Celastrales	4	94	1355
Oxalidales	7	60	1815
Malpighiales	39	716	15935
Fabales	4	754	20055
Rosales	9	261	7725
Cucurbitales	7	129	2295
Fagales	8	55	1877
Geraniales	5	17	836
Myrtales	11	380	11027
Crossosomatales	8	12	66
Picramniales (o Picramniaceae)	1	2	46
Sapindales	9	460	5670
Huerteales	3	5	23
Malvales	10	338	6005
Brassicales	17	398	4450

Aunque Fabidae aparece recurrentemente como un clado (Soltis et al. 2000, Hilu et al. 2003, Nickrent 2005) su apoyo ha sido bajo, tal como el de las relaciones dentro de él. Recientemente, Wang et al. (2009) en un análisis de máxima verosimilitud con 12 marcadores encontraron un soporte del 100% de bootstrap para este clado, sin embargo las relaciones dentro de él siguen siendo controversiales (Endress y Mathews 2006). De igual manera las relaciones dentro de los órdenes

(monofiléticos) de Malvaceae han resultado poco claras (Savolainen et al. 2000, Nickrent et al. 2005).

Las relaciones entre aquellos clados por fuera de estos dos grandes grupos es aún tentativa. Varios estudios, tanto moleculares como estructurales han mostrado diferentes esquemas de relación, todos débilmente apoyados (Figura 4a). El estudio de Wang et al. (2009), utilizando cerca de 18,000 pares de bases parece apoyar la existencia de dos clados: Fabidae, como tradicionalmente se había reportado y Malvaceae, un clado extenso que presenta por primera vez un fuerte apoyo a la inclusión de Geraniales, Crossosomatales (que incluye Strasburgeriaceae y Ixerbaceae), Myrtales y Picramniaceae dentro de él (Figura 4b).

a



b

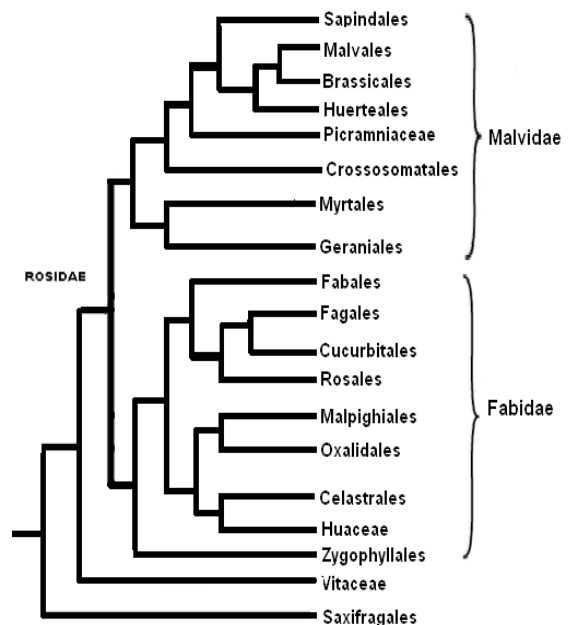


Figura 4. (A) Propuesta filogenética de Rosidae basada en numerosos estudios. Tomada y modificada de Schöenberger et al. (2006), (B) Árbol obtenido por Wang et al. (2009) mediante máxima verosimilitud utilizando 13 marcadores. Tomada y modificada de Wang et al. (2009).

Rosidae es un grupo sumamente heterogéneo tanto en el sentido morfológico como en sus características de ciclo de vida. Cada orden, e inclusive familia presentan una combinación de especies con distintas características, es poco común encontrar categoría taxonómicas que se conformen de un tipo particular de especies.

Zygophyllales, Malpighiales, Rosales, Geraniales, Myrtales y Malvales son órdenes que se componen de especies tanto herbáceas como leñosas, aunque algunas de sus familias son preferencialmente leñosas como Passifloraceae, Lacistemataceae, Salicaceae, Putranjivaceae, Erythroxylaceae, Rhizophoraceae, Linaceae, Humiriaceae, Quinaceae, Chrosybalanaceae, Clusiaceae, y Calophyllaceae (todas familias de Malpighiales), Quillajaceae (Fabales), Ulmaceae (Rosales) o preferencialmente herbáceas como Hypericaceae, Podostemaceae, Elatinaceae (también de Malpighiales), Onagraceae (Myrtales) Geraniaceae (Geraniales) y Cucurbitaceae (Cucurbitales). Pero en su mayoría las características de ciclo de vida son diversas en el grupo.

C. IMPORTANCIA DEL GRUPO

Como se mencionó anteriormente, Rosidae contiene alrededor del 40% de la diversidad de las eudicotiledóneas. Es evidente que un grupo tan grande exhibe una “enorme heterogeneidad en sus hábitos, hábitats y formas de vida, comprendiendo hierbas, arbustos, árboles, plantas suculentas, acuáticas y parasíticas; aunado a esto

también presenta novedosas vías bioquímicas, como aquella maquinaria necesaria para la simbiosis con la bacterias fijadoras de nitrógeno y mecanismos de defensa como la producción de glucosinolato” (Wang et al. 2009).

Estas son plantas con una distribución global, predominantes en varios ecosistemas. Constituyen una parte muy importante de los bosques tropicales húmedos (Wang et al. 2009) junto con Asteridae, monocotiledóneas y magnólicas en gremios específicos (Luna-Vega y Magallón 2009 en revisión).

Son de gran importancia económica al incluir especies de cosecha como aquellas pertenecientes a la familia Rosaceae y Fabaceae. Además, incluyen a las plantas fijadoras de nitrógeno que son de gran importancia tanto ecológica, como económica. Es por esto que la caracterización evolutiva de este grupo es tan importante

II. OBJETIVOS

- Estimar las tasas relativas de sustitución sinónima y no sinónima para los genes de cloroplasto *rbcL*, *atpB* y *matK* en una muestra representativa de los principales linajes de Rosidae.
- Caracterizar los patrones de ambas tasas en diferentes linajes de Rosidae.

III. HIPÓTESIS

- Las tasas relativas de sustitución sinónima resultarán más altas que las tasas relativas de sustitución no sinónima.
- Se encontrará heterogeneidad de tasa, tanto sinónima como no sinónima, a lo largo del grupo.
- El hábito de vida leñoso o herbáceo estará relacionado con las tasas de sustitución. Las plantas herbáceas presentaran mayor tasa de sustitución.

- El ciclo de vida anual o perenne estará relacionado con las tasas de sustitución. Las plantas anuales presentarán mayor tasa de sustitución.

IV. JUSTIFICACIÓN

El estudio y entendimiento de las tasas de sustitución molecular es de una importancia fundamental en el campo de la evolución molecular y en las últimas décadas grandes avances se han hecho en esta área. Caracterizar el comportamiento de estas en varios genes es importante para poder detectar variación entre linajes. Aunque al principio se creía lo contrario (Wilson et al. 1977, Kimura 1983) ahora se sabe que existe una gran variación de tasas de sustitución entre linajes (Li et al 1985, Wu y Li 1985, Gaut et al. 1992, Bousquet et al. 1992, Muse 2000). Varios factores han sido atribuidos a esta variación, incluyendo diferencias en la historia evolutiva, selección, tiempo generacional y fidelidad de replicación y de reparación del DNA (Li et al. 1985, Wu y Li 1985, Britten 1986, Gillespie 1986). Una caracterización a fondo de la variación de éstas es un prerequisite esencial para distinguir entre estas hipótesis, lo cual nos acerca en primera instancia, un poco hacia el entendimiento del proceso evolutivo.

Utilizar genes de cloroplasto para esta caracterización es importante a su vez, pues el cloroplasto contiene un tercio del registro evolutivo molecular de las plantas puesto que es unote los tres genomas que estas poseen y, son ampliamente utilizados para las reconstrucciones filogenéticas debido a sus propiedades.

Dividir la tasa de sustitución total en sus componentes sinónimos y no sinónimos es indispensable en estudios evolutivos de secuencias codificantes, ya que, por lo menos con la caracterización de la tasa no sinónima, podemos distinguir la intensidad con la que algunos factores o procesos afectan a los distintos genes, como lo puede ser la selección natural. La utilización de genes que difieran en función para el estudio de las tasas de sustitución cumple con esta intención.

Nosotros decidimos utilizar al grupo Rosidae como modelo para el estudio de tasas relativas sinónimas y no sinónimas, por ser uno de los mayores grupos de angiospermas. La importancia del grupo radica no solo en el hecho de que contienen alrededor del 50% de la diversidad total de angiospermas (Magallón y Castillo 2009), sino que también son de gran importancia ecológica, al contener a los grupos fijadores de nitrógeno por ejemplo, y además contienen grupos de gran importancia comercial.

Aunque nuestro trabajo no pretende entender la evolución de dicho grupo, si es una primera aproximación a la caracterización de patrones moleculares (aunque sólo de tres genes de cloroplasto) presentes en el grupo, que puedan posteriormente servir para trabajos que hagan uso de los resultados aquí mostrados, ya que esto brinda para la generación de nuevas preguntas que podrán ser resueltas a medida que mas información sea generada acerca de las características que los linajes presentan y que pueden en parte, gobernar este proceso.

V. METODOLOGÍA

VI. Obtención y alineación de secuencias de Rosidae

Inicialmente realizamos un muestreo extensivo de los marcadores que se encontraban secuenciados en la base de datos pública GenBank, para Rosidae. La búsqueda se realizó a nivel de género, con palabras clave, abarcando todos los marcadores secuenciados hasta el momento para los miembros de ese grupo.

Posteriormente, limitamos el muestreo a sólo tres marcadores maximizando el número de especies con secuencias completas. Aquellos marcadores que fueron secuenciados simultáneamente para el mayor número de especies, resultaron ser tres genes codificantes de cloroplasto: *matK*, *rbcL*, *atpB*. (Tabla 2). La representación de nuestro muestreo resultó a nivel de especie, en el que cada una, contó con los tres marcadores secuenciados. No existieron géneros representados por más de una especie.

La estrategia inicial era compilar secuencias de los tres genomas. Esto no fue posible ya que existían muy pocas especies para las cuales estuviesen secuenciados simultáneamente genes de los tres genomas, y de seguir con la estrategia inicial, el muestreo se hubiese limitado considerablemente.

Nuestro muestreo finalmente se conformó de 188 especies pertenecientes a Rosidae, y 14 especies de grupos externos, por lo que obtuvimos un total de 606 secuencias.

Tabla 2. Características de los marcadores de cloroplasto: *matK*, *atpB*, *rbcL*

Nombre del gen (proteína)	Longitud (pares de bases, PB)	Ubicación	Función
<i>matK</i> (maturasa K)	~ 1500	Dentro del intron del gen <i>trnK</i> , en la región LSC del cloroplasto (Hilu y Liang, 1997)	Probablemente esta involucrada en la escisión de los intrones del gpo II que codifican para tRNALys (Ems et al. 1995)
<i>atpB</i> (subunidad β de la ATP sintasa)	~ 1497	Región LSC del cloroplasto	Subunidad β de la ATP sintasa
<i>rbcL</i> (subunidad grande de la ribulosa-1,5-biphosphate carboxylasa/oxidasa)	~ 1428	Región LSC del cloroplasto	Subunidad mayor de la RUBISCO que participa en la fijación del carbono durante la fotosíntesis

LSC (“large single-copy region”)

Todos los órdenes que forman parte Rosidae estuvieron representados por al menos una especie, a excepción del orden Picramniales (o familia Picramniaceae). Sin embargo, el muestreo taxonómico resultó heterogéneo en el sentido de que algunos grupos estuvieron representados por muchas especies, mientras que otros por muy pocas (Tabla 3). Las secuencias utilizadas se presentan en el Apéndice I con sus números de acceso del GenBank.

Tabla 3. Muestreo taxonómico del grupo Rosidae en relación al número de especies reportadas por para cada familia en APW (2009)

ORDEN	FAMILIA	# especies reportadas	# especies muestreadas
CROSSOSOMATALES	Staphyleaceae	45	1
	Stachyuraceae	5	1
	Guamatelaceae	1	0
	Crosssosomataceae	12	0
	Aphloiaceae	1	0
	Geissolomataceae	1	0
	Strasburgeriaceae	2	0
	Ixerbaceae	1	0
GERANIALES	Geraniaceae	805	1
	Melanthaceae	11	1
	Francoaceae	2	0
	Vivianaceae	6	0
	Ledocarpaceae	12	0
MYRTALES	Onagraceae	656	1
	Lythraceae	31	0
	Combretaceae	500	0
	Vochysiaceae	190	0
	Melastomataceae	4570	0
	Memecylaceae	435	0
	Crypteroniaceae	10	0
	Alzateaceae	2	0
	Rhynchochalcaceae	1	0
	Penaeaceae	23	0
	Oliniaceae	5	0
	Myrtaceae	4620	1
	ZYGOPHYLLALES	Zygophyllaceae	285
Kramericeae		18	0
CELASTRALES	Lepidobotryaceae	3	2
	Parnassiaceae	51	2
	Pottingeriaceae	1	0
	Celastraceae	1350	10
MALPIGHIALES	Caryocaraceae	21	1
	Ctenolophonaceae	3	1
	Exythroxyloaceae	240	1
	Euphorbiaceae	5735	22
	Humiriaceae	50	2
	Irvingiariaceae	10	1
	Ixonanthaceae	21	1
	Linaceae	300	2
	Pandaceae	15	1
	Rhizophoraceae	149	1
	Achariaceae	145	2
	Violaceae	800	2
	Salicaceae	1010	4
	Lacistemataceae	14	1
	Turneraceae	205	1
	Malesherbiaceae	24	0
	Passifloraceae	705	2
	Goupiaceae	2	1
	Putranjivaceae	210	1
	Lophopyxidaceae	1	1
	Clusiaceae	1050	3
	Calophyllaceae	13	0
	Hypericaceae	560	1

	Podostemaceae	270	1
	Centroplacaceae	6	0
	Malpigiaceae	1250	7
	Elatinaceae	35	1
	Ochnaceae	495	4
	Medusogynaceae	1	0
	Quiinaceae	55	1
	Bonnetiaceae	35	0
	Rafflesiaceae	20	0
	Phyllanthaceae	1745	7
	Picodendraceae	80	4
	Balanopaceae	9	1
	Trigoniaceae	28	1
	Dichapetalaceae	165	0
	Chrysobalanaceae	460	3
	Euphroniaceae	2	1
OXALIDALES	Oxalidaceae	770	2
	Cunoniaceae	280	1
	Huaceae	3	0
	Connaraceae	180	0
	Brunelliaceae	55	0
	Cephalotaceae	1	0
	Elaeocarpaceae	605	1
FABALES	Fabaceae	19400	4
	Quillajaceae	3	0
	Surianaceae	8	0
	Polygalaceae	940	0
ROSALES	Rosaceae	2520	2
	Barbeyaceae	1	0
	Dirachmaceae	2	0
	Elaeagnaceae	45	0
	Ulmaceae	35	0
	Cannabaceae	170	2
	Moraceae	1100	1
	Urticaeae	2625	0
	Rhamnaceae	925	2
CUCURBITALES	Anisophylleaceae	34	3
	Corynocarpaceae	6	1
	Coriariaceae	5	2
	Cucurbitaceae	845	9
	Tetramelaceae	2	2
	Datisceae	2	1
	Begoniaceae	1401	2
FAGALES	Fagaceae	670	5
	Nothofagaceae	35	0
	Myriaceae	57	1
	Junglandaceae	50	3
	Rhoipteleaceae	1	1
	Ticodendraceae	1	1
	Betulaceae	145	3
	Casuarinaceae	95	1
HUERTEALES	Gerrardinaceae	2	1
	Dipentodontaceae	16	0
	Tapisciaceae	5	0
BRASSICALES	Akaniaceae	2	1
	Tropaeolaceae	95	0
	Setchellanthaceae	1	0
	Moringaceae	12	0
	Salvadoraceae	11	0
	Emblingiaceae	1	0
	Pentadiplandraceae	1	0
	Resedaceae	75	0
	Gyrostemonaceae	18	0
	Tovariaceae	2	0
	Cleomaceae	300	0
	Moringaceae	12	1
	Caricaceae	34	1

	Limnathaceae	8	1
	Koeberliniaceae	1	1
	Bataceae	2	1
	Capparaceae	480	1
	Brassicaceae	3710	9
MALVALES	Cistaceae	175	1
	Neuradaceae	10	0
	Thymelaeaceae	891	0
	Sphaerosepalaceae	18	0
	Bixaceae	21	0
	Sarcolanaceae	60	0
	Dipterocarpaceae	680	0
	Cytinaceae	10	0
	Mutingiaceae	3	0
	Malvaceae	4225	4
SAPINDALES	Rutaceae	1815	4
	Meliaceae	621	3
	Simaroubaceae	95	3
	Sapindaceae	1580	4
	Biebersteiniaceae	5	0
	Nitrariaceae	16	0
	Kirkiaceae	6	0
	Burseraceae	550	0
	Anacardiaceae	600	0

Una vez que obtuvimos las secuencias en formato FASTA, se realizó el alineamiento de cada marcador en archivos independientes. Las secuencias de nucleótidos de *rbcL* y las de *atpB* pudieron ser alineadas de manera automática utilizando el programa CLUSTAL W (Thompson et al. 1994). El alineamiento de *matK* en este programa resultó muy problemático, por lo que se alineó en MUSCLE (Edgar 2004) puesto que se ha visto (A. Castillo, comunicación peronal, 2008) que este programa responde bien a genes que acumulan mucho cambios (como es el caso de *matK*). Posteriormente se refinó cada alineamiento manualmente con el programa BIOEDIT (Hall 1999) siguiendo el marco de lectura de la proteína, utilizando siempre las secuencias en aminoácidos como marco de referencia para la alineación.

Las tres matrices resultantes se concatenaron para crear un solo archivo que incluyera los tres marcadores alineados de manera consecutiva y posteriormente transformarlo a formato NEXUS en MacClade 4.08 (Madison y Madison 2005).

V.II Selección del modelo de sustitución molecular

La selección de un modelo de sustitución nucleotídica que describa correctamente nuestros datos, es indispensable ya que esta elección puede influir de manera directa en el resultado de la estimación filogenética (Huelsenbeck y Hillis 1993; Bruno et al. 1999; Posada y Crandall 1998).

Nosotros utilizamos el programa ModelTest 3.7 (Posada y Crandall 1998) para determinar el modelo que mejor se ajustase a nuestros datos, basándonos en el Criterio de Información de Akaike (AIC; Akaike, 1974). Realizamos siete pruebas independientes de elección de modelos sobre regiones distintas de nuestra matriz.

REGIONES ANALIZADAS

1. 1as y 2as posiciones de codones de *rbcL*
2. 3as posiciones de codones de *rbcL*
3. *rbcL* completo
4. *matK* completo
5. 1as y 2as posiciones de codones de *atpB*
6. 3as posiciones de codones *atpB*
7. *atpB* completo

Esto se hizo con la finalidad de saber si distintas regiones de los datos podían ser explicadas por distintos modelos y de ser así, utilizarlas como particiones independientes en la estimación filogenética.

Es importante mencionar que *matK* se analizó completo ya que con anterioridad se había reportado que la tasa de sustitución es similar para las tres posiciones en este

gen (Hilu y Liang, 1997) a diferencia de los otros dos genes cuyas posiciones se comportan con un patrón diferente (Hoot et al. 1995; Muller et al. 2006).

Se analizaron tanto los valores de Akaike (w , Akaike, 1983), como las diferencias de Akaike para tomar la decisión de que modelo utilizar en la estimación filogenética (Buckley y Cunningham, 2002) (ver resultados).

V.III Estimación filogenética

El análisis filogenético para la matriz de caracteres alineados se llevó a cabo con métodos bayesianos utilizando el programa MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck y Ronquist 1998). Una aproximación bayesiana nos dará como resultado un conjunto de árboles que con mayor probabilidad, puedan ser producidos por nuestras secuencias. La inferencia bayesiana de filogenias está basada en la estimación de la probabilidad posterior de un árbol, específicamente $P(H | D)$, la probabilidad de que la hipótesis sea correcta dados los datos, siendo la hipótesis en este caso la topología con sus longitudes de ramas y los parámetros del modelo de evolución. Se utiliza el teorema de Bayes para calcular esta probabilidad:

$$P(H | D) = \frac{P(D | H) \times P(H)}{P(D)}$$

multiplicando la Verosimilitud ($P(D | H)$: la probabilidad de los datos dado el árbol; calculada bajo un modelo markoviano de evolución de nucleótidos para este caso) por la probabilidad *previa* de la hipótesis (la probabilidad de la hipótesis antes de las

observaciones; generalmente todos los árboles se consideran como igualmente probables).

En este contexto, la inferencia se entiende como un proceso de actualización de las medidas de credibilidad al conocerse nuevas evidencias (datos). La probabilidad posterior representa la probabilidad de las hipótesis condicionadas a las evidencias que se conocen, es decir, una vez que se han “considerado” los datos.

Debido a que la ecuación anteriormente descrita es imposible de llevar a cabo analíticamente (Huelsenbeck 2001), las probabilidades posteriores de los árboles son calculados mediante el método Monte Carlo de cadenas de Markov (Metropolis et al. 1943). Se construye una matriz de probabilidades de transiciones $P(t)$ según nuestro modelo y se perturban aleatoria y conjuntamente algunos de los valores de los parámetros de nuestro modelo (en nuestro caso, aquel escogido por el ModelTest), la topología y las longitudes de rama, en cada paso. Se evalúa la probabilidad de aceptación de este nuevo estado en comparación al inicialmente formulado la azar. Si esta probabilidad es mayor a la del estado anterior, dicho paso en la cadena es aceptado y se convierte en el estado actual de la cadena y el ciclo de repite. Esta nueva ubicación propuesta será similar a la anterior ya que es generada mediante la perturbación aleatoria de sólo algunos de los parámetros de la propuesta anterior de la cadena. Si el nuevo estado propuesto tiene una probabilidad posterior menor, esta perturbación se aceptará sólo una proporción (p) de tiempo (p ; la razón de la probabilidad posterior propuesta comparada con la probabilidad posterior del estado anterior). Si se rechaza la perturbación, se formara un eslabón idéntico al anterior y se repetirá el ciclo. Se construye así, una “caminata aleatoria” a través del espacio de parámetros. La cadena visitará regiones del espacio proporcionalmente a su

probabilidad posterior. Así, la proporción de tiempo que cualquier árbol del “espacio” de árboles posibles es visitado (evaluados sus parámetros) es una aproximación a la probabilidad posterior de ese árbol (Tierney 1994).

Este método bayesiano nos dará una distribución de árboles que refleje la distribución de probabilidades posteriores. De esta manera puede escogerse el árbol que tenga mayor probabilidad posterior (Rannala y Yang 1996) o construir un árbol consenso a partir de aquellos árboles cuya probabilidad posterior sume cierto porcentaje de un intervalo de credibilidad.

El modelo de sustitución empleado por el método bayesiano, fue aquel seleccionado según el programa ModelTest: **GTR+I+G** (ver Resultados: Tabla 5). El modelo GTR es un modelo de seis parámetros, que corresponden a los seis posibles parámetros relativos de tasa (se asume que cada transformación posible entre los cuatro nucleótidos tiene una tasa de sustitución particular). Este modelo especifica una frecuencia en equilibrio distinta para cada base y una proporción de sitios invariables (I) y una heterogeneidad de tasa entre sitios que sigue una distribución gamma.

El análisis bayesiano consistió de dos corridas independientes, cada una consistente de cuatro cadenas de Markov que difieren en su probabilidad de aceptación de estados subóptimos (diferencialmente calentadas). Las diferentes cadenas de Markov iniciaron con un árbol aleatorio siguiendo el algoritmo de Metropolis de MCMC (Geyer, 1991). Esta estrategia se utilizó para tratar que varias cadenas independientes convergieran en una misma región del espacio, la cual debería corresponder a la de mayor probabilidad posterior.

La especie *Ilicium oligandrum* se utilizó como grupo externo. Se corrieron 5,000,000 generaciones, donde una generación es una nominación de un estado (valores de

parámetro del modelo), el cálculo de la probabilidad de aceptación y aceptación o rechazo del estado formulado.

Se realizaron muestreos de árboles cada 200 generaciones. Se descartaron las primeras 500,000 generaciones (2,500 árboles) después de hacer una confirmación visual de la convergencia en la gráfica de valores de verosimilitud contra el número de generaciones. Se excluyen los árboles propuestos en estas primeras generaciones debido a que la cadena inicia en un punto al azar del espacio de parámetros y estas tendrán valores de probabilidades posteriores muy bajas.

En cada corrida, hubo una cadena “fría” (con aceptación estricta de la probabilidad de aceptación de los nuevos pasos de la cadena), y tres cadenas diferencialmente “calentadas” por “temperatura” subsecuentemente mayor de 0.2. Estas cadenas “calentadas” dan pasos mas grandes en el espacio de parámetros (debido a la multiplicación de un factor numérico) para evitar que las cadenas se estacionen en espacios óptimos locales de valores de parámetros.

El análisis bayesiano se corrió con una circunscripción que agrupara a Malvidae como grupo monofilético, ya que en un análisis bayesiano preliminar, éste no se agrupaba, lo cual contradice con los resultados de numerosos estudios anteriores donde este grupo es claramente monofilético (Savolainen et al. 2000, Soltis et al. 2000, Soltis et al. 2005). Para justificar el uso de dicha circunscripción, corrimos un análisis de parsimonia sobre una base de datos de 60 de nuestras especies (con los tres marcadores) en la que el muestreo fuera homogéneo, es decir, incluimos el mismo número de especies o la misma proporción de éstas para cada orden. El árbol resultante de dicho análisis en efecto agrupó a Malvidae como grupo monofilético. Esto nos hace suponer que el resultado de nuestro análisis bayesiano con el total de la muestra, en donde Malvidae no aparecía como monofilético, se debía a la

heterogeneidad de nuestro muestreo. De esta manera justificamos el uso de la circunscripción en el análisis aquí mostrado.

Los valores de apoyo de los árboles están dados en términos de probabilidades posteriores. Nuestro criterio de selección de la topología fue precisamente la que tuviese una probabilidad posterior mayor. Una vez obtenida dicha topología (que perteneció a la primera corrida), se hizo una búsqueda de todos aquellos filogramas (de ambas corridas) cuya topología coincidiera con aquel del árbol de mayor probabilidad posterior. A partir de éstos, lo cuales resultaron ser catorce, se construyó un árbol promediando manualmente las longitudes de las ramas de los catorce y fue este el filograma que tomamos como resultado del análisis filogenético. Las medidas de apoyo para los clados de este árbol se obtuvieron al construir un árbol consenso de todos los árboles muestreados (menos aquellos muestreados en las primeras 500,000 generaciones) en ambas corridas (Figura 5).

V.IV Estimación de tasas relativas de sustitución sinónima y no sinónima

Para la estimación de tasas relativas de sustitución sinónima y no sinónima, se empleó el programa HYPHY (Pond et al. 2004). Este programa realiza análisis basados en el principio de máxima verosimilitud sobre datos de evolución molecular, en nuestro caso sobre la evolución de secuencias moleculares.

Se pretende ajustar un árbol filogenético con un modelo específico de evolución a un alineamiento y obtener estimados de máxima verosimilitud (MLEs) de todos los parámetros independientes del modelo escogido.

La combinación de la matriz de alineamiento y el árbol (topología e información del modelo) es suficiente para definir la probabilidad de los datos (secuencias y longitudes de rama) dados ciertos valores de los parámetros del modelo, i.e., la función de verosimilitud. Esta función es optimizada (maximizada) para obtener los MLEs de los parámetros del modelo, para nuestro caso, estimar las tasas de sustitución sinónima y no sinónima (Muse y Gaut 1994). Si son los parámetros de tasa de sustitución sinónima y no sinónima lo que nos interesa, esta metodología, así como cualquier otra, por sus bases conceptuales, sólo es capaz de estimar el producto de la tasa por el tiempo, es decir la tasa relativa de sustitución. Estas solo pueden transformarse en absolutas mediante una fechación de la filogenia con programas como r8s (Sanderson 2003) o BEAST (Drummond y Rambaut 2007).

Se realizaron dos análisis independientes utilizando el árbol derivado del análisis filogenético (Figura 4) para estimar las tasas relativas de sustitución sinónima y no-sinónima. Con el objeto de obtener información de cada uno de los genes, un análisis consistió en la estimación de tasas relativas de sustitución sinónima y no sinónima para cada uno de los genes.

En el segundo análisis, se estimaron cada una de las tasas para las secuencias concatenadas. En éste caso la partición constó de 4830 sitios (longitud total de las secuencias concatenadas). Este análisis pretendió caracterizar las tasas relativas de sustitución de los linajes para después poder correlacionar estas con los ciclos de vida anual/perenne y con el hábito de vida herbáceo/leñoso.

El modelo empleado para que se estimara los parámetros de tasa sinónima y no sinónima por optimizaciones de la función de verosimilitud fue el modelo de codones de Muse y Gaut (1994) combinado con el modelo GTR, en el que cada posición del codón poseyera la misma probabilidad de cambio entre los cuatro nucleótidos posibles (modelo MG94 x GTR x 3x4) . Este se empleó en ambos análisis y se instruyó al programa que los parámetros del modelo pudieran variar para cada rama del árbol (opción de parámetros locales) y que las frecuencias de los codones en equilibrio se obtuvieran a partir de los datos.

A. INTERVALOS DE CONFIANZA

Para estimar los intervalos de confianza de las tasas de sustitución con una significancia de $\alpha= 0.05$ alrededor del valor de cualquier parámetro de modelo (θ_i), en nuestro caso la tasa sinónima y la no-sinónima, el programa HYPHY realiza pruebas de cociente de verosimilitud (Likelihood Ratio Test, LTR).

Inicialmente se fijan todos los demás parámetros de modelo $\theta_{i'}$, $i' \neq i$ en sus valores de estimados de máxima verosimilitud ($\theta_{i\wedge}$: aquel valor que maximiza la función de verosimilitud) para que la función de verosimilitud este en función únicamente de un solo parámetro de nuestro interés (θ_i).

$$\bar{L}(\theta_i) = L(\theta_i | D, T, \theta_{i\wedge})$$

Se consideran dos hipótesis $H_0: \theta_i = x$ contra $H_A = \theta_i \neq x$. La variable x representa cualquier valor discreto del parámetro. Estas hipótesis se ponen a prueba utilizando la función restringida de verosimilitud (la función que incorpora los valores fijos de

todos los demás parámetros menos el de nuestro interés) y una prueba de cociente de verosimilitud de un grado de libertad, suponiendo una distribución χ^2 de los valores del intervalo:

$$2 [\log \bar{L} (\theta; \lambda) - \log \bar{L} (x)] \sim \chi^2$$

La región del intervalo de confianza se define como todos aquellos valores de x con los que no se rechazó H_0 , es decir, todos los valores de x para los cuales el estadístico del cociente de verosimilitud es menor al percentil de α (0.95) de la distribución χ^2 correspondiente.

V.V Relación entre las tasas relativas de sustitución y atributos específicos (ciclo y hábito de vida)

Con la finalidad de dilucidar un agente causal de la heterogeneidad del valor de las tasas relativas de sustitución, tanto sinónimas como no sinónimas, se intentó relacionar dos atributos propios de las especies: el hábito de vida leñoso/herbáceo y el ciclo de vida anual/perenne con los valores de tasa sinónima y no sinónima de las secuencias concatenadas.

Se decidió evaluar estas relaciones ya que con anterioridad se ha reportado mayor valor de tasa tanto sinónima como no sinónima en especies herbáceas y en especies anuales en comparación con especies leñosas y perennes respectivamente (Bousquet et al. 1992; Gaut et al 1992; Andreasen et al. 2001; Soria-Herranz et al. 2008).

Se catalogaron las especies según su ciclo de vida y su hábito de vida (Apéndice II). No se encontró para todas las especies información al respecto, estas fueron excluidas del análisis así como los grupos externos. Nuestro muestreo se conformó finalmente de 147 especies para las cuales sí contamos con dicha información. El muestreo resultó dispar en el sentido en el que contamos con muchas más especies perennes que anuales (130 y 17 respectivamente), y más leñosas que herbáceas (118 y 29 respectivamente).

Se hicieron pruebas de U Mann-Whitney para determinar si existían diferencias entre las tasas de las especies anuales en comparación con las de especies perennes y si existían diferencias en las tasas de las especie herbáceas en comparación con las leñosas. Estos se hizo tanto para tasas sinónimas como para no sinónimas realizando así, un total de cuatro pruebas: se evaluó, 1) la relación entre tasa tasa sinónima de las especies con ciclo de vida anual y la tasa sinónima de las especies de ciclo de vida perene, 2) relación entre la tasa sinónima de las especies de hábito herbáceo y la tasa sinónima de las especies de hábito leñoso, 3) la relación entre tasa no sinónima de las especies con ciclo de vida anual y la tasa no sinónima de las especies de ciclo de vida perene, 4) relación entre la tasa no sinónima de las especies de hábito herbáceo y la tasa no sinónima de las especies de hábito leñoso.

Se utilizó la prueba de U Mann-Whitney por ser un método de distribución libre no paramétrico, que no depende de una distribución dada de nuestros datos (como de una normal para la prueba ANOVA) para encontrar relaciones o diferencias entre los atributos (estado de vida y del ciclo de vida) y las tasas de sustitución (tanto sinónimas como no sinónimas). Esta prueba es útil cuando las mediciones (en nuestro caso nuestras tasas) se pueden ordenar en escala ordinal (es decir cuando los valores tienden a una variable continua, pero no tienen una distribución normal) y resulta

aplicable cuando las muestras son independientes (Sokal y Rohlf 1981). Permite comprobar si dos muestras aleatorias e independientes proceden de una misma población (H_0).

Nuestra hipótesis nula consistió en aseverar que las tasas (ya fueran sinónimas o ni sinónimas) de ambos grupos (anuales y perennes o herbáceas y leñosas) procedían de la misma población, es decir, no existían diferencias en tasas entre ambos grupos. La H_A fue que existían diferencias de tasas entre ambos grupos. La prueba calcula el estadístico U para decidir si rechazar o aceptar la hipótesis.

El procedimiento simplificado es de la siguiente manera:

1. Determinar el tamaño de las muestras (n_1 y n_2). Si n_1 y n_2 son menores que 20, se consideran muestras pequeñas, pero si son mayores que 20, se consideran muestras grandes.
2. Arreglar los datos en rangos del menor al mayor valor. En caso de que existan ligas o empates de rangos iguales, se deberán detectar para un ajuste posterior.
3. Calcular los valores de U_1 y U_2 (Tabla 4), de modo que se elija el más pequeño para comparar con los críticos de U Mann-Whitney de la tabla de probabilidades asociadas con valores pequeños como los de U en la prueba de Mann-Whitney.
4. En caso de muestras grandes, calcular el valor Z, pues en estas condiciones se distribuye normalmente.
5. Decidir si se acepta o rechaza la hipótesis.

$U_1 = n_1 n_2 + \frac{n_1 (n_1 + 1)}{2} - \Sigma R_1$ $U_2 = n_1 n_2 + \frac{n_2 (n_2 + 1)}{2} - \Sigma R_2$	<p>Donde: U_1 y U_2 = valores estadísticos de U Mann-Whitney. n_1 = tamaño de la muestra del grupo 1. n_2 = tamaño de la muestra del grupo 2. R_1 = sumatoria de los rangos del grupo 1. R_2 = sumatoria de los rangos del grupo 2.</p>
---	--

Tabla 4. Formula de U Mann-Whitney

VI. RESULTADOS

VI.I Selección del modelo de sustitución

Dos modelos fueron seleccionados por el programa ModelTest dependiendo de la region analizada:

GTR+I+G y TVM+I+G (Tabla 5).

REGION	Modelo seleccionado	-lnL	K	AIC
<i>rbcL</i> : 1as y 2as	GTR+I+G	12396.125	10	24812.25
<i>rbcL</i> : 3as	GTR+I+G	28638.7695	10	57297.5391
<i>rbcL</i> : completo	TVM+I+G	42821.1523	9	85660.3047
<i>matK</i> : completo	TVM+I+G	134429.75	9	268877.5
<i>atpB</i> : 1as y 2as	GTR+I+G	8981.5098	10	17983.0195
<i>atpB</i> : 3as	TVM+I+G	22795.9414	9	45609.8828
<i>atpB</i> : completo	GTR+I+G	47811.112	10	76870.987

-lnL: valor de la verosimilitud logarítmica maximizada del modelo. K: número de parámetros del modelo. AIC: valor del Criterio de información de Akaike estándar.

Decidimos utilizar el modelo GTR+I+G para todas las particiones debido a que, si empleáramos distintos modelos (GTR+I+G y TVM+I+G) para las distintas particiones según los resultados de ModelTest, durante el análisis filogenético, el tiempo computacional probablemente aumentaría (aunque esto no es una regla, Nylander et al. 2004). De igual manera, el modelo GTR está disponible en el programa Mr.Bayes a diferencia del TVM.

Para justificar esta decisión, se analizaron, tanto los pesos de Akaike (w ; como una medida de incertidumbre de selección del modelo, Akaike 1983), como las diferencias de Akaike (ΔAIC ;

Buckley y Cunningham 2002) en aquellas particiones donde el modelo TVM+I+G fue escogido (Tabla 6).

El modelo que presente un Criterio informacional de Akaike mayor es el escogido por el programa, sin embargo pueden utilizarse los pesos de Akaike para determinar un set de modelos que estén dentro de un intervalo de confianza del 95% y cualquiera de los modelos que formen parte de este set, podrán utilizarse para el análisis filogenético (Burham y Anderson 1998, pp. 169-171). Se suman los pesos de Akaike de los modelos (del de mayor valor hacia menores valores) hasta que la suma de 0.95, todos los modelos cuyos pesos de Akaike formen parte de dicha suma, son aquellos que con un 95% de confianza pueden representar el modelo que mejor se ajuste a los datos. Nosotros hicimos esto en las particiones en las que el modelo TVM+I+G fue escogido para ver si el modelo GTR+I+G se encontraba dentro del 95% de confianza y así se justifica su empleo en el análisis filogenético. En todos los casos el modelo GTR+I+G se encontró dentro de ese intervalo (Tabla 6).

Los valores de las diferencias de Akaike del modelo GTR+I+G, en todos los casos fueron menores o iguales a 2, por lo que recibe un soporte sustancial para su uso según Burham y Anderson (2003) y se justifica el uso de este modelo.

Tabla 6. Resultados del ModelTest para *rbcL* y *matK* analizado el gen completo y para las terceras posiciones de codón de *atpB*

<i>rbcL</i> completo					
modelo	-lnL	K	AIC	delta	peso (w)
TVM+I+G	42821.1523	9	85660.3047	0.0000	0.6715
GTR+I+G	42820.8672	10	85661.7344	1.4297	0.3285
K81uf+I+G	42894.1875	7	85802.3750	142.0703	9.48e-32
<i>matK</i> completo					
modelo	-lnL	K	AIC	delta	peso (w)
TVM+I+G	89390.5312	9	178799.0625	0.0000	0.7233
GTR+I+G	89390.4922	10	178800.9844	1.9219	0.2767

TVM+G 89428.3906 8 178872.7812 73.7188 7.10e-17

atpB 3as posiciones del codón

modelo	-lnL	K	AIC	delta	peso (w)
TVM+I+G	22795.9414	9	45609.8828	0.0000	0.7280
GTR+I+G	22795.9258	10	45611.8516	1.9688	0.2720
TVM+G	22815.3672	8	45646.7344	36.8516	7.24e-09

En negritas se marca el valor de las diferencias de Akaike (delta; Δ AIC) para el modelo GTR, y los valores de los pesos de Akaike (w) cuya suma resultara en 0.95.

VI.II Estimación Filogenética

Obtuvimos una reconstrucción filogenética para el grupo Rosidae utilizando la información contenida en la secuencias concatenadas de los genes de cloroplasto, *rbcL*, *matK* y *atpB*.

La filogenia resultante del análisis bayesiano se muestra en la Figura 5. El análisis filogenético fue útil para estimar las tasas de sustitución relativas.

En nuestro análisis al igual que en análisis previos, Vitaceae aparece como grupo hermano de Rosidae (Savolainen et al. 2000, Soltis et al. 2000) formando un grupo monofilético con un alto soporte (mayor a 0.95 de probabilidad posterior). De igual manera, la monofilia de Rosidae tiene muy buen soporte. La relaciones entre los órdenes se muestran en la figura 6. En nuestro grupo, aparece una divergencia basal que lleva a dos subclados principales: Malvidae, producto de nuestra circunscripción (Cantino et al. 2007) más Crossosomatales, con un apoyo de 0.68 PP y otro subclado formado por Fabidae (Cantino et al. 2007) más Myrtales y Geraniales con 0.89 PP como apoyo.

Todos los órdenes dentro de Malvidae y las relaciones entre ellos estuvieron fuertemente apoyadas (Figura 6). Huerteales y Brassicales formaron un grupo hermano de Malvales y Sapindales (Soltis et al. 2005). Fabidae se vio fuertemente apoyado como grupo (Figura 6); el grupo COM (Crossosomatales+Oxalidales+Myrtales) aparece como grupo hermano de los fijadores de nitrógeno

con un soporte de 0.85 PP como en análisis anteriores (Soltis et al. 2000, Hilu et al. 2003, Nickrent et al. 2005, Wang et al. 2009). Aunque el apoyo para los órdenes fue fuerte en todos los casos, las relaciones que guardan entre ellos estuvo pobremente apoyada (Soltis et al. 2000, Nickrent et al. 2005).



Figura 5. Filogenia consenso resultante del análisis por métodos Bayesianos del grupo Rosidae. La escala es proporcional a la longitud de rama (número de sustituciones por sitio). Los nodos marcados en rojo corresponden a aquellos con un apoyo mayor o igual a 0.95 PP (probabilidad posterior). Los números sobre los nodos corresponden al valor de PP que se encuentra dentro del rango mayor o igual a 0.5 y menor a 0.95. Los nodos restantes, marcados en negro sin valor de PP asociado, corresponden a aquellos nodos cuyo valor de soporte resultó menor a 0.5 PP.

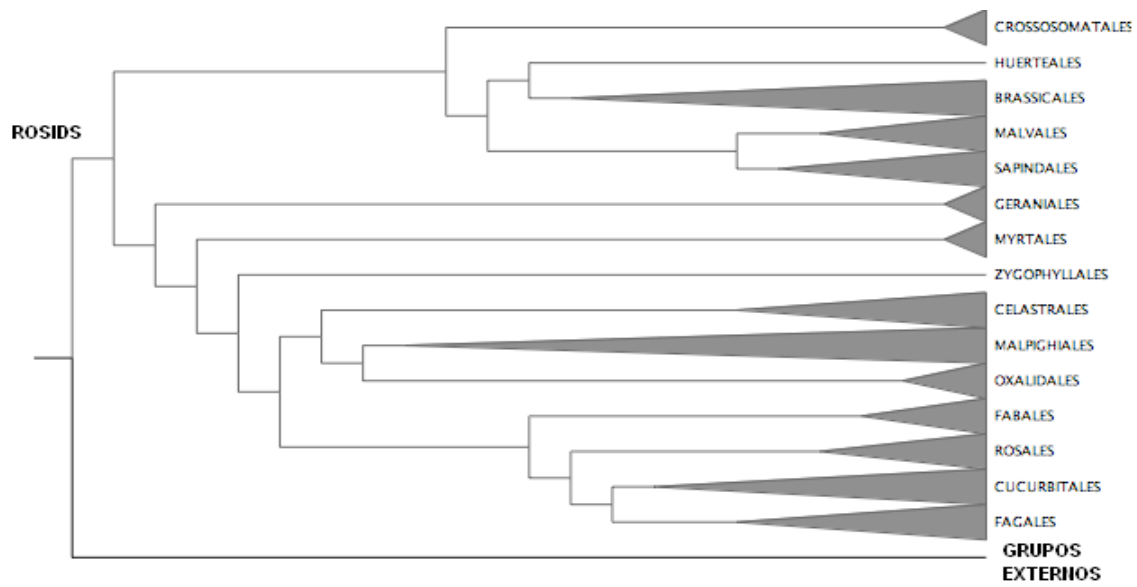


Figura 6. Árbol de Rosidae resultante del análisis bayesiano, colapsado por órdenes.

Las relaciones dentro de cada orden estuvieron fuertemente apoyadas, a excepción de aquellas dentro de Malpighiales como sucede en trabajos anteriores (e.g., Cameron et al. 2001, Soltis et al. 2007).

VI.III Estimación de tasas relativas de sustitución sinónima y no sinónima

A. Análisis de genes concatenados

Las tasas relativas de sustitución sinónima y no sinónima utilizando los tres genes de cloroplasto *rbcL*, *matK* y *atpB* concatenados fueron estimadas para el grupo Rosidae, mediante el método de máxima verosimilitud, utilizando el modelo modificado de Muse y Gaut (1994) MG94xGTRx3x4. (Figura 7 y 8). Uno de los resultados más claros y contundentes es la enorme diferencia entre las tasas sinónimas y no sinónimas, donde la primera tiene valores más altos para todas las especies que la tasa no-sinónima, como se había esperado. Otro resultado importante es la existencia de una enorme heterogeneidad de tasa relativa a lo largo del grupo, tanto para tasas sinónimas como para tasas no-sinónimas (Figura 7 y 8). La tasa sinónima de la especie con la tasa más alta (*Podostemum ceratophyllum*) fue aproximadamente 300 veces mayor que la tasa de la especie con menor valor de tasa (*Ricinus comunis*) (Tabla 7). De igual manera, la tasa no sinónima de *Podostemum ceratophyllum* fue

174 veces mayor que la de *Ricinus comunis*. Los valores promedio de ambas tasas revelan una diferencia de 4.27 veces mayor para la tasa sinónima (Tabla 7).

Tabla 7. Valores mínimos, máximos y promedios de las tasas sinónimas y no sinónimas del análisis de genes concatenados.		
	Tasas sinónimas	Tasas no sinónimas
Máxima	0.73	0.152
Mínima	0.00243	0.0008
Promedio	0.115	0.027

Se graficaron ambas tasas con la finalidad de encontrar una relación entre las aceleraciones o desaceleraciones de éstas en los mismos grupos (Figura 9). Aunque la heterogeneidad en los valores de ambas tasas es evidente, existen cierto géneros para los cuales existe una aceleración de las tasas mayor que para los demás grupos: *Podostemum* (Podostemataceae, Malpighiales), *Piriqueta* (Turneraceae, Malpighiales), *Ixonanthes* (Ixonanthaceae, Malpighiales), *Tuberaria* (Cistaceae, Malvales), *Pelargonium* (Geraniaceae, Geraniales), *Larrea* (Zygophyllaceae, Zygophyllales) *Glycine* (Fabaceae, Fabales), *Medicago* (Fabaceae, Fabales), *Batis* (Bataceae, Brassicales) *Hypericum* (Hypericaceae, Malpighiales) y *Passiflora* (Passifloraceae, Malpighiales) (Figura 7 y 8).

La correlación entre el aumento de tasas tanto para sinónimas como para no sinónimas, también existe para la mayoría de los demás grupos, es decir, en la mayoría de las especies donde hay aumentos de tasa sinónima también lo hay para no sinónima, aunque este patrón no sea muy claro debido a la baja tasa no sinónima (Figura 9).

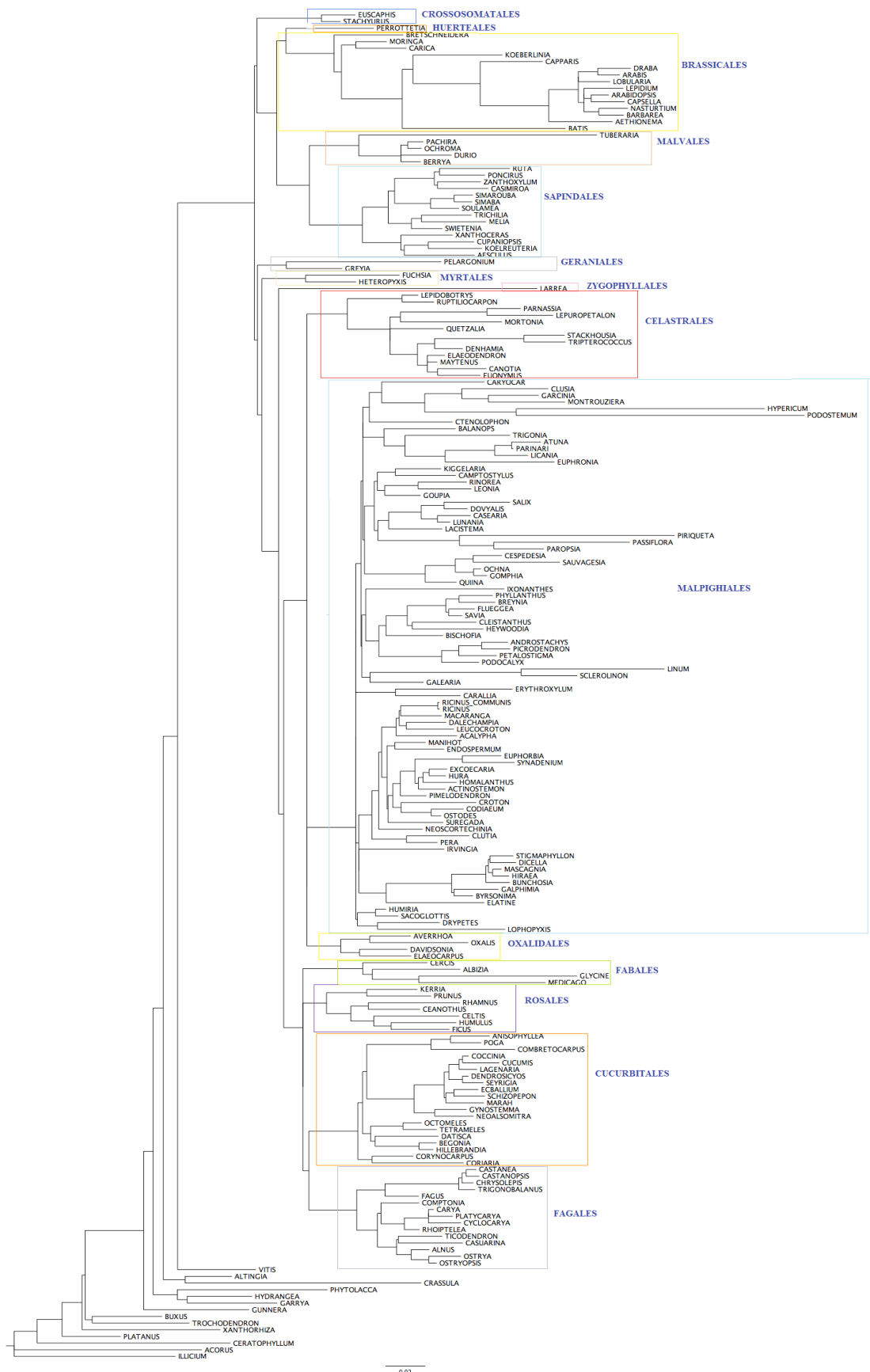


Figura 7. Tasas relativas de sustitución no sinónima para Rosidae. Las longitudes de las ramas son proporcionales al número de sustituciones no sinónimas por sitio no sinónimo por unidad de tiempo.

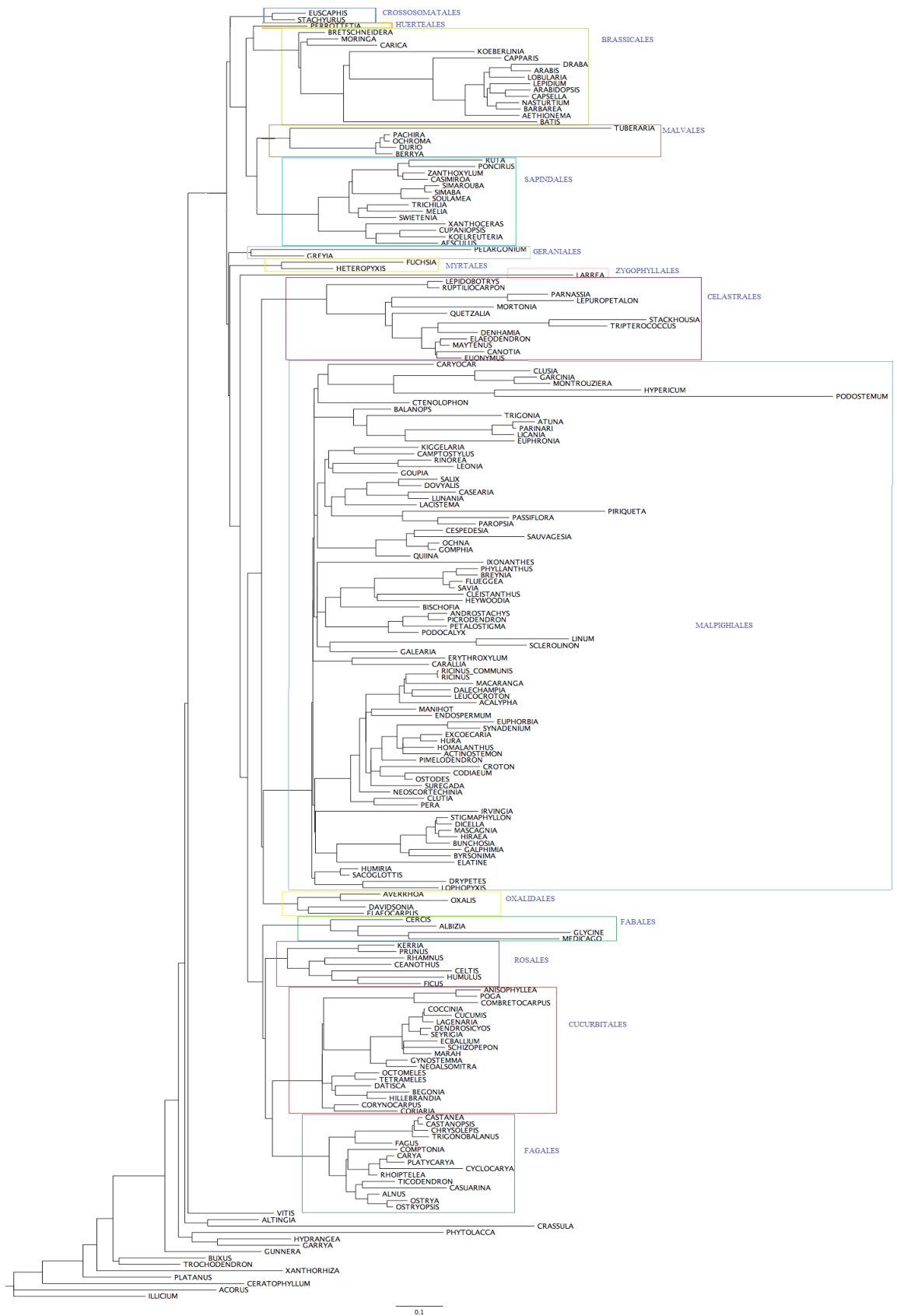


Figura 8. Tasas relativas de sustitución sinónima para Rosidae. Las longitudes de las ramas son proporcionales al número de sustituciones sinónimas por sitio sinónimo por unidad de tiempo.

Véase Apéndice III para los valores numéricos de las tasas con su intervalo de confianza ordenados por familia.

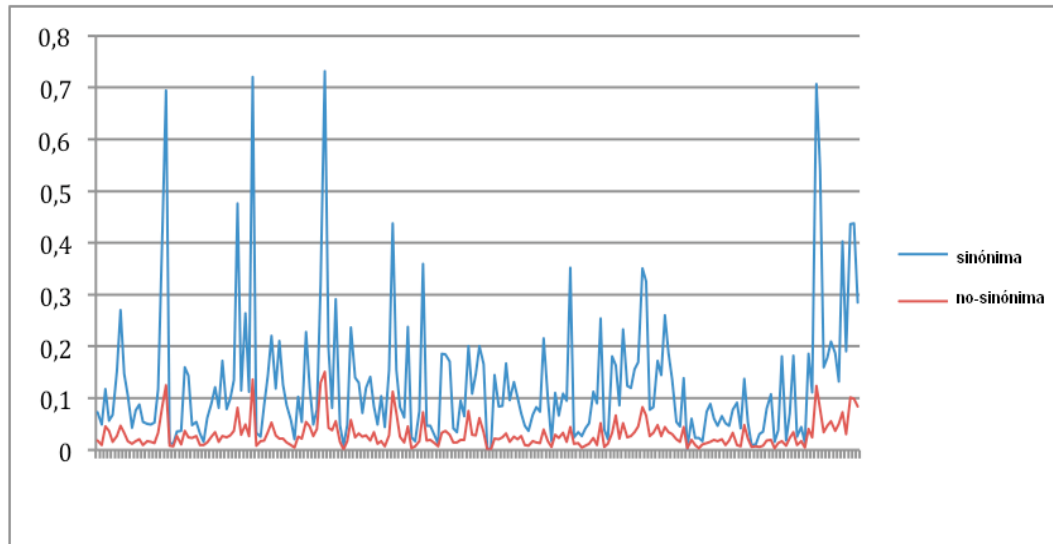


Figura 9. Comparación de tasa relativas de sustitución sinónima y no-sinónimas en Rosidae del análisis de genes concatenados.

VII. DISCUSIÓN

La dinámica de las tasas de sustitución varía si se trata de tasas sinónimas o no sinónimas, puesto que los cambios sinónimos en las secuencias codificantes no alteran el producto protéico, y los cambios no sinónimos sí. Desde los primeros trabajos sobre tasas de sustitución, se ha reportado extensamente la variación entre los valores de tasas sinónimas y los de tasas no sinónimas para genes codificantes (Kimura 1983, Muse y Gaut 1994, Bousquet 1994, Ohta 1994, 1995, Gaut et al 1997). Ésta, en ocasiones varía por factores de 2 hasta 11 (Bousquet 1994, Gaut et al 1997). Esta variación entre valores de tasa sinónima y no sinónima, como se esperaba, fue encontrada tanto para nuestro análisis concatenado como en el análisis de genes independientes. En el análisis concatenado, la tasa sinónima promedio resultó ser 4.27 veces mayor que para la tasa no sinónima, resultado congruente con el de Wolfe et al. (1987) y Laroche et al. (1997). En el análisis de los tres genes independientes, la tasa sinónima promedio en *rbcL* resultó mayor que la no sinónima por un factor de 10, en *atpB* por un factor de 11 y en *matK* 1.8 veces mayor (Tabla 8). La baja diferencia entre ambas tasas para *matK* en comparación con la de los otros dos genes, merece atención y será discutido mas adelante.

VII.I PATRONES DE SUSTITUCIÓN ENTRE GENES

La variación entre valores de las tasas relativas no solo se remite a la encontrada para tasa sinónimas y no sinónimas, sino que también, distintos genes pueden presentar distintos valores tanto de tasa sinónima como de no sinónima. La variación en los valores de tasas no sinónimas entre genes puede deberse a presiones de selección diferenciales actuando sobre ellos. Esto puede responder a que algunos genes tengan

restricciones funcionales mayores debido a la función de la proteína o al número de sitios neutrales que cada gen posea, el cual estará en función de la estructura de la misma. Se entiende en este caso por sitios neutrales a aquellos sitios que, cuando una mutación no sinónima caiga sobre ellos, ésta aunque sí provocará cambios en la secuencia de aminoácidos de la proteína, éstos serán de tipo neutral, es decir no afectarán teóricamente su función. De esta manera la selección natural purificadora o negativa, actuará con mayor fuerza sobre los genes cuya función sea más importante para el organismo o sobre aquellos cuya secuencia posea mayor número de sitios que, al mutar, conllevan a una alteración negativa de la proteína (funcionalmente hablando). Dicho de otra manera, los genes que no estén bajo restricciones funcionales tan fuertes o que presenten mayor número de sitios neutrales, podrán presentar tasas de sustitución más altas, pues el proceso de sustitución no se verá tan restringido por la selección natural y esto, podrá verse reflejado en las tasas no sinónimas de cada uno de los genes.

La baja diferencia entre el valor de tasa sinónima y no sinónima promedio para *matK* era de esperarse, ya que este gen muestra valores muy superiores de tasa no sinónima en comparación con aquellos estimados para los otros dos genes, con una tasa no sinónima promedio seis veces mayor que la de *atpB* y *rbcL*, resultado congruente con el presentado por Olmstead y Palmer (1994). La diferencia tan profunda entre los valores de tasa no sinónima entre genes puede ser consecuencia de la fuerza con la que la selección natural está actuando sobre ellos. Aunque la alta tasa no sinónima presentada por *matK* ya había sido reportada con anterioridad (Olmstead y Palmer 1994, Soltis y Soltis 1998, Hilu et al. 2003) y se había relacionado con la dirección que este gen lleva hacia un estado de pseudogen, estudios más recientes han revelado la importancia funcional (antes subestimada) de éste puesto que es el único gen

encargado de la escisión de intrones de tipo II en el cloroplasto. Muller et al. (2006) compararon las distancias (en términos de sustituciones) en los sitios sinónimos contra la de los sitios no sinónimos en *matK* y *rbcL*. Los resultados indicaron que *rbcL* se desviaba más de la neutralidad al presentar una diferencia por un factor de 10 entre las sustituciones en sus terceras posiciones en comparación con las segundas posiciones (siendo las primeras posiciones de tipo neutral y las segundas no ya que conducen a cambios no sinónimos). En contraste, en *matK* se reportó una diferencia en un factor de 1.5. Aunado a esto, Barthelet y Hilu (2008) revelaron una variación mayor en la secuencia de las cadenas de la proteína MATK (codificada por el gen *matK*) en comparación con las de RBCL (proteína codificada por *rbcL*) y que estas variaciones estaban restringidas a grupos de aminoácidos similares (de aminoácidos ácidos a otros ácidos y de aminoácido básicos a otros básicos). Estos resultados, aunque podrían apoyar la existencia de una restricción funcional menor sobre *matK* que sobre *atpB* o *rbcL* (dada la importancia de estos dos en las plantas), más bien apoyan la teoría de que la selección natural está actuando con menor fuerza sobre *matK* debido a la presencia de un mayor número de sitios neutros (que llevan a cambios neutrales que conservan la función de la proteína) en su secuencia, lo cual se reflejará en la alta tasa no sinónima de éste. Esto se propone debido a los recientes estudios que sugieren la gran importancia funcional de este gen (Hilu 2003, Wolfe et al. 2004, Barthelet y Hilu 2008, Hilu y Barthelet 2008).

Estas fuerzas selectivas operantes pueden ser una respuesta al por qué de la variación en tasas no sinónimas entre genes, sin embargo, ¿porqué no existió también variación considerable entre las tasas de sustitución sinónimas entre genes?

Los resultados del análisis de genes independientes mostraron una tasa sinónima muy similar entre los tres genes (Figura 10) y como ya se mencionó, una tasa no sinónima

diferente en *matK* (Figura 11). Estos resultados son similares a los de Young y de Pamphilis (2005) donde se describe mayor heterogeneidad de tasa no sinónima entre genes, que de tasas sinónimas. En particular, *matK* en su análisis presentó tasas sinónimas casi idénticas a *rbcL* y a *rps2*, pero una tasa no sinónima muy diferente.

La causa de la variación en tasas sinónimas entre genes ha sido difícil de identificar, pero se ha relacionado con el contenido de GC (contenido de los nucleótidos guanina y citosina) ya que los dinucleótidos CpG son sujetos a mayores tasas de mutación (Tsunoyama et al. 2001). También se ha considerado el uso preferencial de codones. En este caso, los genes con uso preferencial de codones evolucionan más lentamente (Akashi, 1994, 2001). De igual manera, la mutación diferencial en distintas partes del genoma puede influir sobre estas tasas (Wolfe et al. 1989, Matassi, 1999). Por lo tanto, la falta de variación que encontramos en las tasas sinónimas de los distintos genes puede deberse, tanto a una homogeneidad en contenido de GC entre genes, como a un uso no preferencial de codones, o a la tasa de mutación. Para poder discernir entre estas hipótesis calculamos la proporción promedio de GC para todas nuestras especies en cada uno de los genes. Encontramos diferencias en estas proporciones, por lo menos para *matK*. Este gen tuvo una proporción de GC promedio para todas las especies de 0.162, mientras que la proporción promedio en *rbcL* resultó de 0.219, y de 0.213 para *atpB*. Esta falta de homogeneidad en contenido de GC nos haría pensar que *matK*, por presentar una proporción más baja de GC, debería presentar tasas sinónimas más bajas que los otros dos genes, sin embargo las tasas sinónimas entre genes resultaron muy similares (Figura 10). Por lo tanto, el contenido de GC, en este estudio no parece ser la causa de esta homogeneidad de tasa sinónima entre genes encontrada. No estimamos el uso de codones, pero sabemos que los tres genes se encuentran en la misma región del genoma de cloroplasto, en la LSC, y las tasas de mutación tienen a

ser similares en las misma regiones del genoma (Wolfe et al. 1989, Matassi et al. 1999, Casane et al. 1997, den Dunnen et al. 1989, Lamerdin et al. 1996). Puede ser entonces que, la tasa de mutación similar entre regiones expliquen la similitud observada en las tasas sinónimas de los tres genes. Numerosas hipótesis se han propuesto para explicar la variación de tasas sinónimas en distinta partes del genoma (o la similitud de éstas en regiones aledañas) producto de la variación en la tasa de mutación. La eficiencia en la reparación de lesiones en el DNA pueden variar entre regiones a causa de factores endógenos u exógenos particulares a las distintas regiones (Boulikas 1992, Holmquist 2004). De igual manera, la eficiencia en los mecanismos de reparación como aquella por escisión de bases, varían a lo largo del genoma y en regiones cromosomales enteras (Bohr et al. 1987, Kantor et al. 1990). Estos mecanismos afectan directamente la tasas de mutación produciendo tasas diferenciales a lo largo del genoma. Aunque esto se ha visto principalmente en animales, estas mismas hipótesis pueden aplicar de la misma manera para las regiones genómicas del cloroplasto de las plantas y explicar en parte la similitud encontrada de la tasa sinónima de los tres genes.

VII.II HETEROGENEIDAD DE TASA A LO LARGO DEL GRUPO

Además de que los distintos genes presentan distintas tasas sinónimas, otro resultado contundente fue la enorme heterogeneidad de tasa encontrada a lo largo de Rosidae. Desentrañar en qué medida existe un reloj molecular fue uno de los propósitos de la biología evolutiva que generó mayor discusión en las ultimas dos décadas. Se ha comprobado que la existencia de un reloj es más bien la excepción y no la regla (Langley y Fitch, 1974, Mindell y Thacker, 1996). La heterogeneidad en las tasas de

sustitución encontrada entre linajes en el presente trabajo no apoya la existencia de dicho reloj. Más bien es evidencia de la gran diferencia en las tasas de sustitución entre especies. Encontramos variaciones entre especies en el análisis concatenado, por factores de hasta 300 en las tasa sinónimas y por factores de hasta 172 en las no sinónimas (Tabla 7). En el análisis de genes independientes, de igual manera y en congruencia con trabajos anteriores sobre genes de cloroplasto, observamos variación tanto en las tasas sinónimas entre linajes (Gaut et al. 1992, Bousquet et al. 1992, Muse 2000), como en la tasa no sinónima (Bousquet et al. 1992, Muse 2000).

Varios trabajos han tratado de mostrar si esta heterogeneidad es compartida por múltiples genes develando así un “efecto de linaje”. Es decir, si distintos genes siguen el mismo patrón de aceleración y desaceleración en los mismo grupos en respuesta a algún proceso actuando sobre éstos, como lo puede ser el tiempo generacional y efectos de las tasas de especiación, la fidelidad de la replicación del DNA y cambios en los tamaños poblacionales, entre otros (Britten 1986, Martin y Palumbi 1993, Eyre-Walker y Gaut 1997, Gaut et al. 1997).

Aunque sólo se puede asegurar la presencia de “efectos de linaje” con estudios multi-locus y multi-genomas, es necesario que mencionemos que en nuestro estudio observamos un patrón de aceleraciones y desaceleraciones casi idéntico en todo el grupo tanto en el análisis concatenado, como en el de genes independientes. Estos patrones fueron especialmente claros en las tasas sinónimas. Sin embargo en las tasas no sinónimas *matK* mostró un patrón similar de heterogeneidad entre linajes, a aquel presentado por los otros genes en las tasas sinónimas. En *atpB* y *rbcL*, aunque es posible percibir ligeros aumentos en algunas especies cuya tasa sinónima se ha visto acelerada, no podemos asegurar la existencia de un mismo patrón, ni descartarla, debido a sus bajas tasas de sustitución. Era de esperarse que los efectos de linaje sean

muy claros en las tasas sinónimas, pues en este caso, no existen procesos que como la selección natural, minimicen estos efectos.

Sabemos que la tasa de sustitución de un linaje es una mezcla entre procesos que afectan la tasa de mutación (eficiencia de reparación del DNA, tasas metabólicas, etc.) y la probabilidad de fijación de dichas mutaciones. Esta es determinada por los tamaños efectivos poblacionales y la selección natural. La existencia de incrementos paralelos en las tasas sinónimas y no sinónimas en un grupo, sugieren un probable incremento en la tasa de mutación (Xiang et al. 2008). Las presiones selectivas no pueden ser responsables ya que estas sólo afectarían el patrón de tasa no sinónima y otras causas como los tamaños poblacionales, aunque podrían explicar la variación entre grupos, ésta no estaría compartida por todos los genes.

Pocos autores han evaluado la existencia de “efectos de linaje” con estudios multigénicos, sin embargo se ha visto que, en su mayoría estos efectos están presentes en las tasas sinónimas pero no en las no sinónimas (Muse y Gaut 1997, Muse 2000). Se cree que las tasas no sinónimas presentan “efectos de locus” es decir, las tasas sinónimas varían según el gen y se atribuye en mayor medida a la selección natural actuando de manera diferencial sobre cada uno. En nuestro análisis, aunque ciertas especies si muestran incrementos paralelos de los tres genes en las tasas no sinónimas, en su mayoría no se sigue un patrón igual al de la tasas sinónimas. La alta proporción de sitios neutros en *matK* explica porque el patrón de variación de las tasas no sinónimas de este gen es evidente. En el caso de *atpB* y *rbcL*, las presiones selectivas estarían mermando el “efecto de linaje” sobre sus tasas no sinónimas. Dicho de otra manera, la selección natural en favor de la preservación de funciones de las proteína codificadas que tienen funciones fundamentales en los ciclos necesarios para la vida de las plantas, contrarresta la fuerza con la que la tasa de mutación determina su

patrón; aquellas especies donde dicha fuerza tendiese a elevar la tasa de sustitución, la tasa de mutación se vería contrarrestada por la selección natural. Aunque *matK* también tiene una función importante y la selección actúa sobre él, no lo hace con tanta fuerza por la proporción de sitios que pueden soportar mutaciones no sinónimas y que no afectan la función de la proteína. De esta manera, las tasas no sinónimas en *matK* apoyan la presencia de un “efecto de linaje” y, en *atpB* y *rbcL* la existencia de un “efecto de locus”

VII.III RELACIÓN ENTRE LAS TASAS DE SUSTITUCIÓN Y ATRIBUTOS ESPECÍFICOS (CICLO DE VIDA Y HÁBITO DE VIDA)

En las figuras 7, 8, 10 y 11, podemos observar que el patrón de tasas de sustitución en Rosidae no es similar entre grupos taxonómicos. Las familias no presentaron tasas similares, mucho menos los ordenes. Se observa alta variación de tasas, tanto sinónimas como no sinónimas dentro de un mismo grupo taxonómico. Los criterios para delimitar un grupo taxonómico están basados en la presencia o ausencia de una gran variedad de caracteres que probablemente no corresponden a aquellos que determinan los valores de tasa dentro de un linaje. Generalmente son caracteres morfológicos los que se han usado para delimitar los límites entre taxa por encima de especie, por ello, no podemos esperar que grupos taxonómicos que fueron delimitados con este tipo de caracteres presenten tasas similares – a menos de que exista una correlación directa entre las tasas molculares de éstos genes y los atributos morfológicos seleccionados para delimitar taxa superiores. La evaluación de la existencia de una relación entre la forma de vida leñosa o herbácea y las tasas de sustitución, así como de la característica de estado de vida anual o perenne y las tasas, se hizo con lo anterior en mente, pues esta categorización sí delimita a los grupos en

base a características que pueden determinar las tasas de sustitución (Andreasen y Baldwin 2001, Eyre-Walker y Gaut 1997, Kay et al. 2006, Laroche et al. 1997, Muse y Gaut 1997, Smith et al. 2008, Soria-Herranz et al. 2008). Debido a que las tasas de mutación son en parte responsables de las variaciones en las tasas de sustitución entre linajes, y las tasas de mutación están relacionadas con el tiempo generacional, se puso a prueba la hipótesis que aquellas especies que presenten tiempo generacionales menores (especies anuales y especies herbáceas) tendrán tasas de sustitución más altas que las especies con tiempos generacionales mayores (especies perennes y especies leñosas).

Los resultados de las pruebas de U Mann-Whitney, cuya finalidad fue determinar si existían diferencias entre las tasas (tanto sinónima como no sinónima) de las especies con distinto ciclo o hábito de vida, no fueron significativos, es decir, no se encontraron diferencias de tasas entre estos grupos. Se esperaba que, tanto las plantas anuales como las herbáceas presentaran valores de tasas mas altos ya estas tienen tiempo generacionales mas cortos, y este tipo de plantas experimentan mas mutaciones por unidad de tiempo que organismos con tiempo generacionales mas largos (Kimura 1983, Wu y Li 1985). Esta, por ser una explicación de tipo neutral, predecía por lo menos encontrar esta relación en las tasas sinónimas, lo cual no fue hallado.

Es importante recordar que nosotros estimamos tasas de sustituciones relativas, que representan un mezcla de la tasa absoluta y el tiempo transcurrido. Aunque comparaciones finas no pueden hacerse entre las tasas de grupos no hermanos, por la inclusión del componente del tiempo, los supuestos detrás de la teoría de estimación de tasas relativas (con el método empleado) son lo suficientemente fuertes para que las señales encontradas en tasas relativas se observen de igual manera en las absolutas

(A. Castillo, comunicación personal; B. Gaut, resultados no publicados). Por lo mismo, las comparaciones se harán siempre tomando esto en cuenta.

La hipótesis de tiempo generacional para explicar la heterogeneidad entre linajes ha sido muy discutida, como ya mencionamos con anterioridad, por el hecho de que ésta es una hipótesis en la que la heterogeneidad de tasa entre linajes puede ser explicada en términos de las diferencias de divisiones celulares de la línea germinal por unidad de tiempo. Las plantas carecen de distinción entre células somáticas y germinales y las mutaciones somáticas pueden ser transmitidas a los gametos, por lo que esta hipótesis, por lo menos para estos organismos, no está sustentada en bases teóricas fuertes. Sin embargo, numerosos estudios han encontrado una relación inversamente proporcional entre el tiempo generacional y las tasas de sustitución (Andreasen y Baldwin 2001, Eyre-Walker y Gaut 1997, Muse y Gaut 1997, Soria-Herranz et al. 2008, Smith et al. 2008), aunque en algunos cuantos otros no, o los resultados no han sido significativos (Andreasen y Baldwin 2001, Kay et al. 2006, Gaut et al. 1997, Jobson y Albert 2002, Whittle y Johnston 2003). Smith y Donoghue (2008) realizaron un estudio cuyas características descartaban todos los posibles errores y sesgos que pudiesen haber tenido la mayoría de los estudios que fallaron en reconocer esta relación (del tiempo generacional y la tasa), como un muestreo denso, empleando genes de los tres genomas, así como la cercanía de los grupos filogenéticos. Encontraron que en efecto en todos sus grupos muestreados, si existía una relación inversamente proporcional entre el tiempo generacional y la tasa. Con esta evidencia, suponemos que la falta de relación encontrada en el presente trabajo, puede deberse, en parte, al muestreo tan dispar que tuvimos para cada grupo. Nuestro muestreo se compuso de 30 plantas herbáceas y 173 leñosas. De igual manera contamos con 14 plantas anuales y 189 perennes. Aunque la prueba de U Mann-Whitney no requiere

del mismo número de individuos en cada grupo para poder realizarse, un muestreo dispar en este sentido puede afectar directamente el resultado (Hallaban y Rosenthal 1996). Creemos que esto pudo haber llevado a la falta de diferencias significativas entre grupos.

Por otra parte, es necesario que consideremos el efecto del muestreo heterogéneo en el número total de especies muestreadas de cada grupo (Tabla 3). Se sabe que, tener especies sobrerrepresentadas en un muestreo pueden afectar directamente sobre los valores estimados de tasas relativas de sustitución. Las especies únicas en muestreos o las subrepresentadas presentan valores más altos de tasa (Webster 2003, 2004). La comparación entre las tasas de las especies con distintos atributos, puede verse afectada pues los valores de éstas no representarán los cercanamente “verdaderos” (que con un muestreo más denso surgirían), y así, la relación encontrada o la falta de ésta, no representara la “real”. Es necesario la consideración de dicha posibilidad.

Por último, es necesario que consideremos otro posible factor que pudiese afectar nuestros datos.

Así como el tiempo generacional, se ha propuesto que los tamaños efectivos poblacionales, por estar relacionados con la frecuencia de especiación, también pueden influir en las tasas (Busquet 1992). Se propone que las especies con tamaños efectivos pequeños tienden a especiar más (Levin y Wilson 1976, Levin 1988, Govindaraju 1989) y esto frecuentemente lleva a cuellos de botella y efectos fundadores que pueden aumentar la probabilidad de nuevas variantes. Ahora, así como estos eventos pueden aumentar la probabilidad de fijación de las mutaciones por deriva génica, también pueden purgarlas. Por esta razón, es difícil poner a prueba la hipótesis del tamaño poblacional afectando las tasas, pues no sabemos en que dirección lo haga. Por esto mismo, es posible que el tamaño poblacional influya en los

resultados de nuestras correlaciones en el siguiente sentido; las plantas herbáceas y anuales tienen tamaños poblacionales pequeños en comparación con las leñosas y algunas perenes, por lo tanto es probable, como ya mencioné, que en algunas de estas especies, los efectos de la especiación vía cuellos de botella o efecto fundador hayan sido negativos en el sentido en el que, en éstas se hayan purgado en vez de fijado, parte de sus mutaciones. Si esto en efecto sucedió en algunas especies, la relación entre las tasas de las especies anuales contra las perennes y las de las herbáceas contra las leñosas, se vería afectada y no se observaría la relación esperada. Si embargo, nosotros no comparamos las tasas de especies con el mismo tamaño poblacional, por lo cual, no podríamos asegurar que este factor en realidad afectó nuestro estudio. Por esto y que numerosos estudios que demuestran la relación entre las tasas de sustitución y ciertos atributos de historia de vida de las plantas, creemos que los errores de muestreo pudieron ser en este caso los que causaron dicha carencia de relación.

VII.IV SOBRE LA TASAS DE SUSTITUCION EN GENERAL Y LOS INCREMENTOS DRAMATICOS OBSERVADOS

Un resultado particularmente intrigante fue la observación de aceleraciones dramáticas de tasas relativas sinónimas y no sinónimas en algunas especies, tanto en el análisis concatenado como en el de genes independientes (Figura 9, 10, 11; aquí las terminales aparecen como géneros, pero cada uno representa a sólo una especie). *Podostemum ceratophyllum* (Podostemataceae, Malpighiales), *Piriqueta cistoides* (Turneraceae, Malpighiales), *Ixonanthes reticulata* (Ixonanthaceae, Malpighiales), *Tuberaria guttata* (Cistaceae, Malvales), *Pelargonium x hortorum* (Geraniaceae, Geraniales), *Larrea tridentata* (Zygophyllaceae, Zygophyllales), *Glycine max*

(Fabaceae, Fabales) y *Medicago sativa* (Fabaceae, Fabales) fueron las especies que mostraron este comportamiento.

En el análisis de genes independientes estos incrementos son claramente visibles para los tres genes en las tasas sinónimas, en las no sinónimas esto sólo es evidente y claro para *matK*, como ya mencionamos debido a que su comportamiento se acerca más a la neutralidad por el número elevado de sitios neutros que posee.

Varias cosas deben decirse al respecto. Primero, los trabajos que con anterioridad han reportado incrementos de tasa (sean altos o bajos) revelando así “efectos de linaje”, los han reportado en su mayoría en tasas sinónimas (Muse y Gaut 1997, Muse 2000, Cho et al. 2004, Mower et al. 2007, Parkinson et al. 2005, Bakker et al. 2006) puesto que genes codificantes con selección fuerte actuando sobre ellos, se han utilizado en éstos. Guisinger fue el único que reportó incrementos en tasa no sinónima en genes codificantes y lo atribuye a la baja selección actuando sobre estos. En nuestro análisis concatenado, las aceleraciones dramáticas se observan tanto en tasas sinónimas como no sinónimas. Creemos que esto (el hecho de que se observen las aceleraciones en las tasas no sinónimas) sólo se debe a la influencia de las tasas no sinónimas particularmente altas de *matK* (que se observan en el análisis de genes independientes).

Es la primera vez que se reportan incrementos tan dramáticos de tasa en estas especies, con excepción de *Pelargonium* que, con anterioridad se han reportado aceleraciones fuertes de sus tasas tanto en genes mitocondriales como de cloroplasto (Cho et al. 2004, Parkinson et al. 2005, Bakker et al. 2006, Guisinger et al. 2008, Mower et al. 2007). Varios factores deben tomarse en consideración al tratar de analizar este fenómeno. Primero, debemos recordar que aunque las tasas relativas muestran señales que probablemente se hagan evidentes en las tasas absolutas, no

sabemos en que medida esto afecte nuestros resultados, en el sentido en el que pueden existir aumentos de tasa que, si estimásemos las absolutas, no estarían presentes. La comparación entre tasas relativas debe hacerse, formalmente, sólo entre especies hermanas pues se supone que entre ellas ha transcurrido exactamente el mismo tiempo desde su divergencia. Sin embargo, la comparación entre grupos muy cercanamente relacionados puede hacerse pues es probable que no haya transcurrido tanta diferencia de tiempo entre ellas (aunque cabe la posibilidad de esto). Si comparamos las tasas de las especies que mencionamos con anterioridad con las de sus grupos hermanos mas inmediatos o las especies mas cercanamente relacionadas a ellas, el incremento de tasa sigue siendo evidente. Podemos pensar, ahora, que en efecto estas aceleraciones existen. Sin embargo, el por qué se hayan hecho evidentes en nuestro análisis es diferente.

Puede ser que algunas de estas especies, por ser miembros únicos del muestreo de su grupo, o pertenezcan a grupos muy pobremente muestreados, como es el caso de *Larrea*, *Tuberaria*, *Glycine* y *Medicago*, muestren incrementos artificiales a causa de esto puesto que, las especies con muestreos pobres tienden a presentar ramas mas largas. Malpighiales fue el grupo mayor representado y tres especies pertenecientes a este formaron parte del grupo cuyas tasas se aceleraron dramáticamente, podemos suponer que en estas especies su tasa no se vio afectada por el efecto del muestreo. Se requiere un muestreo más denso para desentrañar picos y valles ocultos ahora por ramas relativamente largas. Probablemente con mas especies muestreadas, algunos incrementos ahora reportados no serian tan evidentes si es que las especies agregadas mostraran patrones de tasa similares a éstas.

Por su parte, *Pelargonium*, aunque fue uno de los dos representantes del orden Geraniales en nuestro muestreo y pudiera haber parecido que el pobre muestreo de su

grupo condujo a esta aceleración artificial, ya se ha reportado la aceleración de sus tasas (Cho et al. 2004, Parkinson et al. 2005, Bakker et al. 2006, Gusinger et al. 2008, Mower et al. 2007). Debido a que la aceleración de este grupo se ha reportado tanto para genes de cloroplasto como mitocondriales, factores a nivel de organismo y no a nivel de genoma, pueden ser los responsables de dicho comportamiento. Efectos de los tiempos generacionales (Eyre-Walker 1997, Laroche et al. 1997, Laroche y Busquet 1999, Andreasen y Baldwin 2001, Muse y Gaut 1997, Soria-Herranz et al. 2008, Smith et al. 2008) (aunque en nuestro análisis no encontramos relación entre estos atributos), transición vía paterna de los organelos (Whittle y Johnston 2002) o tasas de sustitución y especiación correlacionadas (Barraclough y Savolainen 2001) se han propuesto como hipótesis.

El genoma del cloroplasto está relativamente conservado entre los grupos de plantas en contenido y orden génico así como en organización, sin embargo se ha visto que el genoma del cloroplasto de *Pelargonium x hortorum* muestra niveles sin precedencia de cambios tanto de contenido como de orden génico (Chumley et al. 2006). El efecto del rearrreglo cromosomal y las tasas de sustitución se ha reportado en animales (Shao et al. 2003, Xu et al. 2006) pero recientemente, Gusinger et al. (2008) realizó un estudio sobre la familia Geraniaceae (que incluye a *Pelargonium*) analizando las tasas de 72 genes de cloroplasto en 47 taxa de angiospermas. Encontró una fuerte correlación entre este reordenamiento y cambio genómico del cloroplasto y las tasas. Propusieron un modelo en el cual una inadecuada reparación del DNA conlleva al rearrreglo genómico y elevadas tasas de sustitución además de un posible control transcripcional de los genes de cloroplasto por el núcleo conlleva a una alterada expresión génica y a los incrementos de tasa observados. Sin embargo, esto no explica porqué en los genes mitocondriales este efecto de aceleración también es observado.

Puede ser que una combinación de los factores propuestos por Guisinger et al. (2008) y factores orgánicos contribuyan al patrón observado.

Nuestro trabajo muestra la aceleración de más especies, sin embargo, como podemos observar son muchas las hipótesis de por qué esto puede suceder en una especie. Nuestros datos por si solos sólo demuestran la existencia de dicha tasa, pero se requiere mucha información para discernir entre estas hipótesis. Es necesaria mayor información sobre la tasas de sustitución de genes de los demás genomas en Rosidae, así como el conocimiento de muchísimos más factores (como tiempo generacionales, eficiencia de reparación en los genomas de las especies, tamaños efectivos poblacionales, tasas de mutación, etc.). De igual manera, la estimación posterior de tasas absolutas nos permitirá una comparación menos sesgada entre especies, lo cual además, nos puede arrojar una luz acerca de las tasa de sustitución de un linaje (incluyendo todos los ancestro que derivaron en el) a través del tiempo.

Las tasas de sustitución son resultado de una combinación de factores. En este momento, no es posible decir si es el tiempo generacional, tasa de especiación, tasa de mutación, tamaños efectivos poblacionales, eficiencia en la reparación del DNA, alguna combinación de estos factores, los responsables del patrón observado en estas especies. Claramente, generar datos adicionales de genes tanto nucleares y mitocondriales como de cloroplasto es necesario para ayudarnos a distinguir mas claramente entre estas hipótesis. Algunas de la anteriormente mencionadas hipótesis (tiempo generacional, tasa de especiación, tamaños efectivos poblacionales) se esperaría que afectara los genomas mitocondriales y nucleares en una manera similar, mientras que factores que afecten la tasa de mutación como la eficiencia de reparación

del DNA no afectaría de manera similar, ya que estos procesos involucran diferentes enzimas en cada uno de los tres genomas (Young y de Pamphilis 2005).

Evidentemente determinar los factores causales de los valores de tasas de sustitución es un proceso muy complejo que requiere de mucha mas información de la que actualmente esta disponible. Sin embargo este trabajo sirve como análisis de información que, después servirá para la caracterización de procesos que determinan las tasas en estas misma especies.

IX. REFERENCIAS

- Ainouche, A.K y Bayer, R.J. 1999. Phylogenetic relationships in *Lupinus* (Fabaceae: Papilionoideae) based on internal transcribed spacer sequences (ITS) of nuclear ribosomal DNA. *Am. J. Bot.* 86: 590-607.
- Akaike, H. 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans. Autom. Contr.* 19: 716-723.
- Akaike, H. 1983. Information measures and model selection. *Int. Stat. Inst.* 22: 277-291.
- Akashi, H. 1994. Synonymous codon usage in *Drosophila melanogaster* natural selection and translational accuracy. *Genetics.* 13: 925-937.
- Akashi, H. 2001. Gene expression and molecular evolution. *Curr. Op. Gen. Dev.* 11: 660-666.
- Andreasen, K., Baldwin, B.G. 2001. Unequal evolutionary rates between annual and perennial lineages of checker mallows (*Sidalcea*, Malvaceae): evidence from 18S-26S rDNA internal and external transcribed spacers. *Mol. Biol. Evol.* 18(6): 936-944.

A.P.G. [= Angiosperm Phylogeny Group] II. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Bot. J. Linnean Soc.* 141: 399-436.

Barthel, M.M. y Hilu, K.W. 2008. Evaluating evolutionary constraint on the rapidly evolving gene matK using protein composition. *J. Mol. Evol.* 66: 85-97.

Barracough T.G., y Savolainen, V. 2001. Evolutionary rates and specie Diversity in flowering plants. *Evolution.* 55:677-683.

Barton, N.H. y Charlesworth, B. 1984. Genetic revolutions, founder effects and speciation. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 15: 133-164.

Bausher. M.G., Singh, N.D. Lee, S.-B., Jansen, R.K. Daniell, H. 2006. The complete chloroplast genome sequence of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck var "Ridge Pineapple": organization and phylogenetic relationships to other angiosperms. *BMC Plant Biol.* 6:21.

Boulikas, T. 1992. Evolutionary consequences of nonrandom damage and repair of chromatin domains. *J. Cell. Biochem.*

Buckley, T.R. y Cunninham, C.W. 2002. The effects of nucleotide substitution model assumptions

on estimates of nonparametric bootstrap support. *Mol. Biol. Evol.* 19: 394-405.

Burham, K.P. y Anderson, D.R. 1998. Model selection and inference: A practical information-

theoretic approach. Springer-Verlg. Estados Unidos

Busquet, S., Strauss, S.H., Doerksen, A.H., Price, R.A. 1992. Extensive variation in evolutionary

rate of *rbcL* gene sequences among seed plants. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 89: 7844-7848.

Britten, R.J. 1986. Rates of DNA sequence evolution differ between taxonomic groups. Science.

231: 1393-1398.

Bruno, W.J. y Halpern, A.L. 1999. Topological bias and inconsistency of maximum likelihood

using wrong models. Mol. Biol. Evol. 16: 564-566.

Cameron K.M., Chase, M.W., Anderson, W.R., Hills, H.G. 2001. Molecular systematics of Malpighiaceae: evidence from plastid *rbcL* and *matK* sequences. Am. J. Bot. 88(10): 1847-

1862.

Casane, D., Boissinot, S., Chang, B.H., Shimmin, L.C., Li, W.H. 1997. Mutation pattern variation among regions of the primate genome. J. Mol. Evol. 45: 216-226.

Chase, M.W., Soltis, D.E., Olmstead, R.G., Morgan, D., Les, D.H., Mishler, B.D., Duvall, M.R.,

Price, R.A., Hills, H.G., Qui, Y-L., Kron, K.A., Rettig, J.H., Conti, E., Plamer, J.D., Manhart, J.R., Sytsma, K.J., Michaels, H.J., Kress, W.J., Karol, K.G., Clark, W.D., Hedrén, M., Gaut, B.S., Jansen, R.K., Kim, K-J., Wimpee, C.F., Smith, J.F., Furnier, G.R., Strauss, S.H., Xiang, Q-Y., Plunkett, G.M., Soltis, P.S., Swensen, S.M., Williams, S.E., Gadek, P.A., Quinn, C.J., Eguiarte, L.E., Golenberg, E., Learn, G.H., Graham, S.W., Barret, S.C.H., Dayanandan, S., Albert, V. 1993. Phylogenetics of seed plants: an analysis of nucleotide sequences from plastid gene *rbcL*. Ann. Missouri. Bot. Gard. 80: 528-580.

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(3): 822-846.

Crawford, A.J. 2003. Relative rates of nucleotide substitution in frogs. J. Mol. Evol. 57:
636-641.

Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering
plants.

Columbia University Press, New York.

Darwin, C. 1859. On the origin of species by means of natural selection or the preservation
of

favoured races in the struggle for life. Modern Library, New York.

Davis, C.C., Webb, C.O., Wurdack, K.J., Jaramillo, C.A., Donoghue, M.J. 2005. Explosive
radiation of Malpighials supports a mid-Cretaceous origin of modern tropical rain
forests.

Amer. Naturalist 165: E36-E65.

den Dunnen, J.T., van Neck, J.W., Cremers, F.P., Lubsen, N.H., Schoenmakers, J.G. 1989.

Nucleotide sequence of the rat gamma-crystallin gene region and comparison with
an

orthologous human region. Gene. 78: 201-213.

Dickerson, R.C. 1971. The structure of cytochrome C and the rates of molecular evolution.
J. Mol.

Evol. 1: 26-45

Dobzhansky, T. 1955. A review of some fundamental concepts and problems of population

- genetics. Cold spring harbor Symp. Quant. Biol. 20: 1-15.
- Downie, S.R. y Palmer, J.D. 1992. Use of chloroplast DNA rearrangements in reconstruction plant phylogeny. En Soltis, (ed), Molecular evolutionary biology. Vol 30. 93-120. Plenum Press New York. EUA.
- Drummond, A.J. y Rambaut, A. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary análisis by sampling trees. BMC Evol. Biol. 7: 214.
- Edgar, R.C. 2004. MUSCLE: multiple alignmet with high accuracy and high throughput. Nu. Ac. Res. 32 (5): 1792-1797.
- Ems, S.C., Morden, C.W., Dixon, K.W. 1995. Transcription, splicing, and editing of plastid RNAs in the nonphotosynthetic plant *Epifagus virginiana*. Pl. Mol. Biol. 29: 621-733.
- Eyre-Walker, A., y Gaut, B.S. 1997. Correlated rates of synonymous site evolution across plant genomes. Mol. Biol. Evol. 14: 455-460.
- Felsenstein, J. 1981. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. J. Mol. Evol. 17: 368-376.
- Felsenstein, J. 1993. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.5c. Department of Genetics, University of Washington, Seattle.
- Gaut, B.S., Muse, S.V., Clegg, M.T. 1992. Rate rates of nucleotide substitution at the *rbcL* locus of monocotyledonous plants. J. Mol. Evol. 35: 292-303.

Gaut, B.S., Muse, S.V., Clegg, M.T. 1993. Relative rates of nucleotide substitution in the chloroplast

genome. *Mol. Phyl. Evol.* 2: 89-96.

Gaut, B.S., Clark, L.G., Wendel, J.F., Muse, S.P. 1997. Comparisons of the molecular evolutionary process at *rbcL* and *ndhF* in the grass family (Poaceae). *Mol. Biol. Evol.* 14(7): 769-777.

Geyer, C.J. 1991. Markov chain Monte Carlo maximum likelihood. En Keramidas, (ed). *Computing*

Science and Statistics: Proceedings of the 23rd Symposium on the Interface. Interfase Foundation. 156-163 pp.

Gillespie, J.H. 1986. Natural selection and the molecular clock. *Mol. Biol. Evol.* 3: 1054-1057.

Goldman, N y Yang, Z. A codon-based model of nucleotide substitution for protein-coding DNA

sequences. *Mol. Biol. Evol.* 11 (5): 725-736.

Hall, T.A. 1999. BioEdit. Sequence alignment editor. *Nuc. Ac. Symp. Ser.* 41: 95-98.

Hallaban, M y Rosenthal, R. 1996. Statistical power: Concepts, procedures, and applications. *Behav. Res. Ther.* 34: 489-499.

Hasegawa, M., Kishino, H., Yano, T. 1985. Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *J. Mol. Evol.* 21: 160-174.

Hillis, D.M., Moritz, C., Mable, B.K. 1996. *Molecular Systematics.* 2a ed. Sinauer Associates.

Estados Unidos.

Hilu, K.W. y Liang, H. 1997. The *matK* gene: sequence variation and application in plant

systematics. Am. J. Bot. 84 (6): 830-839.

Hilu, K.W., Borsch, T., Müller, K., Soltis, D.E., Soltis, P.S., Savolainen, V., Chase, M.W., Powell,

M.P., Alice, L.A., Evans, R., Sauquet, H., Neinhuis, C., Slotta, T.A.B., Rohwer, J.G., Campbell, C.S., Chatrou, L.W. 2003. Angiosperm phylogeny based on *matK* sequence information. Amer. J. Bot. 90: 1758-1776.

Holmquist, G.P. 1994. Chromatin self-organization by mutation bias. J. Mol. Evol. 39 (5): 436-438.

Hoot, S.B., Culham, A., Crane, P.R. 1995. The utility of *atpB* sequences in resolving phylogenetic

relationships: Comparison with *rbcL* and 18s ribosomal DNA sequences in the Lardizabalaceae. Ann. Missouri. Bot. Gar. 82 (2): 194-207.

Huelsenbeck, J.P. y Hillis, D.M. 1993. Success of phylogenetic methods in the four-taxon case. Syst.

Biol. 42: 247-264.

Huelsenbeck, J.P. y Ronquist, F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees.

Bioinformatics. 17: 754-755.

Jobson, R., Albert, V.A. 2002. Molecular rates parallel diversification contrasts between carnivorous plant sister lineages. Cladistics. 18: 127-136.

Judd, W.S. y Olmstead, R.G. 2004. A survey of tricolpate (eudicot) phylogeny. Amer. J. Bot. 91:

1627-1644.

Jukes, T.H. y Cantor, C.R. 1969. Evolution of protein molecules, pp. 21-132. *En* Munro, H.N. (ed),

Mammalian Protein Metabolism. Academic Press, New York.

Kay, K.M., Whittall, J.B., Hodges, S.A. 2006. A Survey of nuclear ribosomal internal transcribed spacer substitution rates across angiosperms: an approximate molecular clock with life history effects. *BMC Evol. Biol.* 6: 36.

Kimura, M. 1968. Evolutionary rate at molecular level. *Nature*. 217: 624-626

Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through

comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 16: 111-120.

Kimura, M. 1981. Estimation of evolutionary distances between homologous nucleotide sequences.

Proc. Natl. Acad. Sci. 78: 454-458.

Kimura, M. y Ohta, T. 1974 On some principles governing molecular evolution. *Proc. Natl. Acad.*

Sci. 71: 2848-2852

Kimura, M. 1983. *The Neutral theory of molecular evolution*. Cambridge University Press, Cambridge.

Kimura, M. y Ohta, T. 1971. On the rate of molecular evolution. *J. Mol. Evol.* 1: 1-17.

Kishino, H. y Hasegawa, M. 1989. Evaluation of the maximum likelihood estimate of the evolutionary tree topologies from DNA sequence data, and the branching order in Hominoidea. *J. Mol. Evol.* 29: 170-179.

Lamerdin, J.E., Stilwagen, S.A., Ramirez, M.H., Stubbs, L., Carrano, A.V. 1996. Sequence analysis of the ERCC2 gene regions in human, Mouse, and hamster reveals three linked genes. *Genomics*. 1996. 34: 399-409.

Langley, C.H. y Fitch W.M. 1974. An examination of the constancy of the rate of molecular evolution. *J. Mol. Evol.* 3: 161-177.

Laroche, J., Li, P., Maggia, L., Bousquet, J. 1997. Molecular evolution of angiosperm mitochondrial introns and exons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 94: 5722-5727.

Laroche, J. Y Bousquet, J. 1999. Evolution of the mitochondrial *rps3* intron in perennial and annual angiosperms and homology to *nad5* intron 1. *Mol. Biol. Evol.* 16: 441-452.

Lewontin, R.C.y Hubby. 1966. A molecular approach to the study of genetic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics*. 54: 595-609

Li, W-H., Wu, C-I., Luo, C-C. 1985. A new method for estimating synonymous and nonsynonymous rates of nucleotide substitution considering the relative likelihood of nucleotide and codon changes. *Mol. Biol. Evol.* 2 (2): 150-174.

Maddison, D.R. y Maddison, W.P. 2005. *MacClade 4: Analisis of phylogeny and carácter evolution*. Version 4.08. Sinauer Associates. Estados Unidos.

Magallón, S. Crane, P.R., Herendeen, P.S. 1999. Phylogenetic pattern, diversity and diversification of Eudicots. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 86 (2): 297-372.

Magallón, S y Castillo, A. 2009. Angiosperm diversification through time. *Am. J. Bot.* 96 (6): 349-

365.

Martin, A.P. y Palumbi, S.R. 1993. Body size, metabolic rate, generation time, and the molecular

clock. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 90: 4087-4091.

Matassi, G.P., Sharp, P.M., Gautier, C. 1999. Chromosomal location effects on gene sequence

evolution in mammals. *Curr. Biol.* 9: 786-791.

Matthews, M.L. y Endress, P.K. 2006. Floral structure and systematics in four orders in rosids,

including a broad survey of floral mucilage cells. *Pl. Syst Evol.* 260: 199-221.

Metropolis, N., Rosenbluth, A.W., Rosenbluth, M.N., Teller, A.H., Teller, E. 1953.

Equations of

state calculations by Fast computing machines. *J. Chem. Phys.* 21: 1087-1091.

Mindell, D.F. y Thacker, C.E. 1996. Rates of molecular evolution: phylogenetic issues and applications. *Ann. Rev. Eco. Syst.* 27: 279-303.

Miziorko, H.M., Lorimer, G.H. 1983. Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase.

Annu Rev Biochem. 52: 507-535.

Miyata, T. y Yasunaga, T. 1980. Molecular evolution of mRNA: a method for estimating

evolutionary rates of synonymous and amino acid substitution from homologous sequences and its application. *J. Mol. Evol.* 16: 23-26.

Mooers, A.O., Harvey, P.H. 1994. Metabolic rate, generation time and molecular evolution in birds. *Mol. Phylogenet. Evol.* 3: 344-350.

- Mower, J.P., Touzet, P., Gummow, J.S., Delph, L.F., Palmer, J.D. 2007. Extensive variation in synonymous substitution rates in mitochondrial genes of seed plants. *BMC. Evol. Biol.* 7: 135-146.
- Muller, K.F., Borsch, T., Hilu, K.W. 2006. Phylogenetic utility of rapidly evolving DNA at high taxonomical levels: Contrasting *matK*, *trnT-F*, and *rbcL* in basal angiosperms. *Mol. Phylogenet. Evol.* 41: 99-117.
- Muse, S.P. 2000. Examining patterns of nucleotide substitution in plants. *Plant. Mol. Biol.* 42: 25-43.
- Muse, S.P. 1996. Estimating synonymous and nonsynonymous substitution rates. *Mol. Biol. Evol.* 13: 105-114.
- Muse, S.V y Gaut, B.S. 1994. A likelihood approach for comparing synonymous and nonsynonymous nucleotide substitution rates, with application to the chloroplast genome. *Mol. Biol. Evol.* 11 (5): 715-724.
- Muse , S.V. y Gaut, B.S. 1997. Comparing patterns of nucleotide patterns among chloroplast loci using the relative ratio test. *Genetics.* 146: 393-399.
- Nei, M. y Gojobori, T. 1986. Simple methods for estimating the number of synonymous and nonsynonymous substitutions. *Mol. Biol. Evol.* 3 (5): 418-426.
- Neuhaus, H., Link, G. 1987. The chloroplast *tRNA^{Lys}* (UUU) gene from mustard (*Sinapsis alba*) contains a class II intron potentially coding for a maturase-related polypeptide. *Curr. Genet.* 11: 251-257.
- Nickrent, D.L., Der, J.P., Anderson, F.E. 2005. Discovery of the photosynthetic relatives of the “Maltese mushroom” *Cynomorium*. *BMC. Evol. Biol.* 5(38): 1-11.
- Nielsen, R., Yang, Z. 1998. Likelihood models for detecting positively selected amino acids sites and applications to the HIV-1 envelope gene. *Genetics.* 148: 929-936.

Nylander, J.A.A., Ronquist, F., Hulsenbeck, J.P., Nieves-Aldrey, J.L. 2004. Bayesian phylogenetic análisis of combined data. *Syst. Biol.* 53(1): 47-67.

Ohta, T. 1972. Population size and rate of evolution. *J. Mol. Evol.* 1: 305-314.

Ohta, T. 1995. Synonymous and nonsynonymous substitution in mammalian genes and the nearly neutral theory. *J. Mol. Evol.* 40:56-4063.

Ohta, T. 1994. Variances and covariances of the numbers of synonymous and nonsynonymous substitution per site. *Mol. Biol. Evol.* 11:613-619.

Pesole, G., Gissi, C., De Chirco, A., Saccone, C. 1999. Nucleotide substitution rate of mammalian

mitochondrial genomes. *J. Mol. Evol.* 48: 427-434.

Pond, S.L., Frost, S.D.W., Muse, S.V. 2005. HyPhy: hypothesis testing using phylogenies. *Bioinformatics.* 21(5): 676-679.

Posada, D. y Crandall, K.A. 1998. ModelTest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics.* 14(9): 817-818.

Posada, D. y Crandall, K.A. 2001. Selecting the best-fit model of nucleotide substitution. *Syst. Biol.* 50 (4): 580-601.

Press, W.H., Teukolsky, S.A., Vetterling, W.T. 1992. Numerical recipes. 2^a ed. Cambridge Univesrity Press, Cambridge.

Ranala B. Y Yang, Z. 1996. Probability distribution of molecular evolutionary trees: a new method

fo phylogenetic inference. *J. Mol. Evol.* 43: 304-311.

Rodríguez, F., Oliver, J.L., Marín, A., Medina, J.R. 1990. The general stochastic model of nucleotide substitution. *J. Theor. Biol.* 142: 485-501.

Sanderson,

Savolainen, V, Chase, M.W., Hoot, S.B., Morton, C.M., Soltis, D.E., Bayer, C., Fay, M.F., de Bruijn, A.Y., Sullivan, S., Qiu, Y-L. 2000. Phylogenetics of flowering plants based on combined analysis of plastid *atpB* and *rbcL* gene sequences. *Syst. bot.* 49: 306-362.

Schönenberger, J., von Balthazar, M. 2006. Reproductive structures and phylogenetic framework of the rosids-progress and prospects. *Pl. Syst. Evol.* 260: 87-106.

Smith, S.A. y Donoghue, M.J. 2008. Rates of molecular evolution are linked to life history in flowering plants. *Science.* 322: 86-89.

Suigura, M., Hirose, T., Sugita, M. 1998. Evolution and mecanismo of translation in chloroplasts. *Annu. Rev. Genet.* 32: 437-459.

Sokal, R.R. y Rohlf, J.F. 1981. *Biometry: The principles and practice of statistics in biological research.* 2ª edición. W.H. Freeman and Company. 429-437 pp.

Soltis, D.E. Gitzendanner, M.A., Soltis, P.S. 2007. A 567-taxon data set for angiosperms: the challenges posed by Bayesian analyses of large data sets. *Int. J. Plant. Sci.* 168: 137-157.

Soltis, D.E., Soltis, P.S., Endress, P.K., Chase, M.W. 2005. *Phylogeny and evolution of angiosperms.* Sinauer, Sunderland.

Soltis, D.E., Soltis, P.S., Nickrent, D.L., Johnson, L.A., Hahn, W.J., Hoot, S.B., Swere, J.A., Kuzoff, R.K., Kron, K.A., Chase, M.W., Swenson, S.M., Zimmer, E.A., Chaw, S.M., Gillespie, L.J., Kress, W.J., Systma, K.J. 1997. Angiosperm phylogeny inferred from 18s ribosomal DNA sequences. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 84: 1-49.

Soltis, D.E, Soltis, P.S., Chse, M.W., Mort, M.E., Albach, D.C., Zanis, M., Savolainen, V., Hahn, W.H., Hoot, S.B., Fay, M.F., Axtell, M., Swensen, S.M., Prince, L.M., Kress, W.J.,

Nixon, K.C., Farris, J.S. 2000. Angiosperm phylogeny inferred from 18s rDNA, *rbcL*, and *atpB* sequences. Bot. J. Linn. Soc. 133: 381-461.

Soria-Herranz, D.F., Fiz-Palacios, O., Braverman, J.M., Hamilton, MB. 2008. Reconsidering the generation time hypothesis based on nuclear ribosomal ITS sequences comparisons in annual and perennial angiosperms. BMC Evol. Biol. 8:344-361.

Stevens, P.F. 2001 onwards. Angiosperm Phylogeny Website. Version 9, June 2008. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.

Tajima, F y Nei, M. 1982. Biases of estimates of DNA divergence obtained by the restriction enzyme technique. J. Mol. Evol. 18: 115-120.

Tamura, K. y Nei, M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. Mol. Biol. Evol. 10: 512-526.

Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson, T.J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nu. Ac. Res. 22: 4673-4680.

Tierney, L. 1994. Markov chains for exploring posterior distributions. Ann. Stat. 22: 1701-1762.

Tsunoyama, K., Bellgard, M.I., Gojobori, T. 2001. Intragenic variation of synonymy substitution rates is caused by nonrandom mutations at methylated CpG. J. Mol. Evol. 53: 456-464.

Wang, H., Moore, M.J., Soltis, P.S., Bell, C.D., Brockington, S.F., Alexandre, R., Davis, C.C., Latvis, M., Manchester, S.R., Soltis, D.E. 2009. Rosid radiation and the rapid rise of angiosperm-dominated forests. Proc. Natl. Acad. 101(7): 1904-1909.

- Whittle, C.A. y Johnston, M.O. 2003. Broad-scale análisis contradicts the theory that generation time affects molecular evolutionary rates in plants. *J. Mol. Evol.* 56: 223-233
- Whittle, C.A. y Johnston, M.O. 2002. Male-driven evolution of mitochondrial and chloroplastial DNA sequences in plants. *Mol. Biol. Evol.* 19: 938-949.
- Williams, S.T., Reid, D.G, Littlewood, D.T.J. 2003. A molecular phylogeny of the Littoriniae (gastropoda: Littorinidae): unequal evolutionary rates, morphological parallelism, and biogeography of the Southern Ocean. *Mol. Phylogenet. Evol.* 28: 60-86.
- Wilson, A.C., Carlson, S.S., White, T.J. 1977. Biochemical evolution. *Ann. Rev. Biochem.* 46: 573-639.
- Wolf, P.G., Rowe, C.A., Hasebe, M. 2004. High levels of RNA editing in vascular plant chloroplast genome: análisis of transcripts from the fern *Adiantum capillus-veneris*. *Gene.* 339: 89-97.
- Wolfe, K.H., Gouy, M., Yang, Y.-W., Sharp, P.M., Li, W.-H. 1989. Date of the monocot-dicot divergence estimated from chloroplast DNA sequence data. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 86: 6201-6205.
- Wolfe, K.H., Li, W.-H., Sharp, P.M. 1987. Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast, and nuclear DNAs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 84: 9054-9058.
- Wu, C.I., Li, C.H. 1985. Evidence for higher rates of nucleotide substitution in rodents than man. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 82(6): 1741-1745.
- Xiang, Q.-Y, Thorne, J.L., Seo, T.-K., Zhang, W., Thomas, D.T., Ricklefs, R.E. 2008. Rates of nucleotide substitution in Cornaceae (Cornales)-patterns of variation and underlying causal factors. *Mol. Phyl. Ev.* 49: 327-342.

- Yang, Z. 1994. Estimating the pattern of nucleotide substitution. *J. Mol. Evol.* 39: 105-111.
- Yang, Z. Y Nielsen, R. 2002. Codon-substitution models for detecting molecular adaptation at individual sites along specific lineages. *Mol. Biol. Evol.* 19(6): 908-917.
- Yang, Z. Y Nielsen, R. 2000. Estimating synonymous and nonsynonymous substitution rates under realistic evolutionary models. *Mol. Biol. Evol.* 17(1): 32-43.
- Young, N.D, de Phamphilis, C.W. 2005. Rate variation in parasitic plants: correlated and uncorrelated patterns among plastid genes of different function. *BMC Evolutionary Biology.* 5:16.
- Zharkikh, A. 1994. Estimation of evolutionary distances between nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 39: 315-329.
- Zurawski, G., Bottomley, W., Whitfield. 1982. Structures of the genes for the B y E subunits of the spinach chloroplast ATPsintase indicate a dicistronic mRNA and overlapping translation stop/start signal. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 79: 6260-6264.

X. APÉNDICES

APENDICE I

Muestreo taxonómico del grupo Rosidae con los números de acceso al GenBank de la secuencias de los marcadores *matK*, *atpB* y *rbcl*.

ORDEN	FAMILIA	ESPECIE	<i>matK</i>	<i>rbcl</i>	<i>atpB</i>	
CROSSOSOMATALES	Staphyleaceae	<i>Euscaphis japonica</i>	DQ663628	DQ663626 (p)	DQ663627 (p)	
	Stachyuraceae	<i>Stachyurus praecox</i>	DQ443457	AJ235794	AJ235609	
HUERTEALES	Gerrardinaceae	<i>Perrottetia ovata</i>	AY935916 (p)	AY935737 (p)	AY935842 (p)	
BRASSICALES	Akaniaceae	<i>Bretschneidera</i>	AY483220		AF209546	
		<i>sinensis</i>	(p)	M95753	(p)	
	Moringaceae	<i>Moringa oleifera</i>	AY845131		AF209633	
			(p)	L11359 (p)	(p)	
	Caricaceae	<i>Carica papaya</i>	AY042564		AF035901	
			(p)	M95671	(p)	
	Limnanthaceae	<i>Floerkea</i>	EU002178	L12679 (p)	AF035904	
					<i>prosepinaoides</i>	(p)
	Koeberliniaceae	<i>Koeberlinia spinosa</i>	AY483222	L14600 (p)	AF209612	
					(p)	AF209538
	Bataceae	<i>Batis maritima</i>	AY483219	L22438	(p)	
					AY491650	AY167985
	Capparaceae	<i>Capparis spinosa</i>	(p)	(p)	(p)	
	Brassicaceae		<i>Draba nemorosa</i>	AP009373	AP009373	AP009373
			<i>Lepidium virginicum</i>	AP009374	AP009374	AP009374
			<i>Arabis hirsuta</i>	AF144338	AP009369	AP009369
			<i>Arabidopsis thaliana</i>	NC_000932	NC_000932	NC_000932
			<i>Aethionema cordifolium</i>	AP009366	AP009366	NC_009265
			<i>Lobularia maritima</i>	NC_009274	NC_009274	AP009375
			<i>Nasturtium officinale</i>	AP009376	AP009376	NC_009275
<i>Capsella bursa-pastoris</i>			AP009371	AP009371	NC_009270	
<i>Barbarea verna</i>			AP009370	AP009370	NC_009269	
MALVALES			Cistaceae	<i>Tuberaria guttata</i>	DQ092971	AJ233120
	(p)	(p)			(p)	
	Malvaceae	<i>Pachira aquatica</i>	AY321170	AJ233119	AJ233056	
			(p)	(p)	(p)	
			AB289740	AF206764	AJ233053	
			AY321182	AJ233146	AF035896	
<i>Ochroma pyramidale</i>	AY321172	AJ233118	AF035910			
SAPINDALES	Rutaceae	<i>Ruta graveolens</i>	AY128205		AF035913	
			(p)	U39281 (p)	(p)	
			<i>Zanthoxylum sp. Clayton</i>	EU042838	EU042976	EU042768
			<i>Casimiroa edulis</i>	EU042837	EU042975	EU042767
			<i>Poncirus trifoliata</i>	AB071318	AJ235806	AJ238409
	Meliaceae	<i>Trichilia emetica</i>	AY128202	AY128244	AJ235629	

			(p)	(p)	
		<i>Switenia macrophylla</i>	AY128200 (p)	AY128241 (p)	AJ235616
		<i>Melia azedarach</i>	EU042834 AY128206	AY128234 AY128252	EU042764
	Simaroubaceae	<i>Simarouba glauca</i>	(p)	(p)	AJ235602
		<i>Soulamea amara</i>	EU042903	EU043041	EU042831
		<i>Simaba guianensis</i>	EU042896	EU043034	EU042820
	Sapindaceae	<i>Xanthoceras sorbifolium</i>	AY724339	AJ403019	AF209697 (p)
		<i>Cupaniopsis anacardioides</i>	AY724283	L13182 (p)	AF035903 (p)
		<i>Aesculus pavia</i>	AY968667	U39277 (p)	AF035894 (p)
		<i>Koelreuteria paniculata</i>	AY724308	U39283 (p)	AJ235513
GERANIALES	Geraniaceae	<i>Pelargonium hortorum</i>	x DQ317071 (p)	DQ317058 (p)	NC_008454 AF209594 (p)
	Melanthaceae	<i>Greyia radkoferi</i>	AF542592 (p)	L11185	
MYRTALES	Onagraceae	<i>Fuchsia procumbens</i>	AJ581440	AM235668	AJ235477 AF209597 (p)
	Myrtaceae	<i>Heteropyxis natalensis</i>	AF368208	U26326 (p)	
ZYGOPHYLLALES	Zygophyllaceae	<i>Larrea tridentata</i>	AM396502 (p)	Y15022	AY935860 (p)
CELASTRALES	Lepidobotryaceae	<i>Lepidobotrys staudtii</i>	AY935904 (p)	AJ402966 (p)	AY935831 (p)
		<i>Rutiliocarpon caracolito</i>	AY935904 (p)	AJ402966 (p)	AY935831 (p)
	Parnassiaceae	<i>Parnassia trinervis</i>	AY935913 (p)	AY935734 (p)	AY935839 (p)
		<i>Lepuropetalon spathulatum</i>	AY935905 AY935906	L11192 (p) AY935727	AY935832 (p) AY935833
	Celastraceae	<i>Mortonia greggii</i>	(p)	(p)	(p)
		<i>Quetzalia occidentalis</i>	AY935917 (p)	AY935739 (p)	AY935844 (p)
		<i>Stackousia monogyna</i>	AY935920 (p)	AY935740 (p)	AY935846 (p)
		<i>Tripterococcus brunonis</i>	AY935921 (p)	AJ403012 (p)	AY935847 (p)
		<i>Elaeodendron orientale</i>	DQ217541 (p)	AY380347 (p)	AY788269 (p)
		<i>Canotia holocantha</i>	AY935900 (p)	AJ402934 (p)	AY935827 (p)
		<i>Maytenus senegalensis</i>	EF135566 (p)	AY380353 (p)	AY788272
		<i>Denhamia celastroides</i>	EF135526 (p)	AJ402941 (p)	AY788267
		<i>Euonimus alatus</i>	EF135537 (p)	AY788197 (p)	AF528849
MALPIGHIALES	Caryocaraceae	<i>Caryocar glabrum</i>	EF135515 (p)	Z75671	AF209556 (p)
	Ctenolophonaceae	<i>Ctenolophon englenarius</i>	EF135524 (p)	AJ402940 (p)	AY788215 (p)
	Erythroxylaceae	<i>Erythroxylum novocaledonicum</i>	AB233826 (p)	AB233930 (p)	AB233722 (p)
	Euphorbiaceae	<i>Ricinus communis</i>	AB233767 (p)	AY794915 (p)	AB233663
		<i>Manihot esculenta</i>	AB233776 (p)	AB233880 (p)	AB233672 (p)
		<i>Euphorbia humifusa</i>	AB233780 (p)	AB233884 (p)	AB233676
		<i>Croton insularis</i>	AB233773 (p)	AB233877 (p)	AB233669
		<i>Synadenium grantii</i>	AB233784 (p)	AY794821 (p)	AB233680
		<i>Excoecaria conchinchinensis</i>	AB233781 (p)	AB233885 (p)	AB233677 (p)
		<i>Clutia agustifolia</i>	AB233757 (p)	AB233861 (p)	AB233653 (p)
		<i>Codiaeum peltatum</i>	AB233772 (p)	AB233876 (p)	AB233668 (p)
		<i>Pera bicolor</i>	EF135578 (p)	AY794968 (p)	AY788244
		<i>Ostodes paniculata</i>	EF135574 (p)	AY794900 (p)	AB268000

	<i>Homalanthus populneus</i>	EF135548 (p)	AY380350 (p)	AY788226
	<i>Endospermum moluccanum</i>	EF135533	AJ402950 AB233886	AB267993
	<i>Hura crepitans</i>	AB233782(p)	(p)	AB233678
	<i>Pimelodendron zanthoxyne</i>	EF135582 (p)	AJ418812 (p)	AY788247
	<i>Neoscortechinia kingii</i>	EF135571 (p)	AJ402977 (p)	AB267964
	<i>Macaranga tanarius</i>	AB233762	AB233866 (p)	AB233658
	<i>Dalechampia spathulata</i>	EF135525 (p)	AB233863 (p)	AB233655
	<i>Actinostemon concolor</i>	AB233779	AB233883	AB233675
	<i>Suregada glorumelata</i>	AB268055	AB267951	AB268003
	<i>Leucocroton microphyllus</i>	AB268024	AB267920	AB267972
	<i>Ricinus communis</i>	EF135590	AB233871	AY788253
	<i>Acalypha insulana</i>	AB233750 AB233785	AB233854 AB233889	AB233646
Humiriaceae	<i>Humiria balsamifera</i>	(p)	(p)	AJ235495
	<i>Sacoglottis sp. Hammel</i>	AB233786 (p)	AB233890 (p)	AB233682
		EF135553	AB233892	
Irvingiaceae	<i>Irvingia malayana</i>	(p)	(p)	AB233684
	<i>Ixonanthes reticulata</i>	AB233789 (p)	AB233893 (p)	AB233685
Ixonanthaceae				AB233685
Linaceae	<i>Linum perenne</i>	AB038182	Z75681	AJ235521
	<i>Sclerolinon digynum</i>	AB233792 (p)	AB233896 (p)	AB233688 (p)
		AB233806	AJ418818	AB233702
Pandaceae	<i>Galearea filiformis</i>	(p)	(p)	(p)
		AB233824	AB233928	AB233720
Rhizophoraceae	<i>Carallia brachiata</i>	(p)	(p)	(p)
			AF206786	AF209610
Acariaceae	<i>Kigellaria africana</i>	EF135555	(p)	(p)
	<i>Campostylus mannii</i>	AB233736 (p)	AJ418797 (p)	AB233632
		AY935937	AY935749	AY935862
Violaceae	<i>Rinorea pubiflora</i>	(p)	(p)	(p)
		EF135558		
	<i>Leonia glycyarpa</i>	(p)	Z75693 (p)	AY788234
Salicaceae	<i>Salix reticulata</i>	EF135592	AJ235793	AJ235590
		AY935927	AY935744	AY935851
	<i>Casearia javitensis</i>	(p)	(p)	(p)
		AB233832	AB233936	AB233728
	<i>Lunania parviflora</i>	(p)	(p)	(p)
	<i>Dovyalis macrocalyx</i>	AB233828 (p)	AB233932 (p)	AB233724 (p)
Lacistemataceae	<i>Lacistema aggregatum</i>	AY935933 (p)	AY935746 (p)	AY935858 (p)
		AB233809	AB233913	AB233705
Turneraceae	<i>Piriqueta cistoides</i>	(p)	(p)	(p)
	<i>Passiflora quadrangularis</i>	AB233808 (p)	AB233912 (p)	AB233704 (p)
Passifloraceae	<i>Paropsia madagascariensis</i>	EF135576 (p)	AF206802 (p)	AF209645 (p)
	<i>Goupia glabra</i>	EF135544	AJ235780	AJ235485
Goupiaceae		AB233822	AB233926	AB233718
	<i>Drypetes littoralis</i>	(p)	(p)	(p)
Putranjivaceae	<i>Lophopyxis maingayi</i>	EF135560	AJ403026	AY788235
		AB233745	AB233849	AB233641
Clusiaceae	<i>Clusia rosea</i>	(p)	(p)	(p)
		AB233746	AB233850	AB233642
	<i>Garcinia subelliptica</i>	(p)	(p)	(p)
	<i>Montrouzieria sphaeroidea</i>	AB233747 (p)	AB233851 (p)	AB233643 (p)
	<i>Hypericum perforatum</i>	DQ168438 (p)	AF206779 (p)	AF209602 (p)
Hypericaceae	<i>Postemum ceratophyllum</i>	AB038201	U68088 (p)	AY788249
	<i>Stigmaphyllon diversifolium</i>	AB233798 (p)	AB233902 (p)	AB233694 (p)
Podostemaceae	<i>Bunchosia hookeriana</i>	AB233793 (p)	AB233897 (p)	AB233689 (p)
Malpighiaceae	<i>Dicella nucifera</i>	AF344541	AJ235802	AJ235453
		AB233800	AB233904	AB233696
	<i>Galphimia glauca</i>	(p)	(p)	(p)
	<i>Byrsonima crassifolia</i>	AJ581433 (p)	AB233898	AY788206
	<i>Mascagnia rivularis</i>	AB233797	AB233901	AB233693

		<i>Hiraea fagifolia</i>	AB233795	AB233899	AB233691
			AB233749	AB233853	AB233645
Elatinaceae		<i>Elatine triandra</i>	(p)	(p)	(p)
		<i>Cespedesia bonplandii</i>	EF135518		AY788208
Ochnaceae			(p)	AJ420168	(p)
		<i>Ochna serrulata</i>	AB233804	AB233908	AB233700
			(p)	(p)	(p)
		<i>Gomphia serrata</i>	AB233803	AB233907	AB233699
		<i>Sauvagesia africana</i>	(p)	(p)	(p)
		<i>Quiina</i>	AB233805	AB233909	AB233701
			(p)	(p)	(p)
Quiinaceae		<i>pterydophylla</i>	EF135589	AF206815	AF209664
		<i>Phyllanthus flexuosus</i>	AB233817	AB233921	(p)
Phyllanthaceae			(p)	(p)	AB233713
		<i>Cleistanthus perrieri</i>	AY552425	AY663578	(p)
			(p)	(p)	AY830207
		<i>Bischofia javanica</i>	AB233813	AB233917	AB233709
			(p)	(p)	(p)
		<i>Breynia cernua</i>	AB233814	AB233918	AB233710
			(p)	(p)	(p)
		<i>Flueggea virosa</i>	AB233815	AB233919	AB233711
			(p)	(p)	(p)
		<i>Heywoodia lucens</i>	AY552430	AJ418814	AY788224
			(p)	(p)	(p)
		<i>Savia bahamensis</i>	AY830284	AY663618	AY830246
		<i>Androstachys johnsonii</i>	(p)	(p)	(p)
Picodendraceae		<i>Pricodendron baccatum</i>	AY552461	AF206734	AF209527
		<i>Petalostigma pubescens</i>	AB233820	AB233924	AB233716
			(p)	(p)	(p)
		<i>Podocalyx loranthoides</i>	EF135579	AY380357	AY788245
			(p)	(p)	(p)
			(p)	AY663647	AY788248
		<i>Balanops pancheri</i>	EF135583	(p)	(p)
Balanopaceae			AB233740	AB233844	AB233636
			(p)	(p)	(p)
Trigoniaceae		<i>Trigonia boliviana</i>	AB233744	AB233848	AB233640
			(p)	(p)	(p)
			(p)	AF089758	AY788203
Chrysobalanaceae		<i>Atuna racemosa</i>	EF135503	(p)	(p)
		<i>Parinari sp.</i>	AB233743	AB233847	AB233639
		<i>Mlangwa</i>	(p)	(p)	(p)
		<i>Licania elaeosperma</i>	AB233742	AB233846	AB233638
		<i>Euphronia guianensis</i>	(p)	(p)	(p)
Euphroniaceae			AB233741	AB233845	AB233637
			(p)	(p)	(p)
OXALIDALES			AY935924	AY935743	AJ235404
	Oxalidaceae	<i>Averrhoa carambola</i>	(p)	(p)	(p)
		<i>Oxalis corniculata</i>	AB233839	AB233943	AB233735
			(p)	(p)	(p)
			(p)	AF206759	AY935853
	Cunoniaceae	<i>Davidsonia pruriens</i>	U92846	(p)	(p)
		<i>Elaeocarpus reticulatus</i>	AY935931	AF291941	AY935854
	Elaeocarpaceae		(p)	(p)	(p)
FABALES			AY386908	U74188 (p)	DQ401328
	Fabaceae	<i>Cercis canadensis</i>	(p)	AF206730	(p)
		<i>Albizia julibrissin</i>	AY386855	(p)	AF209524
		<i>Glycine max</i>	AF142700	Z95552	AY935856
		<i>Medicago sativa</i>	AY386881	Z70173	AF163770
ROSALES			AB073686	DQ250749	AF132886
	Rosaceae	<i>Kerria japonica</i>	(p)	(p)	AF209660
		<i>Prunus persica</i>	AF288117	AF206813	(p)
		<i>Rhamnus catharticus</i>	AY257533	(p)	(p)
	Rhamnaceae	<i>Ceanothus sanguineus</i>	AF049815	L13189	AJ235579
			(p)	(p)	(p)
			(p)	U06795 (p)	AF209558
	Moraceae	<i>Fucus sp. Soltis</i>	AY257533	AF206767	AF209587
			(p)	(p)	(p)
			(p)	(p)	AF209599
	Cannabaceae	<i>Humulus lupulus</i>	AY257528	DQ006077	(p)
			AY263925	AY263941	AY263961
		<i>Celtis philippensis</i>	(p)	(p)	(p)
CUCURBITALES			AY968444	AF027109	AY968424
	Anisophylleaceae	<i>Anisophyllea corneri</i>	(p)	(p)	(p)
		<i>Combretocarpus rotundatus</i>	AY968447	AF127698	AY968428
			(p)	(p)	(p)
		<i>Poga oleosa</i>	AY973466	AY973488	AY973441
			(p)	(p)	(p)

	Corynocarpaceae	<i>Corynocarpus laevigata</i>	AY968448 (p)	AF148994 AY968521	AJ235446
	Coriariaceae	<i>Coriaria myrtifolia</i>	AF542600 AY968446	(p) AY968520	AJ235443 AY968427
	Cucurbitaceae	<i>Coccinia sessilifolia</i> <i>Cucumis sativus</i> <i>Dendrosicyos socotranus</i> <i>Ecballium elaterium</i> <i>Gynostemma pentaphyllum</i> <i>Lagenaria breviflora</i> <i>Marah macrocarpus</i> <i>Neoalsomitra sarcophylla</i> <i>Schizopepon bryoniifolius</i> <i>Seyrigia humbertii</i> <i>Octomeles sumatrana</i> <i>Tetrameles nudiflora</i>	AJ970307 AY973018 (p) AY973019 (p) AY968451 (p) AY935934 (p) AY968453 (p) AY968454 (p) AY968456 (p) AY968457 (p) AY968455 (p) AY968458 (p) AB016467 (p) AY968445 (p) AY968452 (p)	AF206755 AY973022 (p) AY973023 (p) AY968523 (p) AY935747 (p) AY968524 (p) AY968525 (p) AY973025 (p) AY968526 (p) (p) L21942 (p) L21943 (p) L21939 (p)	AJ970307 AY968433 (p) AY968434 (p) AY968436 (p) AY935859 (p) AY968439 (p) AY968440 (p) AY968442 (p) AY968443 (p) AY968441 (p) AF209689 (p) AJ235450 AY968426 (p) AY968437 (p)
	Datisceae	<i>Datisca cannabina</i>	AB016467 (p)	L21939 (p)	AJ235450 AY968426 (p)
	Begoniaceae	<i>Begonia oxyloba</i> <i>Hillebrandia sandwicensis</i>	AY968445 (p) AY968452 (p)	U59815 (p) U59822 (p)	(p) AY968437 (p)
FAGALES	Fagaceae	<i>Castanea seguinii</i> <i>Castanopsis tibetana</i> <i>Chrysolepsis sempervirens</i> <i>Fagus grandifolia</i> <i>Trigobalanus verticillata</i> <i>Comptonia peregrina</i>	AY263920 (p) AY263921 (p) U92863 U92861	AY263937 (p) AY147096 (p) AF206750 (p) AY263936 (p)	AY263956 (p) AY263957 (p) AF209563 (p) AY935855 (p)
	Myriaceae	<i>Cyclocarya plaiurus</i> <i>Platycarya strobilacea</i> <i>Rhoipteleaceae chiliantha</i> <i>Ticodendron incognitum</i>	AB084769 U92856 U92850 AY147098 (p) AY147100 (p) U92852 (p) AB015463 (p) AY263914 (p) AY212009 (p) AY263917 (p) (p) AY191703 (p)	AJ235812 X69529 AY263931 (p) AY147094 (p) AY263933 (p) AF017687 AF061197 (p) AY263926 (p) X56620 AF081515 (p) AY263930 (p)	AJ235631 AY263948 (p) AY263949 (p) AY263950 (p) AY263953 (p) AY147104 (p) AY147103 (p) AY147101 AY263946 (p) AY263945 (p) (p) AY263947 (p)
	Junglandaceae	<i>Carya ovata</i> <i>Cyclocarya plaiurus</i> <i>Platycarya strobilacea</i> <i>Rhoipteleaceae</i>	U92850 AY147098 (p) AY147100 (p)	AY147094 (p) AY263933 (p)	AY263950 (p) AY263953 (p) AY147104 (p)
	Rhoipteleaceae	<i>chiliantha</i> <i>Ticodendron incognitum</i>	U92852 (p) AB015463 (p) AY263914 (p)	AF017687 AF061197 (p) AY263926 (p)	(p) AY147103 (p)
	Ticodendraceae	<i>incognitum</i>	AY263914 (p)	AY263926 (p)	AY147101 AY263946 (p)
	Betulaceae	<i>Alnus sinuata</i> <i>Ostrya virginiana</i> <i>Ostryopsis davidiana</i> <i>Casuarina equisetifolia</i>	AY212009 (p) AY263917 (p) AY191703 (p)	X56620 AF081515 (p) AY263930 (p)	AY147101 AY263946 (p) AY263945 (p) AY263947 (p)
	Casuarinaceae	<i>equisetifolia</i>	AY191703 (p)	AY263930 (p)	AY263947 (p)
GRUPOS EXTERNOS					
EUDICOTYLEDONEAE TRICOLPATAE	VITALES	Vitaceae	<i>Vitis vinifera</i>	AJ429274	NC_007957
	SAXIFRAGALES	Crassulaceae	<i>Crassula marneriana</i>	AF115600	L01899
		Altingiaceae	<i>Altingia excelsa</i> <i>Phytolacca americana</i>	AF304520	AJ131769
	CARYOPHYLLES	Phytolaccaceae	<i>americana</i>	DQ401362	DQ006112
	GUNNERALES	Gunneraceae	<i>Gunnera manicata</i> <i>Hydrangea macrophylla</i>	EU002179	EU002279
	CORNALES	Hydrangaceae	<i>macrophylla</i>	AB038178	EF590534
	GARRYALES	Garryaceae	<i>Garrya elliptica</i>	AJ429319	L01919
	EUDICOTS				
	BUXALES	Buxaceae	<i>Buxus microphylla</i> <i>Platanus occidentalis</i> <i>Trochodendron aralioides</i>	NC_009599 AF543747	NC_009599 AF081073
	PROTEALES	Platanaceae	<i>occidentalis</i> <i>Trochodendron aralioides</i>	AF543747	AF081073
	TROCHODENDRALES	Trochodendraceae	<i>aralioides</i>	AF543751	L01958

		<i>Macaranga tanarius</i>							
		<i>Dalechampia spathulata</i>							
		<i>Acalypha insulana</i>							
	Humiriaceae	<i>Humiria balsamifera</i>							
	Irvingiaceae	<i>Irvingia malayana</i>							
	Linaceae	<i>Linum perenne</i>							
		<i>Sclerolinon digynum</i>							
	Rhizophoraceae	<i>Carallia brachiata</i>							
	Acariaceae	<i>Kigellaria africana</i>							
		<i>Camptostylus mannii</i>							
	Violaceae	<i>Rinorea pubiflora</i>							
		<i>Leonia glycyarpa</i>							
	Salicaceae	<i>Salix reticulata</i>							
		<i>Casearia javitensis</i>							
		<i>Lunania parviflora</i>							
		<i>Dovyalis macrocalyx</i>							
	Lacistemataceae	<i>Lacistema aggregatum</i>							
	Turneraceae	<i>Piriqueta cistoides</i>							
	Passifloraceae	<i>Passiflora quadrangularis</i>							
	Goupiaceae	<i>Goupia glabra</i>							
	Putranjivaceae	<i>Drypetes littoralis</i>							
	Clusiaceae	<i>Clusia rosea</i>							
		<i>Garcinia subelliptica</i>							
	Hypericaceae	<i>Hypericum perforatum</i>							
	Podostemaceae	<i>Postemum ceratophyllum</i>							
	Malphiaceae	<i>Stigmaphyllon diversifolium</i>							
		<i>Byrsonima crassifolia</i>							
		<i>Mascagnia rivularis</i>							
		<i>Hiraea fagifolia</i>							
	Elatinaceae	<i>Elatine triandra</i>							
		<i>Ochna serrulata</i>							
		<i>Gomphia serrata</i>							
		<i>Sauvagesia africana</i>							
	Phyllanthaceae	<i>Phyllanthus flexuosus</i>							
		<i>Bischofia javanica</i>							
		<i>Flueggea virosa</i>							
		<i>Heywoodia lucens</i>							
		<i>Savia bahamensis</i>							
	Picodendraceae	<i>Androstachys johnsonii</i>							
		<i>Petalostigma pubescens</i>							
	Balanopaceae	<i>Balanops pancheri</i>							
	Chrysobalanaceae	<i>Atuna racemosa</i>							
		<i>Licania elaeosperma</i>							
	Euphroniaceae	<i>Euphronia guianensis</i>							
OXALIDALES	Oxalidaceae	<i>Averrhoa carambola</i>							
		<i>Oxalis corniculata</i>							
	Cunoniaceae	<i>Davidsonia pruriens</i>							
	Elaeocarpaceae	<i>Elaeocarpus reticulatus</i>							
FABALES	Fabaceae	<i>Cercis canadensis</i>							
		<i>Albizia julibrissin</i>							
		<i>Glycine max</i>							
		<i>Medicago sativa</i>							
ROSALES	Rosaceae	<i>Kerria japonica</i>							
		<i>Prunus persica</i>							
	Rhamnaceae	<i>Rhamnus catharticus</i>							
	Cannabaceae	<i>Humulus lupulus</i>							
		<i>Celtis philippensis</i>							
	Moraceae	<i>Ficus sp. Soltis</i>							

CUCURBITALES	Anisophylleaceae	<i>Combretocarpus rotundatus</i> <i>Poga oleosa</i>		Green		Red	
	Corynocarpaceae	<i>Corynocarpus laevigata</i>		Green		Red	
	Coriariaceae	<i>Coriaria myrtifolia</i>		Green		Red	
	Cucurbitaceae	<i>Cucumis sativus</i>	Green	White	Red	White	
		<i>Ecballium elaterium</i> <i>Marah macrocarpus</i>	Green	White	Red	White	
	Tetramelaceae	<i>Octomeles sumatrana</i>	White	Green	White	Red	
		<i>Tetrameles nudiflora</i>	Green	White	White	Red	
	Datisceae	<i>Datisca cannabina</i>	Green	White	White	Red	
		<i>Hillebrandia sandwicensis</i>	Green	White	White	Red	
	FAGALES	Fagaceae	<i>Castanea seguinii</i>	White	Green	White	Red
<i>Castanopsis tibetana</i>			White	Green	White	Red	
<i>Chrysolepis sempervirens</i>			White	Green	White	Red	
<i>Fagus grandifolia</i>			White	Green	White	Red	
<i>Trigobalanus verticillata</i>			White	Green	White	Red	
Myriaceae		<i>Comptonia peregrina</i>	White	Green	White	Red	
Juglandaceae		<i>Carya ovata</i>	White	Green	White	Red	
		<i>Cyclocarya plaiurus</i> <i>Platycarya strobilacea</i>	White	Green	White	Red	
		<i>Ticodendron incognitum</i>	White	Green	White	Red	
Betulaceae		<i>Alnus sinuata</i>	White	Green	White	Red	
		<i>Ostrya virginiana</i> <i>Ostryopsis davidiana</i>	White	Green	White	Red	
Casuarinaceae		<i>Casuarina equisetifolia</i>	White	Green	White	Red	
BRASSICALES		Akaniaceae	<i>Bretschneidera sinensis</i>	White	Green	White	Red
		Moringaceae	<i>Moringa oleifera</i>	White	Green	White	Red
		Caricaceae	<i>Carica papaya</i>	Green	White	Red	White
		Limnanthaceae	<i>Floerkea prosepincoides</i>	Green	White	Red	White
		Koeberliniaceae	<i>Koeberlinia spinosa</i>	White	Green	White	Red
		Bataceae	<i>Batis maritima</i>	White	Green	White	Red
		Capparidaceae	<i>Capparis spinosa</i>	White	Green	White	Red
	Brassicaceae	<i>Draba nemorosa</i>	Green	White	Red	White	
		<i>Lepidium virginicum</i>	Green	White	White	Red	
		<i>Arabis hirsuta</i>	Green	White	White	Red	
		<i>Arabiopsis thaliana</i>	White	Green	White	Red	
		<i>Aethionema cordifolium</i>	Green	White	White	Red	
		<i>Nasturtium officinale</i>	Green	White	White	Red	
MALVALES	Cistaceae	<i>Tuberaria guttata</i>	White	Green	White	Red	
	Malvaceae	<i>Pachira aquatica</i>	White	Green	White	Red	
<i>Durio zybethinus</i>		White	Green	White	Red		
<i>Berrya javanica</i>		White	Green	White	Red		
<i>Ochroma pyramidale</i>		White	Green	White	Red		
SAPINDALES	Rutaceae	<i>Ruta graveolens</i>	White	Green	White	Red	
		<i>Casimiroa edulis</i>	White	Green	White	Red	
		<i>Poncirus trifoliata</i>	White	Green	White	Red	
	Meliaceae	<i>Trichilia emetica</i>	White	Green	White	Red	
		<i>Switenia macrophylla</i>	White	Green	White	Red	
		<i>Melia azedarach</i>	White	Green	White	Red	
	Simaroubaceae	<i>Simarouba glauca</i>	White	Green	White	Red	
		<i>Soulamea amara</i>	White	Green	White	Red	
	Sapindaceae	<i>Xanthoceras sorbifolium</i>	White	Green	White	Red	
		<i>Cupaniopsis anacardioides</i>	White	Green	White	Red	
		<i>Aesculus pavia</i>	White	Green	White	Red	
		<i>Koelreuteria paniculata</i>	White	Green	White	Red	

APENDICE III

Valores de las tasas relativas sinónimas y no sinónimas con intervalo de confianza del análisis de genes concatenados.

ORDEN, FAMILIA	GENERO	TASA SINONIMA	TASA NO SINONIMA
CROSSOSOMATALES			
Staphyleaceae	<i>EUSCAPHIS</i>	0.0724346 [0.0491963-0.101936]	0.017747 [0.0114136-0.0260224]
Stachyuraceae	<i>STACHYURUS</i>	0.0489649 [0.0302995-0.073767]	0.00998272 [0.00536119-0.0165961]
HUERTEALES			
Gerrardinaceae	<i>PERROTTETIA</i>	0.116876 [0.0856457-0.154972]	0.0460756 [0.0350653-0.0591514]
BRASSICALES			
Akaniaceae	<i>BRETSCHNEIDERA</i>	0.0569507 [0.035366-0.0856213]	0.0363477 [0.026287-0.0486345]
Moringaceae	<i>MORINGA</i>	0.0674754 [0.042996-0.09957]	0.0162808 [0.00955696-0.0254598]
Caricaceae	<i>CARICA</i>	0.151669 [0.11358-0.197667]	0.0266087 [0.0178476-0.0377338]
Koeberliniaceae	<i>KOEBERLINIA</i>	0.270295 [0.219561-0.328515]	0.0467978 [0.0355999-0.0600621]
Capparaceae	<i>CAPPARIS</i>	0.147662 [0.109043-0.194218]	0.0328119 [0.0230737-0.0448701]
Brassicaceae	<i>DRABA</i>	0.105536 [0.0775761-0.139656]	0.0174175 [0.0113272-0.0253804]
	<i>ARABIS</i>	0.0431611 [0.0260801-0.0662016]	0.0115995 [0.00678635-0.0182803]
	<i>LOBULARIA</i>	0.0765398 [0.0532642-0.105779]	0.0166758 [0.0107492-0.0244692]
	<i>LEPIDIUM</i>	0.0872472 [0.0622194-0.118311]	0.0206198 [0.0138798-0.0292543]
	<i>ARABIDOPSIS</i>	0.0543333 [0.0351691-0.0794602]	0.00929897 [0.00503494-0.0154455]
	<i>CAPSELLA</i>	0.0509469 [0.0321628-0.075736]	0.0175321 [0.0113351-0.0256402]
	<i>NASTURTIUM</i>	0.0495676 [0.0315056-0.0735162]	0.0152857 [0.00963179-0.0228134]
	<i>BARBAREA</i>	0.0531551 [0.0343235-0.077877]	0.0131224 [0.00794315-0.0201782]
	<i>AETHONEMA</i>	0.117408 [0.0867294-0.154481]	0.0334523 [0.0244473-0.0444151]
Bataceae	<i>BATIS</i>	0.418565 [0.353189-0.492193]	0.0856031 [0.0702653-0.102989]
MALVALES			
Cistaceae	<i>TUBERARIA</i>	0.694607 [0.582698-0.82245]	0.124826 [0.102142-0.150703]
Malvaceae	<i>PACHIRA</i>	0.0127866 [0.00483782-0.0264366]	0.00816696 [0.00424251-0.0139802]
	<i>OCHROMA</i>	0.0117177 [0.00419243-0.0251404]	0.00723882 [0.00356912-0.0127963]
	<i>DURIO</i>	0.0350646 [0.0200181-0.0560833]	0.0266237 [0.0188304-0.0363219]
	<i>BERRYA</i>	0.0367412 [0.0204973-0.0592625]	0.0104258 [0.0058235-0.0169445]
SAPINDALES			
Rutaceae	<i>RUTA</i>	0.15914 [0.1202-0.205701]	0.0369775 [0.0266605-0.0496118]
	<i>PONCIRUS</i>	0.143434 [0.105717-0.189305]	0.0238844 [0.0155293-0.0347592]
	<i>ZANTHOXYLUM</i>	0.0475394 [0.029592-0.071434]	0.022731 [0.0155997-0.0317661]
	<i>CASIMIROA</i>	0.0543932 [0.0350475-0.0796443]	0.0266366 [0.0188146-0.0363744]
Simaroubaceae	<i>SIMAROUBA</i>	0.0316466 [0.0167718-0.0532443]	0.00992242 [0.00508787-0.0170442]
	<i>SIMABA</i>	0.0151996 [0.00586067-0.0307226]	0.00953265 [0.00458316-0.0166416]
	<i>SOULAMEA</i>	0.0616308 [0.0403442-0.0891056]	0.0148846 [0.00913794-0.0225694]
Meliaceae	<i>TRICHILIA</i>	0.0900304 [0.0620523-0.125221]	0.0262685 [0.0177991-0.0370443]
	<i>MELIA</i>	0.120758 [0.0899453-0.157871]	0.0338774 [0.024357-0.0453929]
	<i>SWIETENIA</i>	0.0818366 [0.0560363-0.114646]	0.016261 [0.00976505-0.0250407]
Sapindaceae	<i>XANTHOCERAS</i>	0.17239 [0.134207-0.217306]	0.0272546 [0.0190813-0.0374048]
	<i>CUPANIOPSIS</i>	0.0787953 [0.0541561-0.109749]	0.024123 [0.0166666-0.0335077]

	<i>KOELREUTERIA</i> <i>AESCULUS</i>	0.0989768 [0.0713873-0.132816] 0.134581 [0.101556-0.174074]	0.0282198 [0.0201431-0.038198] 0.0369411 [0.0273196-0.0485549]
GERANIALES			
Geraniaceae	<i>PELARGONIUM</i>	0.475846 [0.399311-0.562483]	0.0812199 [0.0647161-0.10017]
Melanthaceae	<i>GREYIA</i>	0.11479 [0.0802523-0.156934]	0.0293233 [0.0195267-0.0414051]
MYRTALES			
Onagraceae	<i>FUCHSIA</i>	0.263797 [0.208276-0.32876]	0.0492858 [0.0367607-0.0643659]
Myrtaceae	<i>HETEROPYXIS</i>	0.112204 [0.0782061-0.153667]	0.0264467 [0.0177264-0.0373256]
ZYGOPHYLLES			
Zygophyllaceae	<i>LARREA</i>	0.720296 [0.628172-0.822728]	0.135544 [0.116281-0.156877]
CELASTRALES			
Lepidobotryaceae	<i>LEPIDOBOTRYS</i>	0.033072 [0.0169843-0.0560398]	0.008535 [0.00424711-0.014937]
	<i>RUPTILIOCARPON</i>	0.0256375 [0.0111733-0.0470329]	0.0168053 [0.0105654-0.0250621]
Parnassiaceae	<i>PARNASSIA</i>	0.0881716 [0.0592301-0.124362]	0.0177205 [0.0111331-0.0263784]
	<i>LEPUROPETALON</i>	0.143544 [0.107219-0.186983]	0.0346747 [0.0252294-0.0461866]
Celastraceae	<i>MORTONIA</i>	0.220896 [0.175823-0.273247]	0.0531843 [0.041325-0.0671081]
	<i>QUETZALIA</i>	0.119026 [0.0860416-0.159581]	0.0279988 [0.0192606-0.0390519]
	<i>STACKHOUSIA</i>	0.210605 [0.165328-0.263422]	0.0213703 [0.0142269-0.0305471]
	<i>TRIPTEROCOCCUS</i>	0.126009 [0.0905058-0.168922]	0.0218312 [0.0145091-0.0312225]
	<i>DENHAMIA</i>	0.086246 [0.0589213-0.120595]	0.01478 [0.00879081-0.0228864]
	<i>ELAEODENDRON</i>	0.0580693 [0.037545-0.0850177]	0.00922416 [0.00481835-0.0157035]
	<i>MAYTENUS</i>	0.0202677 [0.00900623-0.0379349]	0.00517655 [0.00207794-0.010351]
	<i>CANOTIA</i>	0.103105 [0.0748196-0.137818]	0.0255915 [0.0174976-0.0357287]
	<i>EUONYMUS</i>	0.0540222 [0.0340816-0.0804323]	0.0225149 [0.0150348-0.0321071]
MALPHIGIALES			
OF* Caryocaraceae	<i>CARYOCAR</i>	0.228468 [0.178192-0.28758]	0.0537514 [0.0407329-0.0692926]
Clusiaceae	<i>CLUSIA</i>	0.120961 [0.0852883-0.16455]	0.0454331 [0.0339728-0.0591102]
	<i>GARCINIA</i>	0.0492728 [0.0278265-0.0783066]	0.0263175 [0.0177693-0.0370672]
	<i>MONTROUZIERA</i>	0.0781179 [0.0515102-0.111862]	0.0401162 [0.029499-0.0529198]
Hypericaceae	<i>HYPERICUM</i>	0.317146 [0.241742-0.404967]	0.130268 [0.108258-0.154999]
Podostemaceae	<i>PODOSTEMUM</i>	0.732066 [0.616246-0.863338]	0.151085 [0.127388-0.177441]
Ctenolophonaceae	<i>CTENOLOPHON</i>	0.197711 [0.155422-0.247246]	0.0436346 [0.0328928-0.0565014]
Balanopaceae	<i>BALANOPS</i>	0.0812264 [0.0542394-0.115132]	0.0375644 [0.0273873-0.0499463]
Trigoniaceae	<i>TRIGONIA</i>	0.291669 [0.237197-0.354231]	0.0550368 [0.0424855-0.0697886]
Chrysobalanaceae	<i>ATUNA</i>	0.0480568 [0.0288224-0.0743085] 0.00788439 [0.00179817- 0.0205503]	0.0154183 [0.00918837-0.0239158] 0.000874185 [1.60682e-05- 0.00394364]
	<i>PARINARI</i>	0.0479088 [0.0274911-0.0754835]	0.0175303 [0.0108863-0.0263244]
Euphroniaceae	<i>EUPHRONIA</i>	0.236538 [0.187386-0.293651]	0.0573256 [0.0445977-0.0722216]
Acariaceae	<i>KIGGELARIA</i>	0.139267 [0.104175-0.1815]	0.0240351 [0.0161748-0.0339968]
	<i>CAMPSTOXYLUS</i>	0.130471 [0.0963632-0.171562]	0.0316867 [0.0224329-0.0430258]
Violaceae	<i>RINOREA</i>	0.0720202 [0.0469187-0.104134]	0.0254894 [0.0170183-0.0361174]
	<i>LEONIA</i>	0.12055 [0.086751-0.161931]	0.028015 [0.0192609-0.03899]
Goupiaceae	<i>GOUPIA</i>	0.140917 [0.10629-0.182529]	0.0187808 [0.0121185-0.0275006]
Salicaceae	<i>SALIX</i>	0.0845446 [0.0574117-0.118778]	0.0345972 [0.0247701-0.0465982]
	<i>DOVYALIS</i>	0.0497198 [0.029323-0.0771446]	0.0124223 [0.0069695-0.0200284]
	<i>CASEARIA</i>	0.103408 [0.0740065-0.139687]	0.0173877 [0.0110012-0.0258551]
	<i>LUNANIA</i>	0.0448698 [0.0259744-0.0706803]	0.00664767 [0.00304138-0.012318]
Lacistemataceae	<i>LACISTEMA</i>	0.154777 [0.118567-0.197851]	0.02814 [0.0197863-0.0385361]
Turneraceae	<i>PIRIQUETA</i>	0.437841 [0.367015-0.517925]	0.11281 [0.0941761-0.133735]
Passifloraceae	<i>PASSIFLORA</i>	0.154561 [0.114921-0.202035]	0.0712798 [0.0565756-0.0882422]

Ochnaceae	<i>PAROPSIA</i>	0.0822106 [0.0522055-0.120114]	0.0262545 [0.0168308-0.0381471]	
	<i>CESPEDESIA</i>	0.0623118 [0.0388288-0.0931607]	0.0150457 [0.00866197-0.0237605]	
	<i>SAUVAGESIA</i>	0.238178 [0.190753-0.293186]	0.0454908 [0.0343202-0.058806]	
	<i>OCHNA</i>	0.0244225 [0.0118713-0.0434224]	0.00395811 [0.00141201-0.0085244]	
Quiinaceae	<i>GOMPHIA</i>	0.0167036 [0.00665863-0.0332435]	0.00712421 [0.00341523-0.0128578]	
	<i>QUIINA</i>	0.0750112 [0.0500629-0.106926]	0.0164178 [0.0101023-0.0248769]	
Ixonanthaceae	<i>IXONANTHES</i>	0.359659 [0.299775-0.427635]	0.0726475 [0.0584194-0.0890388]	
Phyllanthaceae	<i>PHYLLANTHUS</i>	0.0467675 [0.0284002-0.0717068]	0.0177503 [0.0113065-0.0262651]	
	<i>BREYNIA</i>	0.0466367 [0.0283442-0.0714513]	0.0190651 [0.0123778-0.0278086]	
	<i>FLUEGGEA</i>	0.0284189 [0.0146383-0.0487031]	0.0136872 [0.00806147-0.0214115]	
	<i>SAVIA</i>	0.0117685 [0.00395176-0.0258224]	0.00707998 [0.00310123-0.0132789]	
	<i>CHEISTANTHUS</i>	0.186265 [0.145846-0.233555]	0.0336441 [0.024684-0.0445407]	
	<i>HEYWOODIA</i>	0.184388 [0.144041-0.231645]	0.0373449 [0.0277707-0.048886]	
	<i>BISCHOFIA</i>	0.171092 [0.131444-0.218135]	0.0298607 [0.0211182-0.0407052]	
	Picodendraceae	<i>ANDROSTACHYS</i>	0.0413964 [0.0246459-0.0246459]	0.0139195 [0.00818258-0.0216711]
		<i>PICRODENDRON</i>	0.0347378 [0.0189267-0.0571136]	0.0150433 [0.00904028-0.0231672]
		<i>PETALOSTIGMA</i>	0.0956819 [0.067801-0.13035]	0.0199712 [0.0129576-0.0290872]
		<i>PODOCALYX</i>	0.0656682 [0.0427336-0.09545]	0.0195503 [0.0126465-0.0285601]
	Linaceae	<i>LINUM</i>	0.200335 [0.154834-0.253623]	0.0751313 [0.0603855-0.0920104]
		<i>SCLEROLINON</i>	0.108973 [0.0744506-0.151321]	0.0293489 [0.0199592-0.0410498]
Pandaceae	<i>GALEARIA</i>	0.14582 [0.109579-0.189144]	0.0280456 [0.0196298-0.0385364]	
Exythroxyloaceae	<i>ERYTHROXYLUM</i>	0.201198 [0.157211-0.252804]	0.0613224 [0.0482833-0.0765317]	
Rhizophoraceae	<i>CARALLIA</i>	0.166074 [0.126489-0.21317]	0.0341645 [0.0247096-0.045738]	
Euphorbiaceae	<i>RICINUS</i>	0.0024383 [8.58242e-05-0.0109392]	0.000993341 [5.35342e-05-0.00432091]	
	<i>RICINUS COMUNIS</i>	0.00277944 [0.000148815-0.0121859]	0.000877506 [4.69641e-05-0.00384521]	
	<i>MACARANGA</i>	0.144765 [0.109736-0.186795]	0.0215616 [0.0143799-0.0308056]	
	<i>DALECHAMPIA</i>	0.08371 [0.0575298-0.116804]	0.0209423 [0.0137295-0.0302765]	
	<i>LEUCOCROTON</i>	0.0848521 [0.0586178-0.117923]	0.0250428 [0.0170302-0.0351382]	
	<i>ACALYPHA</i>	0.16666 [0.128271-0.212255]	0.031937 [0.022941-0.043023]	
	<i>MANIHOT</i>	0.0964288 [0.0682677-0.13145]	0.0161699 [0.00982772-0.0246671]	
	<i>ENDOSPERMUM</i>	0.131235 [0.0978881-0.171524]	0.0258193 [0.0178135-0.0358938]	
	<i>EUPHORBIA</i>	0.100811 [0.0713082-0.137393]	0.0204291 [0.0133734-0.0295825]	
	<i>SYNADENIUM</i>	0.0703668 [0.0458491-0.10189]	0.0273284 [0.0190297-0.0377091]	
	<i>EXCOECARIA</i>	0.0471541 [0.028785-0.0720614]	0.00950344 [0.00508518-0.0159541]	
	<i>HURA</i>	0.0366245 [0.0206888-0.0590699]	0.00885184 [0.00459468-0.0151559]	
	<i>HOMALANTHUS</i>	0.0678636 [0.0451325-0.0971853]	0.0175415 [0.0111215-0.0260214]	
	<i>ACTINOSTEMON</i>	0.0823442 [0.0569665-0.114417]	0.0141727 [0.00853624-0.00853624]	
	<i>PIMELODENDRON</i>	0.0744253 [0.0502779-0.10531]	0.0136852 [0.00809866-0.0213551]	
	<i>CROTON</i>	0.216062 [0.171232-0.268409]	0.0394199 [0.0292572-0.0516904]	
	<i>CODIAEUM</i>	0.0986134 [0.0700334-0.134062]	0.0170357 [0.0103377-0.0259092]	
	<i>OSTODES</i>	0.0171712 [0.00616388-0.0353224]	0.00528009 [0.00196576-0.0108779]	
	<i>SUREGADA</i>	0.110485 [0.0804842-0.147286]	0.0290014 [0.0205057-0.0395803]	
	<i>NEOSCORTECHINIA</i>	0.0665974 [0.0437109-0.096118]	0.0230831 [0.0155495-0.0327319]	
	<i>CLUTIA</i>	0.108856 [0.078002-0.14682]	0.0330403 [0.0234883-0.0447411]	
	<i>PERA</i>	0.0949036 [0.0664904-0.13032]	0.0162726 [0.00975778-0.024978]	
	Irvingiaceae	<i>IRVINGIA</i>	0.352055 [0.292559-0.419797]	0.044817 [0.0339627-0.0578021]
	Malpighiaceae	<i>STIGMAPHYLLON</i>	0.0247951 [0.0123952-0.0435718]	0.0122549 [0.00705219-0.0195218]
		<i>DICELLA</i>	0.0338694 [0.018712-0.0554009]	0.0136056 [0.00790391-0.0214378]
		<i>MASCAGNIA</i>	0.0274238 [0.0142024-0.0470613]	0.00468678 [0.00183078-0.00955672]
		<i>HIRAEA</i>	0.0413131 [0.0244326-0.0646009]	0.00863776 [0.00444804-0.0148569]
		<i>BUNCHOSIA</i>	0.0514062 [0.0320405-0.0773023]	0.0125882 [0.00730067-0.0199324]
		<i>GALPHIMIA</i>	0.113007 [0.0818599-0.151142]	0.0233334 [0.0155971-0.0332019]

Elatinaceae	<i>BYRSONIMA</i>	0.090151 [0.0616096-0.126304]	0.00995694 [0.00511884- 0.0171015]
Humiriaceae	<i>ELATINE</i>	0.25445 [0.204748-0.311939]	0.0514609 [0.0396757-0.0653795]
	<i>HUMIRIA</i>	0.0389883 [0.0224896-0.0620241]	0.00552828 [0.00233408-0.0107647]
	<i>SACOGLOTTIS</i>	0.0201288 [0.00896275-0.0378317]	0.0120369 [0.00685158-0.0192942]
Putranjivaceae	<i>DRYPETES</i>	0.180288 [0.135293-0.233138]	0.0325527 [0.02322-0.044006]
Lophopyxidaceae	<i>LOPHOPYXIS</i>	0.163999 [0.118534-0.219371]	0.0668329 [0.0513324-0.0851793]
Oxalidales			
Oxalidaceae	<i>AVERRHOA</i>	0.0862226 [0.0578985-0.121769]	0.0215405 [0.014035-0.0311676]
	<i>OXALIS</i>	0.232525 [0.185186-0.28751]	0.0516324 [0.0397533-0.0656618]
Cunoniaceae	<i>DAVIDSONIA</i>	0.124136 [0.0890174-0.167283]	0.0250244 [0.0162622-0.0362898]
Elaeocarpaceae	<i>ELAEOCARPUS</i>	0.120285 [0.0868065-0.161172]	0.0271129 [0.018315-0.0381157]
Fabales			
Fabaceae	<i>CERCIS</i>	0.156304 [0.117991-0.201863]	0.0339253 [0.0246001-0.0452906]
	<i>ALBIZIA</i>	0.169626 [0.123632-0.225357]	0.0460953 [0.0336556-0.0611893]
	<i>GLYCINE</i>	0.350524 [0.287775-0.42200]	0.0829566 [0.0679404-0.100006]
	<i>MEDICAGO</i>	0.325996 [0.265912-0.394671]	0.0664989 [0.053108-0.0819282]
Rosales			
Rosaceae	<i>KERRIA</i>	0.0781544 [0.0531743-0.109599]	0.0265502 [0.018527-0.0365299]
	<i>PRUNUS</i>	0.082609 [0.0566168-0.115204]	0.0337301 [0.0245206-0.0449267]
Rhamnaceae	<i>RHAMNUS</i>	0.171823 [0.133278-0.217129]	0.0480201 [0.0368299-0.0611781]
	<i>CEANOTHUS</i>	0.144326 [0.107691-0.188443]	0.0271414 [0.0186736-0.037778]
Cannabaceae	<i>CELTIS</i>	0.259959 [0.208552-0.319427]	0.0448404 [0.0338301-0.0579811]
	<i>HUMULUS</i>	0.186687 [0.141826-0.239963]	0.034198 [0.0242313-0.0465111]
Moraceae	<i>FIGUS</i>	0.136544 [0.0994197-0.181426]	0.0306046 [0.0215871-0.0417752]
Cucurbitales			
Anisophylleaceae	<i>ANISOPHYLLEA</i>	0.0542933 [0.0330812-0.0824844]	0.020512 [0.0133178-0.0298281]
	<i>POGA</i>	0.0461285 [0.0265754-0.0727059]	0.0160763 [0.00980467-0.0244744]
	<i>COMBRETOCARPUS</i>	0.138824 [0.102548-0.182597]	0.0441054 [0.0332291-0.0571086]
Cucurbitaceae	<i>COCCINIA</i>	0.0024563 [0.000123662-0.0108839]	0.00331438 [0.0010287-0.00768704]
	<i>CUCUMIS</i>	0.0600687 [0.0393517-0.0870703]	0.0192816 [0.0124234-0.0281903]
	<i>LAGENARIA</i>	0.0235407 [0.0115619-0.0417241]	0.00944622 [0.00499016-0.0159469]
	<i>DENDROSICYOS</i>	0.0235683 [0.0115074-0.0419224]	0.00315392 [0.000967141-0.00735077]
	<i>SEYRIGIA</i>	0.0168292 [0.00681902-0.0332739]	0.0109722 [0.00609029-0.0179017]
	<i>ECBALLIUM</i>	0.0734862 [0.0498014-0.103714]	0.0128504 [0.00752669-0.0202311]
	<i>SCHIZOPEPON</i>	0.0895589 [0.0630356-0.122688]	0.0162959 [0.0101098-0.024544]
	<i>MARAH</i>	0.0603144 [0.0391417-0.0879617]	0.0200038 [0.01313-0.0289345]
	<i>GYNOSTEMMA</i>	0.0464154 [0.0280538-0.071326]	0.0167207 [0.0103932-0.0251279]
	<i>NEOALSOMITRA</i>	0.0659134 [0.0228134-0.0948766]	0.0202992 [0.0132567-0.029433]
Tetramelaceae	<i>OCTOMELES</i>	0.0522614 [0.0325409-0.0786118]	0.00978148 [0.00521905-0.0164194]
	<i>TETRAMELES</i>	0.0466146 [0.0279741-0.071925]	0.0177539 [0.01128-0.0262847]
Datisceae	<i>DATISCA</i>	0.0780175 [0.0532791-0.109385]	0.0331556 [0.0239526-0.0444406]
Begoniaceae	<i>BEGONIA</i>	0.0918132 [0.0645478-0.125875]	0.00921234 [0.00477839-0.0157191]
	<i>HILLEBRANDIA</i>	0.0417748 [0.0241506-0.066117]	0.00761867 [0.00367375-0.0136104]
Coriariaceae	<i>CORIARIA</i>	0.136929 [0.103499-0.176957]	0.0479547 [0.0367467-0.0611608]
Corynocarpaceae	<i>CORYNOCARPUS</i>	0.0529474 [0.033042-0.0793967]	0.0215933 [0.014421-0.0308142]
Fagales			
Fagaceae	<i>CASTANEA</i>	0.00964819 [0.00298097-0.0224709]	0.00532564 [0.00218736-0.0105062]
	<i>CASTANOPSIS</i>	0.0109461 [0.00349494-0.024692]	0.00695961 [0.0032651-0.0126952]
	<i>CHRYSOLEPIS</i>	0.0308303 [0.0159201-0.0529126]	0.00602018 [0.00242361-0.0120186]
	<i>TRIGONOBALANUS</i>	0.0359938 [0.0208952-0.0569437]	0.00865902 [0.00451076-0.0147259]
	<i>FAGUS</i>	0.0801886 [0.0531531-0.114986]	0.0176429 [0.0107662-0.0268809]

Myriaceae	<i>COMPTONIA</i>	0.107146 [0.0761973-0.145688]	0.0200087 [0.0126336-0.02975] 0.00284021 [0.000482683- 0.00824186]
Juglandaceae	<i>CARYA</i>	0.0159556 [0.00486177-0.0353463]	0.0127695 [0.00741557-0.0201754]
	<i>PLATYCARYA</i>	0.0384536 [0.0210802-0.0625285]	0.0170657 [0.0107657-0.0254168]
	<i>CYCLOCARYA</i>	0.18014 [0.14058-0.22678]	0.0080164 [0.00374954-0.0146272]
Rhoipteleaceae	<i>RHOIPTLEA</i>	0.0188519 [0.00727295-0.0380185]	0.0230391 [0.0154819-0.0326574]
Ticodendraceae	<i>TICODENDRON</i>	0.0707266 [0.0467641-0.101431]	0.0337772 [0.024145-0.0455882]
Casuarinaceae	<i>CASUARINA</i>	0.18221 [0.141159-0.230682]	0.00948752 [0.00500309-0.0160124]
Betulaceae	<i>ALNUS</i>	0.0255922 [0.0127512-0.0448604]	0.0169615 [0.0106966-0.0252785]
	<i>OSTRYA</i>	0.0438687 [0.0264916-0.0676179]	0.0041601 [0.00148816-0.00888942]
	<i>OSTRYOPSIS</i>	0.0129567 [0.0044672-0.027968]	
GRUPOS EXTERNOS	<i>VITIS</i>	0.185652 [0.146436-0.231507]	0.041064 [0.031007-0.0530893]
	<i>ALTINGIA</i>	0.111224 [0.0787624-0.150422]	0.0244768 [0.0163449-0.034662]
	<i>CRASSULA</i>	0.706644 [0.609859-0.814998]	0.123754 [0.104229- 0.145614]
	<i>PHYTOLACCA</i>	0.543291 [0.460814-0.636369]	0.0786942 [0.0629916-0.0968235]
	<i>HYDRANGEA</i>	0.159326 [0.118092-0.209157]	0.034071 [0.023876-0.0467623]
	<i>GARRYA</i>	0.178145 [0.137683-0.225637]	0.0472775 [0.0363056-0.0602262]
	<i>GUNNERA</i>	0.208872 [0.166851-0.257631]	0.0553436 [0.0434982-0.0691471]
	<i>BUXUS</i>	0.187007 [0.147107-0.233636]	0.036682 [0.0272546-0.0480521]
	<i>TROCHODENDRON</i>	0.132923 [0.0992959-0.173136]	0.0509651 [0.0396502-0.0642381]
	<i>XANTHORHIZA</i>	0.402256 [0.336748-0.476416]	0.0725191 [0.0583022-0.0888959]
	<i>PLATANUS</i>	0.190948 [0.149514-0.239277]	0.0307295 [0.0220481-0.041381]
	<i>CERATOPHYLLUM</i>	0.436337 [0.366371-0.515197]	0.101279 [0.0841545-0.120548]
	<i>ACORUS</i>	0.437515 [0.365117-0.519511]	0.0984086 [0.0810745-0.118047]
	<i>ILLICIAM</i>	0.284872 [0.229401-0.348306]	0.0845595 [0.0690048-0.102177]

APENDICE IV

Valores de tasas relativas de sustitución sinónima y no sinónima con intervalos de confianza del análisis de genes independientes.

TASAS DE SUSTITUCION DE *rbcL*

ORDEN, FAMILIA	GENERO	TASA SINONIMA	TASA NO-SINONIMA
CROSSOSOMATALES			
Staphyleaceae	<i>EUSCAPHIS</i>	0.111678[0.0609308-0.184614]	0.00790061[0.0017977-0.0200516]
Stachyuraceae	<i>STACHYURUS</i>	0.0526716[0.0194704-0.108385]	0.00727632[0.00146068-0.0193388]
HUERTEALES			
Gerrardinaceae	<i>PERROTTETIA</i>	0.146615[0.087255-0.228846]	0.0198075[0.00864861-0.0373104]
BRASSICALES			
Akaniaceae	<i>BRETSCHNEIDERA</i>	0.0589442[0.0243411-0.115614]	0.0258119[0.012965-0.0449862]
Moringaceae	<i>MORINGA</i>	0.0546977[0.0218685-0.109759]	0.0120364[0.00406696-0.0261584]
Caricaceae	<i>CARICA</i>	0.196962[0.12565-0.292133]	0.0200554[0.00909251-0.0371739]
Koeberliniaceae	<i>KOEBERLINIA</i>	0.280915[0.190926-0.396429]	0.00594543[0.00105685-0.0171205]
Capparaceae	<i>CAPPARIS</i>	0.0669799[0.0287989-0.128052]	0.0122534[0.00438209-0.0263779]
Brassicaceae	<i>DRABA</i>	0.111533[0.0624917-0.181856]	0.00231042[0.000131827-0.0101791]
	<i>ARABIS</i>	0.0473186[0.018572-0.0965997]	0.00462407[0.000768927-0.0142924]
	<i>LOBULARIA</i>	0.0388889[0.0139115-0.0839444]	0.00461973[0.000768166-0.0142775]
	<i>LEPIDIUM</i>	0.113248[0.0632731-0.184946]	0.00462202[0.000768677-0.0142879]
	<i>ARABIDOPSIS</i>	0.0551993[0.0233417-0.107798]	0.00231463[0.00013207-0.0101978]
	<i>CAPSELLA</i>	0.023963[0.00570063-0.0628628]	0[0-0.00444432]
	<i>NASTURTIUM</i>	0.0471744[0.0186557-0.096077]	0.0115857[0.00415041-0.0249362]
	<i>BARBAREA</i>	0.0473507[0.0187377-0.0964152]	0.00231486[0.000128157-0.0102116]
	<i>AETHIONEMA</i>	0.113353[0.0633927-0.185023]	0[0-0.00697781]
Bataceae	<i>BATIS</i>	0.366401[0.260544-0.499232]	0.0415122[0.0244786-0.0648313]
MALVALES			
Cistaceae	<i>TUBERARIA</i>	0.688132[0.52817-0.882371]	0.0349616[0.0197694-0.0563024]
Malvaceae	<i>PACHIRA</i>	0.0157287[0.00260566-0.0487361]	0.00921754[0.0028611-0.0214384]
	<i>OCHROMA</i>	0.0077807[0.000405041-0.0344936]	0.00919426[0.00284861-0.0213944]
	<i>DURIO</i>	0.0541853[0.0223836-0.106899]	0.0283124[0.0151541-0.0475236]
	<i>BERRYA</i>	0.0394532[0.0128-0.0876514]	0.0145215[0.00579559-0.0292891]
SAPINDALES			
Rutaceae	<i>RUTA</i>	0.169517[0.104587-0.257478]	0.0208099[0.00998916-0.0375791]
	<i>PONCIRUS</i>	0.181621[0.114393-0.271556]	0.0281458[0.0150562-0.0472717]
	<i>ZANTHOXYLUM</i>	0.0618377[0.0268946-0.118211]	0.00473075[0.00077598-0.0146525]
	<i>CASIMIROA</i>	0.0315149[0.00917645-0.0747207]	0.0152195[0.00594699-0.0306564]
Simaroubaceae	<i>SIMAROUBA</i>	0.0423751[0.0145773-0.0910242]	0.00746018[0.00145079-0.0202369]
	<i>SIMABA</i>	0.0265887[0.00603867-0.0684462]	0.00887827[0.00211486-0.0219733]
	<i>SOULAMEA</i>	0.07825[0.035962-0.143481]	0.00710591[0.00112948-0.0193362]
Meliaceae	<i>TRICHILIA</i>	0.130121[0.0723464-0.210927]	0.0385122[0.0225244-0.0608093]
	<i>MELIA</i>	0.156219[0.0930861-0.242847]	0.00694755[0.00172605-0.0180345]
	<i>SWIETENIA</i>	0.090716[0.0462724-0.157166]	0.00462407[0.000768723-0.0142937]
Sapindaceae	<i>XANTHOCERAS</i>	0.176877[0.106706-0.272152]	0.00968108[0.00270798-0.0230913]
	<i>CUPANIOPSIS</i>	0.0926493[0.0463539-0.161697]	0.0112764[0.00390165-0.0245377]
	<i>KOELREUTERIA</i>	0.0790997[0.0369364-0.143761]	0.018399[0.00836163-0.0343627]
	<i>AESCULUS</i>	0.127981[0.071149-0.207832]	0.0127414[0.00452758-0.0269507]
GERANIALES			
Geraniaceae	<i>PELARGONIUM</i>	0.523909[0.394935-0.681682]	0.0140329[0.00555969-0.0284978]
Melanthaceae	<i>GREYIA</i>	0.115371[0.0610538-0.193027]	0.0185138[0.00844444-0.0345312]
MYRATALES			
Onagraceae	<i>FUCHSIA</i>	0.27266[0.176825-0.399307]	0.0169323[0.00671627-0.0343851]
Myrtaceae	<i>HETEROPYXIS</i>	0.0958805[0.0429092-0.174548]	0.0117113[0.00418413-0.0252355]
ZYGOPHYLALLES			
Zygophyllaceae	<i>LARREA</i>	0.666725[0.513356-0.852804]	0.0483336[0.0301746-0.0726482]
CELASTRALES			
Lepidobotryaceae	<i>LEPIDOBOTRYS</i>	0.0220876[0.00155615-0.0655458]	0.00705131[0.00174518-0.0183263]
	<i>RUPTILIOCARPON</i>	0.0650852[0.0266961-0.127125]	0.0138363[0.00548651-0.0280908]
Parnassiaceae	<i>PARNASSIA</i>	0.0758332[0.0348204-0.139698]	0.00231417[0.000126775-0.0102182]
	<i>LEPUROPETALON</i>	0.121579[0.0680599-0.197566]	0.00693256[0.00172372-0.0179985]
Celastraceae	<i>MORTONIA</i>	0.199159[0.127134-0.294946]	0.00926204[0.00287152-0.0215468]
	<i>QUETZALIA</i>	0.140825[0.08344-0.220573]	0.018571[0.00847804-0.0346222]

	<i>STACKHOUSIA</i>	0.546277[0.407528-0.716571]	0.0117398[0.00420021-0.0252771]
	<i>TRIPTEROCOCCUS</i>	0.257838[0.165295-0.377945]	0.01771[0.00753213-0.0339744]
	<i>DENHAMIA</i>	0.0999469[0.0507771-0.172732]	0.00459855[0.000764715-0.0142137]
	<i>ELAEODENDRON</i>	0.0898584[0.0462146-0.155221]	0.00467052[0.000776559-0.0144342]
	<i>MAYTENUS</i>	0.0470464[0.01768-0.0976718]	0[0-0.00443174]
	<i>CANOTIA</i>	0.0563911[0.0239098-0.110045]	0.0140586[0.005583-0.0285297]
	<i>EUONYMUS</i>	0.0823277[0.0411452-0.145009]	0.0209331[0.0100483-0.0377999]
MALPHIGIALES			
Caryocaraceae	<i>CARYOCAR</i>	0.257071[0.172338-0.366617]	0.0189419[0.00844945-0.0356654]
Clusiaceae	<i>CLUSIA</i>	0.080911[0.0370712-0.149177]	0.00326383[0.000191978-0.0134948]
	<i>GARCINIA</i>	0.06194[0.0261387-0.120873]	0.0105863[0.00330115-0.0244382]
	<i>MONTROUZIERA</i>	0.0481519[0.0172884-0.101363]	0.00893029[0.0022885-0.0218526]
Hypericaceae	<i>HYPERICUM</i>	0.438198[0.304874-0.604914]	0.0241764[0.0115546-0.0431377]
Podostemaceae	<i>PODOSTEMUM</i>	0.799692[0.609041-1.03312]	0.0345015[0.0193404-0.056056]
Ctenolophonaceae	<i>CTENOLOPHON</i>	0.242987[0.163663-0.345949]	0.00919526[0.0028531-0.0213891]
Balanopaceae	<i>BALANOPS</i>	0.0669116[0.029329-0.127178]	0.00974991[0.00302665-0.022677]
Trigonaceae	<i>TRIGONIA</i>	0.231165[0.151075-0.33608]	0.0222453[0.0106803-0.0401579]
Chrysobalanaceae	<i>ATUNA</i>	0.0246996[0.00613176-0.0642911]	0.00483978[0.000802957-0.0149628]
	<i>PARINARI</i>	0[0-0.0157296]	0.00365317[0.000245831-0.0136407]
	<i>LICANIA</i>	0.00696655[0-0.0350097]	0[0-0.00613409]
Euphroniaceae	<i>EUPHRONIA</i>	0.234272[0.152848-0.340891]	0.0122111[0.00437504-0.0262833]
Acariaceae	<i>KIGGELARIA</i>	0.16228[0.0994827-0.247779]	0.0068993[0.00171631-0.0179102]
	<i>CAMPTOSTYLUS</i>	0.14331[0.0848704-0.224119]	0.0211006[0.010134-0.0380713]
Violaceae	<i>RINOREA</i>	0.0666173[0.0282791-0.127057]	0.0186717[0.00825088-0.0352763]
	<i>LEONIA</i>	0.141268[0.0829258-0.222136]	0.0238183[0.0118247-0.0419233]
Goupiaceae	<i>GOUPIA</i>	0.155786[0.0942671-0.239978]	0.00822066[0.00204063-0.0203578]
Salicaceae	<i>SALIX</i>	0.167685[0.101771-0.257434]	0.023574[0.0114542-0.0417707]
	<i>DOVYALIS</i>	0.0468782[0.0147487-0.102565]	0.0140669[0.00529354-0.0291569]
	<i>CASEARIA</i>	0.129953[0.0726597-0.211415]	0.00766511[0.00190243-0.0198989]
	<i>LUNANIA</i>	0.0644091[0.0263613-0.126305]	0.00733753[0.00181568-0.0190674]
Lacistemataceae	<i>LACISTEMA</i>	0.168443[0.104038-0.255548]	0.018557[0.00847163-0.0345948]
Turneraceae	<i>PIRQUETA</i>	0.543827[0.406109-0.713143]	0.0292507[0.015001-0.0500254]
Passifloraceae	<i>PASSIFLORA</i>	0.155103[0.0905703-0.24437]	0.0313902[0.0165899-0.0528196]
	<i>PAROPSIA</i>	0.0973873[0.0473507-0.171249]	0.0220145[0.00982833-0.0405767]
Ochnaceae	<i>CESPEDESIA</i>	0.0872067[0.0404609-0.158169]	0.0178943[0.00696724-0.0355723]
	<i>SAUVAGESIA</i>	0.245871[0.161691-0.355554]	0.0263223[0.013166-0.0459685]
	<i>OCHNA</i>	0.0425674[0.0151661-0.0920003]	0.00732737[0.00181249-0.0190425]
	<i>GOMPHIA</i>	0.0080003[0-0.0371405]	0.00732637[0.001814-0.0190445]
Quiinaeae	<i>QUIINA</i>	0.0910525[0.0454885-0.159547]	0.0178857[0.0078713-0.0339218]
Ixonanthaceae	<i>IXONANTHES</i>	0.378439[0.272159-0.511718]	0.0172401[0.00740107-0.0333902]
Phyllanthaceae	<i>PHYLLANTHUS</i>	0.0672344[0.0298941-0.127163]	0.0141658[0.00527535-0.0294875]
	<i>BREYNIA</i>	0.024735[0.00570542-0.0653436]	0.0130453[0.00471324-0.0277942]
	<i>FLUEGGEA</i>	0.0132356[0.0008952-0.0484347]	0.0126731[0.00454936-0.027192]
	<i>SAVIA</i>	0.0184366[0.00290828-0.0561358]	0.00499438[0.000813276-0.015287]
	<i>CLEISTANTHUS</i>	0.196573[0.125217-0.291471]	0.0115231[0.00412877-0.0248011]
	<i>HEYWOODIA</i>	0.152057[0.091023-0.236142]	0[0-0.0045876]
	<i>BISCHOFIA</i>	0.223125[0.145101-0.326259]	0.00989008[0.00307097-0.0229919]
Picodendraceae	<i>ANDROSTACHYS</i>	0.064456[0.0281823-0.12248]	0.00689942[0.00171191-0.0179187]
	<i>PICRODENDRON</i>	0.0158592[0-0.0550432]	0.00805201[0.00203168-0.020514]
	<i>PETALOSTIGMA</i>	0.134369[0.077827-0.213447]	0.0138543[0.00550076-0.0281135]
	<i>PODOCALYX</i>	0.0936255[0.0475483-0.16219]	0.00459737[0.000764361-0.0142079]
Linaceae	<i>LINUM</i>	0.135672[0.0744458-0.222134]	0.00956172[0.00295827-0.02226]
	<i>SCLEROLINON</i>	0.0941615[0.0435782-0.169008]	0.00732444[0.0018101-0.0190375]
Pandaceae	<i>GALEARIA</i>	0.183024[0.113492-0.276241]	0.032484[0.018275-0.0526989]
Exythroxyllaceae	<i>ERYTHROXYLUM</i>	0.218786[0.138985-0.324913]	0.0122008[0.00436694-0.0262666]
Rhizophoraceae	<i>CARALLIA</i>	0.230144[0.147734-0.339211]	0.00987142[0.00305913-0.0229598]
Euphorbiaceae	<i>RICINUS</i>	0[0-0.0159977]	0.00243396[0.000133134-0.0107464]
	<i>RICINUS_COMMUNIS</i>	0.00870134[0.000498208-0.0380077]	0.00230286[0.000126668-0.0101643]
	<i>MACARANGA</i>	0.220261[0.143685-0.321499]	0.00485846[0.000807763-0.0150185]
	<i>DALECHAMPIA</i>	0.0687211[0.0304455-0.129956]	0.0201254[0.00920495-0.0374301]
	<i>LEUCOCROTON</i>	0.105088[0.0559775-0.177365]	0.00243574[0.000138975-0.0107318]

	<i>ACALYPHA</i>	0.250715[0.16751-0.359117]	0.0196217[0.00895564-0.0365876]
	<i>MANIHOT</i>	0.139764[0.0807752-0.222659]	0.0173642[0.00743268-0.0336537]
	<i>ENDOSPERMUM</i>	0.121169[0.0679581-0.196818]	0.00925417[0.00286686-0.0215353]
	<i>EUPHORBIA</i>	0.127291[0.0704756-0.208285]	0.00486785[0.000784281-0.0151076]
	<i>SYNADENIUM</i>	0.0982233[0.0487345-0.171684]	0.0152154[0.00615353-0.030337]
	<i>EXCOECARIA</i>	0.0250356[0.00597408-0.0656981]	0.00236121[6.66555e-05-0.0106507]
	<i>HURA</i>	0.0494579[0.0188967-0.102057]	0.00771073[0.00192113-0.0199331]
	<i>HOMALANTHUS</i>	0.0570772[0.0239431-0.111774]	0.0116272[0.00416581-0.0250229]
	<i>ACTINOSTEMON</i>	0.112056[0.060934-0.186453]	0.00478494[0.000732743-0.0149583]
	<i>PIMELODENDRON</i>	0.0817912[0.0408116-0.14435]	0.016085[0.00681743-0.0312994]
	<i>CROTON</i>	0.266555[0.179004-0.38008]	0.0116985[0.00373606-0.0263317]
	<i>CODIAEUM</i>	0.122432[0.0680721-0.200261]	0[0-0.00469188]
	<i>OSTODES</i>	0.01888[0.000586477-0.059903]	0.0059956[0.00104105-0.0174585]
	<i>SUREGADA</i>	0.10318[0.0549869-0.174275]	0.0146857[0.00583187-0.0298015]
	<i>NEOSCORTECHINIA</i>	0.0771574[0.0365577-0.139654]	0.0284105[0.0152191-0.047654]
	<i>CLUTIA</i>	0.138179[0.0802935-0.219515]	0.0146806[0.00583056-0.0297949]
	<i>PERA</i>	0.0792759[0.037928-0.142789]	0.00923383[0.00286504-0.021479]
Irvingiaceae	<i>IRVINGIA</i>	0.406535[0.294836-0.546021]	0.00975517[0.00302832-0.0226903]
Malpighiaceae	<i>STIGMAPHYLLON</i>	0.0256021[0.00626247-0.0664714]	0.00490869[0.000816189-0.0151684]
	<i>DICELLA</i>	0.0479301[0.0183165-0.098656]	0.0137835[0.00544516-0.0280186]
	<i>MASCAGNIA</i>	0.0245475[0.00594898-0.0641904]	0.00242739[0.000138527-0.0106967]
	<i>HIRAEA</i>	0.0494236[0.0195414-0.100715]	0[0-0.00466551]
	<i>BUNCHOSIA</i>	0.0828723[0.0408877-0.146986]	0.0147771[0.00584024-0.030023]
	<i>GALPHIMIA</i>	0.0991287[0.0512726-0.170292]	0.00735007[0.00182871-0.0190819]
	<i>BYRSONIMA</i>	0.123516[0.0687039-0.201481]	0.00724107[0.00176361-0.018879]
Elatinaceae	<i>ELATINE</i>	0.244675[0.16105-0.354018]	0.0271918[0.0140781-0.0466969]
Humiriaceae	<i>HUMIRIA</i>	0.0246457[0.00608571-0.0642238]	0[0-0.00468624]
	<i>SACOGLOTTIS</i>	0.00815113[0.00038454-0.0362731]	0.0122182[0.0043777-0.0262945]
Putranjivaceae	<i>DRYPETES</i>	0.457436[0.327786-0.616758]	0.0149294[0.00592935-0.0302883]
Lophopyxidaceae	<i>LOPHOPYXIS</i>	0.452882[0.259182-0.730508]	0.0913565[0.0496834-0.151836]
Oxalidales			
Oxalidaceae	<i>AVERRHOA</i>	0.0592903[0.0216005-0.120857]	0.00693751[0.00172603-0.0180094]
	<i>OXALIS</i>	0.28218[0.192264-0.397913]	0.0446134[0.0269999-0.0686767]
Cunoniaceae	<i>DAVIDSONIA</i>	0.213345[0.133705-0.320514]	0.0363279[0.0199539-0.0599214]
Elaeocarpaceae	<i>ELAEOCARPUS</i>	0.106145[0.0546988-0.181192]	0.0076023[0.00137691-0.0207847]
Fabales			
Fabaceae	<i>CERCIS</i>	0.155144[0.0886858-0.246719]	0.0171955[0.00730637-0.0331253]
	<i>ALBIZIA</i>	0.252443[0.126628-0.440991]	0.0325957[0.0129152-0.0662424]
	<i>GLYCINE</i>	0.34177[0.230982-0.482662]	0.0299694[0.0161772-0.0499257]
	<i>MEDICAGO</i>	0.5006[0.362484-0.672369]	0.0343529[0.019371-0.055595]
Rosales			
Rosaceae	<i>KERRIA</i>	0.0565689[0.0227205-0.112495]	0.0111478[0.0037856-0.0244319]
	<i>PRUNUS</i>	0.0767318[0.0358549-0.140485]	0.0116797[0.0041829-0.0251383]
Rhamnaceae	<i>RHAMNUS</i>	0.195198[0.124342-0.289463]	0.0247325[0.012463-0.0430498]
	<i>CEANOTHUS</i>	0.186416[0.116979-0.279471]	0.00946208[0.00277845-0.0222821]
Cannabaceae	<i>CELTIS</i>	0.182589[0.110684-0.28007]	0.0130492[0.0046943-0.0274774]
	<i>HUMULUS</i>	0.196974[0.0960809-0.350538]	0.0171331[0.00422357-0.0425246]
Moraceae	<i>FICUS</i>	0.131711[0.0649857-0.225863]	0.0085787[0.00215895-0.0218352]
Cucurbitales			
Anisophylleaceae	<i>ANISOPHYLLEA</i>	0.0563414[0.0209721-0.115762]	0.0192199[0.00835781-0.0366593]
	<i>POGA</i>	0.0475009[0.0153388-0.103431]	0.0190809[0.00845924-0.035853]
Cucurbitaceae	<i>COMBRETOCARPUS</i>	0.130583[0.07025-0.216129]	0.028509[0.0149153-0.0483056]
	<i>COCCINIA</i>	0.00859632[0.000490183-0.0379153]	0[0-0.00571921]
	<i>CUCUMIS</i>	0.0413238[0.014628-0.0895281]	0.0103416[0.00313253-0.0235325]
	<i>LAGENARIA</i>	0.0249521[0.0061935-0.0649587]	0.0115887[0.00414902-0.0249489]
	<i>DENDROSICYOS</i>	0.0426128[0.0151369-0.0922272]	0.00473014[0.000782972-0.0146293]
	<i>SEYRIGIA</i>	0.0191794[0.00304315-0.0579967]	0.00230116[0.000123284-0.0101698]
	<i>ECBALLIUM</i>	0.0843903[0.0410622-0.150524]	0.0137837[0.00537262-0.0281553]
	<i>SCHIZOPEPON</i>	0.105722[0.0564478-0.17777]	0.00480002[0.000782391-0.014843]
	<i>MARAH</i>	0.0812031[0.039267-0.145536]	0.00255046[0.000129267-0.011199]

Tetramelaceae	<i>GYNOSTEMMA</i>	0.0527261[0.0210772-0.105969]	0.0092933[0.00287569-0.0216328]
	<i>NEOALSOMITRA</i>	0.0438244[0.0154477-0.0937505]	0.00244937[0.000139913-0.010749]
	<i>OCTOMELES</i>	0.0372653[0.0107387-0.0866914]	0.00251547[0.00013524-0.0110915]
	<i>TETRAMELES</i>	0.0426658[0.0135728-0.0952141]	0.0164913[0.00678766-0.0322813]
	<i>DATISCA</i>	0.10238[0.0538652-0.173519]	0.0247957[0.0125326-0.0430835]
Datisceae			
Begoniaceae	<i>BEGONIA</i>	0.128037[0.0724535-0.206694]	0.0151701[0.00598807-0.0304133]
	<i>HILLEBRANDIA</i>	0.0447518[0.015255-0.0968537]	0.0137902[0.00519586-0.0284663]
Coriariaceae	<i>CORIARIA</i>	0.178021[0.110581-0.269271]	0.0145451[0.00566941-0.0296235]
Corynocarpaceae	<i>CORYNOCARPUS</i>	0.0478806[0.0174771-0.100165]	0.0146408[0.00582978-0.0295787]
Fagales			
Fagaceae	<i>CASTANEA</i>	0.00789168[0.00042871-0.0349158]	0.00935828[0.00290158-0.0217699]
	<i>CASTANOPSIS</i>	0.0211981[0.00403213-0.059244]	0.0188934[0.00862503-0.0352254]
	<i>CHRYSOLEPIS</i>	0.0706281[0.0336832-0.128234]	0.00923642[0.00286011-0.0214994]
Myriaceae	<i>TRIGONOBALANUS</i>	0.0314363[0.00973555-0.0733335]	0.00927415[0.00286814-0.0215889]
	<i>FAGUS</i>	0.095685[0.0489464-0.165325]	0.014788[0.00578849-0.0299139]
	<i>COMPTONIA</i>	0.12927[0.0750668-0.205395]	0.0215521[0.0102673-0.0388892]
Junglandaceae	<i>CARYA</i>	0[0-0.0156642]	0.00466504[0.000774168-0.0144248]
	<i>PLATYCARYA</i>	0.0650722[0.0296374-0.121792]	0.00233441[0.000133202-0.0102854]
Rhoipteleaceae	<i>CYCLOCARYA</i>	0.641597[0.494033-0.820466]	0.0329724[0.0185494-0.0534911]
	<i>RHOIPTELEA</i>	0.0312012[0.00881175-0.0745208]	0.0023028[0.000131391-0.0101471]
Ticodendraceae	<i>TICODENDRON</i>	0.0881859[0.0438101-0.155404]	0.0173051[0.00739967-0.0332593]
Casuarinaceae	<i>CASUARINA</i>	0.179347[0.111461-0.271031]	0.0248559[0.0125051-0.0434295]
Betulaceae	<i>ALNUS</i>	0.0470714[0.0176576-0.0979264]	0.00232952[0.000131584-0.0102676]
	<i>OSTRYA</i>	0.055726[0.0238719-0.108314]	0.00921708[0.00286079-0.0214391]
	<i>OSTRYOPSIS</i>	0[0-0.0154107]	0.00230319[0.000128971-0.010156]
GRUPOS EXTERNOS	<i>VITIS</i>	0.200483[0.128475-0.29614]	0.0372638[0.0218236-0.0587434]
	<i>ALTINGIA</i>	0.127582[0.0667681-0.212653]	0.00921305[0.00285779-0.0214285]
	<i>CRASSULA</i>	0.844492[0.660025-1.06756]	0.0215704[0.0103528-0.0389549]
	<i>PHYTOLACCA</i>	0.49345[0.322265-0.722701]	0.0630093[0.034412-0.1044]
	<i>HYDRANGEA</i>	0.154865[0.0648022-0.305864]	0.0201288[0.0050039-0.0522827]
	<i>GARRYA</i>	0.109777[0.0507349-0.194642]	0.0147543[0.00549474-0.0301007]
	<i>GUNNERA</i>	0.198858[0.127462-0.293637]	0.0140175[0.00556792-0.0284325]
	<i>BUXUS</i>	0.197094[0.125168-0.292646]	0.0138409[0.00547579-0.0281217]
	<i>TROCHODENDRON</i>	0.145546[0.084561-0.230238]	0.0255366[0.0132307-0.043836]
	<i>XANTHORHIZA</i>	0.407817[0.29372-0.55035]	0.0248191[0.0124207-0.043612]
	<i>PLATANUS</i>	0.172214[0.103024-0.265828]	0[0-0.00773825]
	<i>CERATOPHYLLUM</i>	0.389435[0.271251-0.53955]	0.0283727[0.013881-0.0500642]
	<i>ACORUS</i>	0.413975[0.296092-0.560935]	0.0452822[0.0275687-0.0692527]
	<i>ILLICIAM</i>	0.307767[0.207523-0.435464]	0.025105[0.0125227-0.0438548]

TASAS DE SUSTITUCION DE *matK*

ORDEN, FAMILIA	GENERO	TASA SINONIMA	TASA NO-SINONIMA
CROSSOSOMATALES			
Staphyleaceae	<i>EUSCAPHIS</i>	0.0685892[0.0339-0.121164]	0.038119[0.0226587-0.0593403] 0.0169018[0.00743245-0.0319618]
Stachyuraceae	<i>STACHYURUS</i>	0.0575085[0.0266512-0.105627]	
HUERTEALES			
Gerrardinaceae	<i>PERROTTETIA</i>	0.0901453[0.0450262-0.157533]	0.116186[0.0846775-0.154738]
BRASSICALES			
Akaniaceae	<i>BRETSCHNEIDERA</i>	0.0845361[0.0413755-0.149657]	0.0675939[0.0439029-0.0983232]
Moringaceae	<i>MORINGA</i>	0.0909537[0.0329064-0.192161]	0.0640663[0.0337502-0.107929]
Caricaceae	<i>CARICA</i>	0.170295[0.0897943-0.288513]	0.0665861[0.0375282-0.107134]

Koerberliniaceae	<i>KOEBERLINIA</i>	0.232786[0.154301-0.333694]	0.133977[0.100227-0.17445]
Capparaceae	<i>CAPPARIS</i>	0.296817[0.191436-0.435179]	0.099559[0.0659799-0.142463]
Brassicaceae	<i>DRABA</i>	0.135945[0.0840106-0.206416]	0.04789[0.0304248-0.0710704]
	<i>ARABIS</i>	0.0431863[0.0165129-0.0874026]	0.0304124[0.0170073-0.0494848]
	<i>LOBULARIA</i>	0.135746[0.084392-0.205083]	0.0280687[0.0154171-0.0463027]
	<i>LEPIDIUM</i>	0.0725476[0.0369291-0.125553]	0.0430458[0.0264774-0.0653941]
	<i>ARABIDOPSIS</i>	0.0464451[0.0197102-0.0905089]	0.0192252[0.0089305-0.0352344]
	<i>CAPSELLA</i>	0.0805209[0.0416776-0.13739]	0.0492914[0.03124-0.0731837]
	<i>NASTURTIUM</i>	0.066473[0.0330169-0.117399]	0.0328817[0.0188384-0.0526255]
	<i>BARBAREA</i>	0.069764[0.0351764-0.121747]	0.037391[0.0222265-0.0582787]
	<i>AETHIONEMA</i>	0.160719[0.100469-0.240684]	0.0980716[0.0710228-0.131281]
Bataceae	<i>BATIS</i>	0.482479[0.362118-0.629527]	0.189093[0.14874-0.236155]
MALVALES			
Cistaceae	<i>TUBERARIA</i>	1.04399[0.735129-1.45689]	0.430586[0.333122-0.54733]
Malvaceae	<i>PACHIRA</i>	0.025373[0.00766039-0.0595844]	0.0161823[0.00707337-0.0308179]
	<i>OCHROMA</i>	0.00664245[0.000339607-0.0293652]	0.00931341[0.00291183-0.0213149]
	<i>DURIO</i>	0.0393866[0.0155929-0.0801545]	0.0356698[0.0209773-0.0559788]
	<i>BERRYA</i>	0.0447509[0.0183548-0.0881691]	0.0115348[0.00416228-0.0245258]
SAPINDALES			
Rutaceae	<i>RUTA</i>	0.204913[0.121173-0.320835]	0.117034[0.0786376-0.166097]
	<i>PONCIRUS</i>	0.144239[0.0604914-0.285025]	0.0585779[0.0263731-0.110063]
	<i>ZANTHOXYLUM</i>	0.0409536[0.0161812-0.0823194]	0.0576221[0.0383226-0.0825486]
	<i>CASIMIROA</i>	0.0381833[0.0143625-0.0784716]	0.0445409[0.0279133-0.0667416]
Simaroubaceae	<i>SIMAROUBA</i>	0.021376[0.00349755-0.0664596]	0.0189108[0.00671976-0.040836]
	<i>SIMABA</i>	0.0104902[0.000513472-0.0404829]	0.0142673[0.00462595-0.0308597]
	<i>SOULAMEA</i>	0.0646463[0.0310732-0.115542]	0.0382662[0.0226535-0.0595976]
Meliaceae	<i>TRICHILIA</i>	0.0942463[0.0430496-0.175582]	0.0409684[0.0205458-0.0715868]
	<i>MELIA</i>	0.110007[0.0627026-0.175209]	0.083655[0.0577456-0.115719]
	<i>SWIETENIA</i>	0.0790372[0.0337959-0.153661]	0.0461509[0.0240098-0.0784213]
Sapindaceae	<i>XANTHOCERAS</i>	0.223881[0.152779-0.314839]	0.0640884[0.0430137-0.0909732]
	<i>CUPANIOPSIS</i>	0.0618901[0.0279891-0.113846]	0.0573838[0.0379203-0.0825438]
	<i>KOELREUTERIA</i>	0.111435[0.0650575-0.17587]	0.0518063[0.0334185-0.0758973]
	<i>AESCULUS</i>	0.160239[0.102697-0.236189]	0.0839118[0.0593631-0.114382]
GERANIALES			
Geraniaceae	<i>PELARGONIUM</i>	0.667807[0.461263-0.938156]	0.316509[0.240414-0.408114]
Melanthaceae	<i>GREYIA</i>	0.137924[0.0706082-0.233202]	0.114946[0.079114-0.159822]
MYRTALES			
Onagraceae	<i>FUCHSIA</i>	0.29188[0.179303-0.44591]	0.160862[0.113567-0.220125]
Myrtaceae	<i>HETEROPYXIS</i>	0.174678[0.105524-0.26539]	0.0615605[0.0380813-0.0917288]
ZYGOPHYLALLES			
Zygophyllaceae	<i>LARREA</i>	0.821766[0.654253-1.02274]	0.32137[0.26871-0.381018]

CELASTRALES			
Lepidobotryaceae	<i>LEPIDOBOTRYS</i>	0.0892657[0.0461224-0.154052]	0.0175824[0.00652764-0.0362261]
	<i>RUPTILIOCARPON</i>	0[0-0.020692]	0.0388252[0.0217892-0.0627268]
Parnassiaceae	<i>PARNASSIA</i>	0.10537[0.0469939-0.189328]	0.0461685[0.0262898-0.0733144]
	<i>LEPUROPETALON</i>	0.193933[0.117611-0.295497]	0.106131[0.0753388-0.14431]
Celastraceae	<i>MORTONIA</i>	0.22126[0.143891-0.322314]	0.155039[0.117243-0.200323]
	<i>QUETZALIA</i>	0.0811667[0.0301088-0.168567]	0.0852973[0.0516985-0.131187]
	<i>STACKHOUSIA</i>	0.107791[0.0558233-0.182887]	0.0505688[0.0303741-0.0778765]
	<i>TRIPTEROCOCCUS</i>	0.0808986[0.0354566-0.149103]	0.0525738[0.0320626-0.0801555]
	<i>DENHAMIA</i>	0.0710927[0.0297836-0.136542]	0.0437093[0.0238452-0.0716689]
	<i>ELAEODENDRON</i>	0.0428438[0.0152145-0.0927937]	0.0257202[0.0119945-0.0471281]
	<i>MAYTENUS</i>	0.0163506[0.00261838-0.0509348]	0.0144118[0.0051389-0.0310732]
	<i>CANOTIA</i>	0.0901716[0.0471383-0.153881]	0.0481557[0.0280698-0.075206]
	<i>EUONYMUS</i>	0.0335706[0.0103945-0.0783962]	0.0163387[0.00601196-0.0342276]
MALPHIGIALES			
Caryocaraceae	<i>CARYOCAR</i>	0.207219[0.121472-0.326918]	0.15927[0.114387-0.21479]
Clusiaceae	<i>CLUSIA</i>	0.266149[0.165101-0.398968]	0.150452[0.110471-0.198788]
	<i>GARCINIA</i>	0.0810807[0.0262833-0.166782]	0.078021[0.0502457-0.113708]
	<i>MONTROUZIERA</i>	0.159519[0.0873808-0.258311]	0.124877[0.089449-0.168425]
Hypericaceae	<i>HYPERICUM</i>	0.242959[0.134356-0.387684]	0.337034[0.272434-0.411288]
Podostemaceae	<i>PODOSTEMUM</i>	0.629922[0.455229-0.845231]	0.372297[0.307345-0.445788]
Ctenolophonaceae	<i>CTENOLOPHON</i>	0.1977[0.12191-0.300007]	0.140376[0.102845-0.186275]
Balanopaceae	<i>BALANOPS</i>	0.166419[0.0937723-0.264851]	0.116655[0.0825412-0.158884]
Trigonaceae	<i>TRIGONIA</i>	0.340032[0.231345-0.47944]	0.159579[0.118594-0.209001]
Chrysobalanaceae	<i>ATUNA</i>	0.108907[0.0527677-0.194334]	0.037613[0.0196018-0.0641379]
	<i>PARINARI</i>	0.00564761[0-0.035038]	0[0-0.00627439]
	<i>LICANIA</i>	0.182825[0.106796-0.286093]	0.0547042[0.0330418-0.0838574]
Euphroniaceae	<i>EUPHRONIA</i>	0.214446[0.129415-0.328306]	0.0950329[0.0643472-0.133742]
Acariaceae	<i>KIGGELARIA</i>	0.145066[0.0794095-0.237361]	0.0705413[0.0448893-0.104074]
	<i>CAMPSTOSTYLUS</i>	0.143031[0.0763073-0.235887]	0.0752208[0.0482593-0.109789]
	<i>RINOREA</i>	0.0712132[0.0299851-0.135891]	0.0635285[0.0384827-0.0961686]
	<i>LEONIA</i>	0.136891[0.071905-0.229496]	0.0617069[0.037432-0.0941278]
	<i>GOUPIA</i>	0.15738[0.093041-0.247127]	0.0532826[0.0321929-0.0821078]
Goupiaceae	<i>SALIX</i>	0.0740534[0.0300437-0.145229]	0.0728218[0.045936-0.108082]
Salicaceae	<i>DOVYALIS</i>	0.0465285[0.0130926-0.10503]	0.0198869[0.00785862-0.0396131]
	<i>CASEARIA</i>	0.0998741[0.0525239-0.169888]	0.0424383[0.0245052-0.0674894]
	<i>LUNANIA</i>	0.0487126[0.0179789-0.101559]	0.014476[0.00512846-0.0309787]
	<i>LACISTEMA</i>	0.149458[0.0894243-0.231735]	0.0629911[0.0404789-0.0924899]
Lacistemataceae	<i>PIRIQUETA</i>	0.614688[0.455277-0.81231]	0.0924899]
Turneraceae	<i>PASSIFLORA</i>	0.175988[0.0940324-0.289466]	0.277704[0.221227-0.343361]
Passifloraceae	<i>PAROPSIS</i>	0.187562[0.101953-0.304361]	0.186538[0.140839-0.240947]
	<i>CESPEDESIA</i>	0.0499228[0.0156314-0.112288]	0.0525125[0.0253868-0.0898988]
	<i>SAUVAGESIA</i>	0.197124[0.124262-0.294824]	0.0306163[0.0141019-0.0559231]
Ochnaceae	<i>OCHNA</i>	0[0-0.0183615]	0.124453[0.0902605-0.16637]
	<i>GOMPHIA</i>	0.0405273[0.014486-0.087593]	0.00538043[0.000849952-0.0167445]
			0.0162973[0.0064598-0.0331016]

Quiinaceae	<i>QUIINA</i>	0.0896653[0.0418425-0.163207]	0.0290585[0.013588-0.0527956]
Ixonanthaceae	<i>IXONANTHES</i>	0.361087[0.254023-0.49706]	0.216267[0.169777-0.27089]
Phyllanthaceae	<i>PHYLLANTHUS</i>	0.0422133[0.0146282-0.0920875]	0.0442069[0.0257816-0.0698569]
	<i>BREYNIA</i>	0.0926488[0.0471698-0.161063]	0.0465137[0.0275647-0.0726494]
	<i>FLUEGGEA</i>	0.0376298[0.012049-0.0850237]	0.0277828[0.0136319-0.0491223]
	<i>SAVIA</i>	0.0153705[0.00253135-0.0471508]	0.00683836[0.00098441-0.0203981]
	<i>CLEISTANTHUS</i>	0.192876[0.124609-0.281884]	0.0674053[0.0457908-0.0949437]
	<i>HEYWOODIA</i>	0.250183[0.169724-0.352625]	0.111203[0.0821385-0.14647]
	<i>BISCHOFIA</i>	0.108913[0.0553359-0.188045]	0.0907748[0.0623944-0.126778]
Picodendraceae	<i>ANDROSTACHYS</i>	0.0283674[0.0086831-0.0657714]	0.0239456[0.0113181-0.0426609]
	<i>PICRODENDRON</i>	0.0184636[0.0030971-0.0561504]	0.0163661[0.00587932-0.0342069]
	<i>PETALOSTIGMA</i>	0.0248146[0.00575172-0.0655981]	0.0229741[0.0104692-0.0428808]
	<i>PODOCALYX</i>	0.0451038[0.0159152-0.0977034]	0.0443157[0.0254255-0.0708717]
Linaceae	<i>LINUM</i>	0.36771[0.256166-0.506785]	0.227156[0.180892-0.280621]
	<i>SCLEROLINON</i>	0.195034[0.108395-0.312329]	0.0651515[0.0380014-0.100816]
Pandaceae	<i>GALEARIA</i>	0.109691[0.0563226-0.187109]	0.0498867[0.0292428-0.0781198]
Exythroxyllaceae	<i>ERYTHROXYLUM</i>	0.187739[0.114487-0.287129]	0.188458[0.144666-0.240502]
Rhizophoraceae	<i>CARALLIA</i>	0.142108[0.0807382-0.228214]	0.0857279[0.0575161-0.121684]
Euphorbiaceae	<i>RICINUS</i>	0[0-0.016939]	0[0-0.00765871]
	<i>RICINUS_COMMUNIS</i>	0[0-0.0233739]	0[0-0.00584374]
	<i>MACARANGA</i>	0.119283[0.0666208-0.195119]	0.0492522[0.0297567-0.0758882]
	<i>DALECHAMPIA</i>	0.105938[0.0553716-0.180743]	0.0448485[0.0253337-0.0721277]
	<i>LEUCOCROTON</i>	0.109661[0.0581642-0.185117]	0.080016[0.0533322-0.114096]
	<i>ACALYPHA</i>	0.130408[0.0733209-0.211834]	0.0808355[0.0546946-0.114316]
	<i>MANIHOT</i>	0.0933616[0.0464755-0.163637]	0.0348638[0.0177445-0.0596664]
	<i>ENDOSPERMUM</i>	0.0913123[0.0451625-0.161698]	0.0747639[0.0488712-0.108473]
	<i>EUPHORBIA</i>	0.0534709[0.018421-0.113607]	0.0572291[0.0353319-0.0865188]
	<i>SYNADENIUM</i>	0.0744316[0.0318122-0.141926]	0.0726454[0.0474082-0.105468]
	<i>EXCOECARIA</i>	0.0250523[0.00592423-0.0659095]	0.0270136[0.0135023-0.0475046]
	<i>HURA</i>	0.01681[0.00257171-0.0526657]	0.0188948[0.00808294-0.036658]
	<i>HOMALANTHUS</i>	0.0673057[0.0292661-0.129072]	0.0500954[0.0296107-0.0782556]
	<i>ACTINOSTEMON</i>	0.0764029[0.0364506-0.138909]	0.0376887[0.0210773-0.0613391]
	<i>PIMELODENDRON</i>	0.0929237[0.0457251-0.164239]	0.0239458[0.0109498-0.0445346]
	<i>CROTON</i>	0.138157[0.078541-0.222907]	0.110577[0.0792341-0.149435]
	<i>CODIAEUM</i>	0.107271[0.0553137-0.183726]	0.0585478[0.0354364-0.0892135]
	<i>OSTODES</i>	0.0432864[0.0124879-0.100382]	0.0115311[0.00267744-0.028927]
	<i>SUREGADA</i>	0.100848[0.0524708-0.172756]	0.0834948[0.0569775-0.117313]
	<i>NEOSCORTECHINIA</i>	0.0967245[0.048159-0.169177]	0.0359005[0.0191368-0.0605636]
	<i>CLUTIA</i>	0.08531[0.0353219-0.161926]	0.0967623[0.0660908-0.135239]
	<i>PERA</i>	0.160492[0.09311-0.254324]	0.0379662[0.0186172-0.0658865]
Irvingiaceae	<i>IRVINGIA</i>	0.27527[0.183871-0.394517]	0.133373[0.0977504-0.177034]

Malphiaceae	<i>STIGMAPHYLLON</i>	0.0242812[0.00596402-0.0633761]	0.0269145[0.0134183-0.0473789] 0.0251359[0.0122553-0.0446048]
	<i>DICELLA</i>	0.0207657[0.00362888-0.0597963]	0.0107545[0.0033372-0.025022]
	<i>MASCAGNIA</i>	0.0407473[0.0145632-0.0880706]	0.0300277[0.0155421-0.0515829]
	<i>HIRAEA</i>	0.0495512[0.0195828-0.101084]	0.0209604[0.00920751-0.039771]
	<i>BUNCHOSIA</i>	0.0563594[0.0232764-0.11129]	0.061468[0.0380241-0.0925284]
	<i>GALPHIMIA</i>	0.121659[0.0653882-0.201911]	0.0209656[0.00716391-0.0454576]
	<i>BYRSONIMA</i>	0.075174[0.029146-0.154668]	0.115484[0.0826862-0.156042]
Elatinaceae	<i>ELATINE</i>	0.357749[0.250628-0.494032]	0.0188249[0.00798176-0.0366396]
Humiriaceae	<i>HUMIRIA</i>	0.0502808[0.0193849-0.103693]	0.021702[0.00986111-0.0405416]
	<i>SACOGLOTTIS</i>	0.0498932[0.0192932-0.102526]	0.0590478[0.0366691-0.0887204]
Putranjivaceae	<i>DRYPETES</i>	0.0593724[0.0230978-0.119158]	0.0799723[0.053003-0.114767]
Lophopyxidaceae	<i>LOPHOPYXIS</i>	0.0839772[0.0367984-0.15651]	
Oxalidales			
Oxalidaceae	<i>AVERRHOA</i>	0.110903[0.054146-0.193184]	0.0524661[0.0309894-0.081261]
	<i>OXALIS</i>	0.324157[0.221272-0.455804]	0.0974443[0.0672812-0.13538]
Cunoniaceae	<i>DAVIDSONIA</i>	0.055888[0.0163678-0.127647]	0.0318854[0.0118879-0.0630584]
Elaeocarpaceae	<i>ELAEOCARPUS</i>	0.228598[0.142954-0.343746]	0.0956984[0.0640958-0.135915]
Fabales			
Fabaceae	<i>CERCIS</i>	0.218555[0.146629-0.310996]	0.0797949[0.0556645-0.109949]
	<i>ALBIZIA</i>	0.187189[0.118214-0.277745]	0.0807289[0.0561066-0.111445]
	<i>GLYCINE</i>	0.398539[0.287794-0.535854]	0.215944[0.172847-0.265803]
	<i>MEDICAGO</i>	0.201971[0.1253-0.302599]	0.13525[0.101669-0.175364]
Rosales			
Rosaceae	<i>KERRIA</i>	0.127574[0.0742246-0.200907]	0.0656572[0.0437838-0.0935877]
	<i>PRUNUS</i>	0.10825[0.0584768-0.178227]	0.0702847[0.0473335-0.0993485]
Rhamnaceae	<i>RHAMNUS</i>	0.153679[0.0936224-0.233636]	0.105959[0.0771412-0.140862]
	<i>CEANOTHUS</i>	0.153877[0.0885017-0.246041]	0.0716962[0.0460719-0.105329]
Cannabaceae	<i>CELTIS</i>	0.382538[0.273163-0.520041]	0.12524[0.0915351-0.166398]
	<i>HUMULUS</i>	0.182407[0.118498-0.266186]	0.0675658[0.0459055-0.0951271]
Moraceae	<i>FICUS</i>	0.117397[0.0679194-0.18618]	0.0743586[0.0514927-0.103109]
Cucurbitales			
Anisophylleaceae	<i>ANISOPHYLLEA</i>	0.047293[0.0166506-0.100812]	0.0412969[0.0236065-0.0661896]
	<i>POGA</i>	0.0502458[0.0182628-0.104682]	0.0157079[0.00573502-0.0328843]
	<i>COMBRETOCARPUS</i>	0.122961[0.0655753-0.205354]	0.0569394[0.0352558-0.0861098]
Cucurbitaceae	<i>COCCINIA</i>	0[0-0.015197]	0.00820399[0.00204062-0.0212998]
	<i>CUCUMIS</i>	0.0636577[0.0291936-0.1181]	0.0385351[0.0218148-0.0620497]
	<i>LAGENARIA</i>	0.0315161[0.00975746-0.0735757]	0.0136023[0.00487273-0.0292815]
	<i>DENDROSICYOS</i>	0.0298035[0.00825368-0.0719275]	0.00542754[0.000860374-0.0168808]
	<i>SEYRIGIA</i>	0.0237553[0.00579434-0.0620941]	0.0207678[0.00908036-0.0395301]
	<i>ECBALLIUM</i>	0.0809166[0.0397234-0.143881]	0.0204827[0.00883877-0.0394202]
	<i>SCHIZOPEPON</i>	0.120361[0.06747-0.195839]	0.0325527[0.0171086-0.0551942]
	<i>MARAH</i>	0.0424432[0.0152227-0.0910891]	0.0654062[0.0421868-

			0.0959568] 0.0435232[0.0247228- 0.0698242] 0.0617374[0.0387491- 0.0922062] 0.0276616[0.0137218- 0.0487955] 0.0382359[0.0213438- 0.0622882] 0.0804267[0.0541868-0.114125] 0.00822654[0.00202593- 0.0213924] 0.00264038[5.4298e-05- 0.0119822] 0.112219[0.0822792-0.148433] 0.052563[0.0320512-0.0803702]
Tetramelaceae	<i>GYNOSTEMMA</i>	0.053324[0.0209792-0.10802]	
	<i>NEOALSOMITRA</i>	0.0732113[0.0336943-0.13522]	
	<i>OCTOMELES</i>	0.057896[0.02453-0.113103]	
Datisaceae	<i>TETRAMELES</i>	0.0490514[0.0190958-0.100574]	
	<i>DATISCA</i>	0.0904885[0.0460163-0.157211]	
Begoniaceae	<i>BEGONIA</i>	0.0241969[0.00600802-0.0630291]	
Coriariaceae	<i>HILLEBRANDIA</i>	0[0-0.015539]	
	<i>CORARIA</i>	0.125982[0.0741629-0.197404]	
Corynocarpaceae	<i>CORYNOCARPUS</i>	0.0565711[0.0235624-0.111134]	
Fagales			
Fagaceae	<i>CASTANEA</i>	0.0076663[0.000434413-0.0338658]	0.00789313[0.0019614- 0.0205036] 0.0025976[0.000140728- 0.0114742] 0[0-0.011142] 0.0148667[0.00633653- 0.0288602] 0.0374669[0.0165879- 0.0707196] 0.0551224[0.0296738- 0.0920081] 0.0110245[0.000706079- 0.0393294] 0.0333408[0.0180944- 0.0553052] 0.0128257[0.00431298- 0.0280367] 0.0286163[0.0109816- 0.0588567] 0.0490269[0.0298733- 0.0749934] 0.0859668[0.0573599-0.122523] 0.0274632[0.0138752- 0.0477872] 0.0193167[0.00830251- 0.0372618] 0.0102426[0.00312389- 0.0239316]
	<i>CASTANOPSIS</i>	0[0-0.014588]	
	<i>CHRYSOLEPIS</i>	0[0-0.0259755]	
	<i>TRIGONOBALANUS</i>	0.0502187[0.0226008-0.0942304]	
	<i>FAGUS</i>	0.0756554[0.0264085-0.162573]	
Myriaceae	<i>COMPTONIA</i>	0.136461[0.0702467-0.236519]	
Juglandaceae	<i>CARYA</i>	0.0500121[0.00645617-0.137211]	
	<i>PLATYCARYA</i>	0.0694624[0.0305217-0.128417]	
	<i>CYCLOCARYA</i>	0.0104084[0.000601023-0.0422766]	
Rhoipteleaceae	<i>RHOIPTELEA</i>	0[0-0.0271244]	
Ticodendraceae	<i>TICODENDRON</i>	0.0387454[0.0137979-0.083684]	
Casuarinaceae	<i>CASUARINA</i>	0.243946[0.160858-0.352784]	
Betulaceae	<i>ALNUS</i>	0.029893[0.00885227-0.0705534]	
	<i>OSTRYA</i>	0.0227751[0.0053209-0.060025]	
	<i>OSTRYOPSIS</i>	0.0381298[0.0123739-0.0846473]	
GRUPOS EXTERNOS	<i>VITIS</i>	0.259864[0.18113-0.359669]	0.0887382[0.0628725-0.120885]
	<i>ALTINGIA</i>	0.175855[0.11136-0.259515]	0.064364[0.0409386-0.0942158]
	<i>CRASSULA</i>	0.780012[0.579543-1.02979]	0.425092[0.348247-0.513546]
	<i>PHYTOLACCA</i>	0.614698[0.476785-0.781198]	0.153418[0.118106-0.195346] 0.0613393[0.0404389- 0.0882041] 0.110517[0.0815895-0.145633] 0.135116[0.103072-0.173265] 0.0961549[0.0695814-0.128776] 0.124586[0.0938906-0.16132] 0.20384[0.15945-0.256161] 0.0903302[0.0643919-0.122333] 0.256354[0.208984-0.310557] 0.268784[0.211599-0.335669] 0.208298[0.164156-0.259335]
	<i>HYDRANGEA</i>	0.174958[0.112121-0.2578]	
	<i>GARRYA</i>	0.214467[0.142789-0.306953]	
	<i>GUNNERA</i>	0.279867[0.198373-0.382339]	
	<i>BUXUS</i>	0.217683[0.146544-0.308971]	
	<i>TROCHODENDRON</i>	0.202792[0.133567-0.291851]	
	<i>XANTHORHIZA</i>	0.507492[0.375078-0.671954]	
	<i>PLATANUS</i>	0.231227[0.156305-0.326777]	
	<i>CERATOPHYLLUM</i>	0.609523[0.466229-0.782859]	
	<i>ACORUS</i>	0.490231[0.346159-0.672374]	
	<i>ILLICIAM</i>	0.343283[0.238181-0.473762]	

TASA DE SUSTITUCION DE *atpB*

ORDEN, FAMILIA	GENERO	TASA SINONIMA	TASA NO-SINONIMA
CROSSOSOMATALES			
Staphyleaceae	<i>EUSCAPHIS</i>	0.0613674[0.0258319-0.119478]	0.00773172[0.00192158-0.0200752]
Stachyuraceae	<i>STACHYURUS</i>	0.0500465[0.0190694-0.102586]	0.0148995[0.0059167-0.0302385]
HUERTEALES			
Gerrardinaceae	<i>PERROTETIA</i>	0.145079[0.0860277-0.227114]	0.012776[0.00457714-0.0275006]
BRASSICALES			
Akaniaceae	<i>BRETSCHNEIDERA</i>	0.03968[0.0122725-0.0926753]	0.0126055[0.00390996-0.029331]
Moringaceae	<i>MORINGA</i>	0.0953497[0.0496633-0.162659]	0.00504247[0.000838335-0.015586]
Caricaceae	<i>CARICA</i>	0.146791[0.0868043-0.230266]	0.0106219[0.00329513-0.0247107]
Koeberliniaceae	<i>KOEBERLINIA</i>	0.401663[0.289879-0.540855]	0.00777062[0.0019317-0.0201602]
Capparaceae	<i>CAPPARIS</i>	0.158904[0.0916985-0.251771]	0.00786136[0.00185119-0.0206368]
Brassicaceae	<i>DRABA</i>	0.0947324[0.0502488-0.160253]	0.00246891[0.000140878-0.0108794]
	<i>ARABIS</i>	0.0535347[0.0222367-0.105204]	0[0-0.00474832]
	<i>LOBULARIA</i>	0.0710154[0.0337561-0.12908]	0.019845[0.00905955-0.037004]
	<i>LEPIDIUM</i>	0.101368[0.0555131-0.167959]	0.0173823[0.00746111-0.0336753]
	<i>ARABIDOPSIS</i>	0.0793323[0.0392952-0.140408]	0.00742238[0.00184467-0.0192709]
	<i>CAPSELLA</i>	0.0555191[0.0234187-0.10849]	0.00494283[0.000821891-0.0152792]
	<i>NASTURTIUM</i>	0.0470893[0.0185515-0.0960529]	0.00246991[0.000140975-0.010887]
	<i>BARBAREA</i>	0.0553158[0.0235803-0.107681]	0[0-0.00474677]
	<i>AETHIONEMA</i>	0.105615[0.0560892-0.176981]	0.00258205[0.000104054-0.0115007]
Bataceae	<i>BATIS</i>	0.537359[0.404269-0.699996]	0.0409083[0.0239058-0.0645685]
MALVALES			
Cistaceae	<i>TUBERARIA</i>	0.754811[0.536484-1.03476]	0.100958[0.0634693-0.151252]
Malvaceae	<i>PACHIRA</i>	0[0-0.014927]	0[0-0.00595668]
	<i>OCHROMA</i>	0.0247914[0.00615781-0.0645257]	0.0026434[0.000150876-0.0116517]
	<i>DURIO</i>	0.016808[0.00272505-0.0518968]	0.0202318[0.00923499-0.037726]
	<i>BERRYA</i>	0.0295309[0.00635913-0.076861]	0.00530378[0.000881816-0.0163959]
SAPINDALES			
Rutaceae	<i>RUTA</i>	0.176377[0.109187-0.267112]	0.00795134[0.00197604-0.0206445]
	<i>PONCIRUS</i>	0.153599[0.0925535-0.236836]	0.0164989[0.00658106-0.0329193]
	<i>ZANTHOXYLUM</i>	0.0581372[0.0247728-0.112692]	0.00503308[0.000836801-0.0155567]
	<i>CASIMIROA</i>	0.115967[0.0650123-0.188463]	0.0207158[0.00946425-0.0385845]
Simaroubaceae	<i>SIMAROUBA</i>	0.0393104[0.0139932-0.0849639]	0.00758188[0.00188224-0.0196889]
	<i>SIMABA</i>	0.015483[0.00213237-0.0488898]	0.00384092[0.000234079-0.0148043]
	<i>SOULAMEA</i>	0.0638501[0.0284644-0.120459]	0[0-0.00491243]
Meliaceae	<i>TRICHILIA</i>	0.0814137[0.0403739-0.143939]	0.00844501[0.00213335-0.0214763]
	<i>MELIA</i>	0.13682[0.0811507-0.214146]	0.0121469[0.00367579-0.0272479]
	<i>SWIETENIA</i>	0.104472[0.0571272-0.173203]	0.0109916[0.00344777-0.025225]
Sapindaceae	<i>XANTHOCERAS</i>	0.163193[0.100683-0.247754]	0.00995118[0.00307973-0.023163]
	<i>CUPANIOPSIS</i>	0.107748[0.0576967-0.180515]	0.00264537[0.000150981-0.0116599]
	<i>KOELREUTERIA</i>	0.137369[0.0802114-0.216582]	0.0175467[0.00753154-0.0339926]
	<i>AESCULUS</i>	0.152237[0.0906809-0.237111]	0.0132622[0.00475116-0.0285492]
GERANIALES			
Geraniaceae	<i>PELARGONIUM</i>	0.512762[0.384077-0.670225]	0.0708833[0.0476556-0.100772]
Melanthaceae	<i>GREYIA</i>	0.146982[0.0826265-0.236268]	0.00783416[0.00194753-0.020332]
MYRATALES			
Onagraceae	<i>FUCHSIA</i>	0.328609[0.227332-0.457567]	0.0207981[0.00923175-0.039272]

Myrtaceae	<i>HETEROPYXIS</i>	0.108223[0.0531913-0.189861]	0.00545348[0.000882214-0.0169191]
ZYGOPHYLALLES Zygophyllaceae	<i>LARREA</i>	0.904514[0.714288-1.13341]	0.0546012[0.0343821-0.0816168]
CELASTRALES Lepidobotryaceae	<i>LEPIDOBOTRYS</i>	0[0-0.0241061]	0.00252151[0.00014352-0.0111111]
Parnassiaceae	<i>RUPTILIOCARPON</i> <i>PARNASSIA</i>	0.0238806[0.00593548-0.0620748] 0.108304[0.0554326-0.184939]	0.00246724[0.00013932-0.0108762] 0.0102375[0.00316835-0.0238324] 0.00342479[0.000179375-0.0141423]
Celastraceae	<i>LEPUROPETALON</i> <i>MORTONIA</i> <i>QUETZALIA</i> <i>STACKHOUSIA</i> <i>TRIPTEROCOCCUS</i> <i>DENHAMIA</i> <i>ELAEODENDRON</i> <i>MAYTENUS</i> <i>CANOTIA</i> <i>EUONYMUS</i>	0.160482[0.0954591-0.248936] 0.317944[0.221604-0.440094] 0.156933[0.0950843-0.241206] 0.0851751[0.0394251-0.153843] 0.102862[0.0526538-0.1765] 0.111223[0.0595017-0.185556] 0.0616089[0.0280508-0.115284] 0.00782666[0.0002465-0.0351671] 0.197022[0.128149-0.287858] 0.0609531[0.025708-0.117245]	0.0141423] 0.0199297[0.00909713-0.037167] 0.0125946[0.00450836-0.027119] 0.00746676[0.00184311-0.0194119] 0.0049418[0.000791255-0.015351] 0.00499693[0.000817964-0.0154797] 0.00248128[0.000141601-0.010935] 0.00288125[0.000133009-0.0124421] 0.0202123[0.00920148-0.0377202] 0.0349654[0.0191152-0.0575571]
MALPHIGIALES Caryocaraceae Clusiaceae	<i>CARYOCAR</i> <i>CLUSIA</i> <i>GARCINIA</i>	0.297168[0.193924-0.433001] 0.0926346[0.0437142-0.165665] 0.021802[0.00314915-0.0619307]	0.0318942[0.0159597-0.0560808] 0.0123691[0.00436071-0.0267566] 0.0024793[0.000132121-0.01096] 0.00497098[0.000821729-0.0153785]
Hypericaceae Podostemaceae Ctenolophonaceae Balanopaceae Trigoniaceae Chrysobalanaceae	<i>MONTROUZIERA</i> <i>HYPERICUM</i> <i>PODOSTEMUM</i> <i>CTENOLOPHON</i> <i>BALANOPS</i> <i>TRIGONIA</i> <i>ATUNA</i> <i>PARINARI</i>	0.0599876[0.0254445-0.11674] 0.313647[0.14288-0.546484] 1.0508[0.74759-1.44283] 0.21649[0.141542-0.314918] 0.0472189[0.0172447-0.0988863] 0.399647[0.289906-0.536047] 0.0392758[0.0140174-0.0848522] 0.0234201[0.00578386-0.0610214]	0.0650651[0.0360007-0.10616] 0.0357218[0.015327-0.067859] 0.012567[0.00450237-0.0270512] 0.00748732[0.00186097-0.0194388] 0.0124745[0.00446935-0.0268532] 0.00996841[0.00309268-0.0231887] 0[0-0.00474527] 0.00494702[0.000822561-0.0152909]
Euphroniaceae Acariaceae Violaceae	<i>LICANIA</i> <i>EUPHRONIA</i> <i>KIGGELARIA</i> <i>CAMPTOSTYLUS</i> <i>RINOREA</i>	0[0-0.0182583] 0.320001[0.222473-0.443709] 0.151512[0.0906132-0.235528] 0.136882[0.0795821-0.216745] 0.100519[0.0500078-0.175271]	0.07594[0.0517803-0.106785] 0.00750991[0.00185913-0.0195138] 0.011566[0.00378064-0.0257861] 0[0-0.00488262] 0.00555531[0.000923734-0.0171753]
Goupiaceae Salicaceae	<i>LEONIA</i> <i>GOUPIA</i> <i>SALIX</i>	0.12411[0.0662479-0.208309] 0.155336[0.0949379-0.237974] 0.0396633[0.0123241-0.0891772]	0.0171753] 0.00493806[0.000821048-0.015263] 0.0224587[0.0107796-0.0405595] 0.00493849[0.000821121-0.0152641]
Lacistemataceae Turneraceae Passifloraceae	<i>DOVYALIS</i> <i>CASEARIA</i> <i>LUNANIA</i> <i>LACISTEMA</i> <i>PIRIQUETA</i> <i>PASSIFLORA</i> <i>PAROPSIA</i>	0.0718831[0.0329762-0.132478] 0.120048[0.067318-0.194884] 0.0353137[0.0093587-0.0841785] 0.204842[0.131887-0.301643] 0.344121[0.242214-0.472829] 0.176661[0.108796-0.268099] 0.0233729[0-0.0741112]	0.00742205[0.00184456-0.0192675] 0[0-0.00474586] 0.0126976[0.00454934-0.0273326] 0.0859988[0.0596305-0.119285] 0.0330216[0.0181162-0.0545052] 0.0126657[0.00434724-0.0276174] 0.00404854[0.00031018-0.0144117] 0.00591175[0.00102074-0.01745]
Ochnaceae	<i>CESPEDESIA</i> <i>SAUVAGESIA</i> <i>OCHNA</i> <i>GOMPHIA</i>	0.0730796[0.0332493-0.135003] 0.348507[0.248873-0.473692] 0.0308679[0.00950165-0.0721168] 0.0151842[0.00233081-0.0475135]	0[0-0.00474849] 0[0-0.0047454]
Quiinaceae Ixonanthaceae Phyllanthaceae	<i>QUIINA</i> <i>IXONANTHES</i> <i>PHYLLANTHUS</i> <i>BREYNIA</i>	0.0720007[0.0335832-0.131915] 0.457136[0.341172-0.599428] 0.0478804[0.018838-0.0977299] 0.0402232[0.0143034-0.0869841]	0.00748064[0.00185345-0.019436] 0.0198783[0.00907298-0.0370738] 0.0024729[0.000140804-0.0109005] 0.00247313[0.000140566-0.0108994]

	<i>FLUEGGEA</i>	0.0400941[0.0143006-0.086637] 0.00784427[0.000265342- 0.0352902]	0.00502225[0.000835022- 0.0155239]
	<i>SAVIA</i>		0.00757797[0.00188525-0.0196762]
	<i>CLEISTANTHUS</i>	0.218333[0.141047-0.32023]	0.0279516[0.0144941-0.0479676] 0.00501808[0.000834328- 0.0155102]
	<i>HEYWOODIA</i>	0.187032[0.116587-0.281714]	0.00494152[0.000821734- 0.0152758]
Picodendraceae	<i>BISCHOFIA</i>	0.233846[0.15529-0.336062]	0.0157443[0.00597337-0.0321491]
	<i>ANDROSTACHYS</i>	0.047029[0.0178057-0.0971773]	0.0241825[0.011662-0.0433255]
	<i>PICRODENDRON</i>	0.0741645[0.0351764-0.134451]	0.0283896[0.0142596-0.0493502]
	<i>PETALOSTIGMA</i>	0.15879[0.0960797-0.244513]	0.0213537[0.00957227-0.0398529]
	<i>PODOCALYX</i>	0.0797234[0.0378087-0.143956]	0.00360288[0.000182513- 0.0142776]
Linaceae	<i>LINUM</i>	0.157573[0.0917868-0.248414]	0.0291892[0.0137792-0.0515695]
	<i>SCLEROLINON</i>	0.086032[0.037816-0.158629]	0.00989234[0.00306894-0.0230117]
Pandaceae	<i>GALEARIA</i>	0.20321[0.131517-0.297615]	0.0174634[0.00748998-0.0338579]
Exythroxyloaceae	<i>ERYTHROXYLUM</i>	0.25515[0.171156-0.363848]	0.019974[0.00911421-0.0372501]
Rhizophoraceae	<i>CARALLIA</i>	0.182531[0.112447-0.276862]	0[0-0.00481763]
Euphorbiaceae	<i>RICINUS</i>	0.0079221[0.00045187-0.0349733]	0[0-0.00626205]
	<i>RICINUS_COMMUNIS</i>	0[0-0.0156339]	0.0173417[0.00744397-0.0335911]
	<i>MACARANGA</i>	0.145537[0.0870106-0.226296]	0.00494409[0.000822148- 0.0152837]
	<i>DALECHAMPIA</i>	0.109962[0.0601106-0.182161]	0.00494277[0.000821925- 0.0152799]
	<i>LEUCOCROTON</i>	0.0702441[0.0321788-0.130015]	0.00992974[0.00308039-0.0230993]
	<i>ACALYPHA</i>	0.17435[0.108705-0.262827]	0.00248556[0.000141817-0.010952]
	<i>MANIHOT</i>	0.0962651[0.0513132-0.162529]	0.0049444[0.000822202-0.0152846]
	<i>ENDOSPERMUM</i>	0.212791[0.140109-0.308296]	0.0124383[0.00445434-0.0267763]
	<i>EUPHORBIA</i>	0.142633[0.0842822-0.223816]	0.00244573[0.000109464- 0.0108901]
	<i>SYNADENIUM</i>	0.0637679[0.0276272-0.121634]	0.00248405[0.000141727- 0.0109452]
	<i>EXCOECARIA</i>	0.104861[0.0570961-0.174279]	0.00246724[0.00014082-0.0108745]
	<i>HURA</i>	0.0558804[0.0234566-0.109424]	0.00247016[0.000140965- 0.0108859]
	<i>HOMALANTHUS</i>	0.102765[0.0560005-0.170702]	0.00741453[0.00184453-0.0192514]
	<i>ACTINOSTEMON</i>	0.0882681[0.0454054-0.152501]	0.00250971[0.000143224- 0.0110604]
	<i>PIMELODENDRON</i>	0.0823742[0.0408929-0.145713]	0.00993992[0.00308364-0.0231242]
	<i>CROTON</i>	0.308051[0.21606-0.424749]	0.00247189[0.000140356- 0.0108982]
	<i>CODIAEUM</i>	0.0956161[0.0509548-0.161423]	0.00247016[0.000140063- 0.0108887]
	<i>OSTODES</i>	0.00716871[0-0.0345439]	0[0-0.00474429]
	<i>SUREGADA</i>	0.153804[0.0940322-0.235606]	0.0103302[0.00321378-0.0239369]
	<i>NEOSCORTECHINIA</i>	0.050189[0.0194544-0.101996]	0[0-0.00758552]
	<i>CLUTIA</i>	0.131549[0.0762544-0.209141]	0.00754697[0.00187558-0.0195963]
	<i>PERA</i>	0.0885781[0.0443033-0.155013]	0.0148452[0.00589523-0.0301292]
Irvingiariaceae	<i>IRVINGIA</i>	0.481899[0.360171-0.631497]	
Malpighiaceae	<i>STIGMAPHYLLON</i>	0.0322825[0.0100043-0.0753056]	0.00747889[0.00185869-0.0194162] 0.00251273[0.000143386- 0.0110735]
	<i>DICELLA</i>	0.0408646[0.0146175-0.0882289]	0.00247742[0.000141376- 0.0109176]
	<i>MASCAGNIA</i>	0.0244437[0.00602738-0.0636809]	0[0-0.00473661]
	<i>HIRAEA</i>	0.0398991[0.0141277-0.0863939]	0.00498116[0.000828293- 0.0153976]
	<i>BUNCHOSIA</i>	0.0330931[0.010069-0.0775389]	0.00990054[0.00307338-0.0230295]
	<i>GALPHIMIA</i>	0.146104[0.0865247-0.228491]	0.0074474[0.00185263-0.0193358]
	<i>BYRSONIMA</i>	0.106741[0.056854-0.179595]	0.0299626[0.0160219-0.0503553]
Elatinaceae	<i>ELATINE</i>	0.255669[0.171692-0.364336]	
Humiriaceae	<i>HUMIRIA</i>	0.0555261[0.0234098-0.108544]	0[0-0.00488203]
	<i>SACOGLOTTIS</i>	0.00806154[0-0.0375948]	0.00411075[0.000267049-0.015297]

Putranjivaceae	<i>DRYPETES</i>	0.198368[0.124461-0.297011]	0.0346445[0.0191733-0.0567211]
Lophopyxidaceae	<i>LOPHOPYXIS</i>	0.200226[0.124129-0.302266]	0.057821[0.0366786-0.0858444]
Oxalidales			
Oxalidaceae	<i>AVERRHOA</i> <i>OXALIS</i>	0.1154[0.06222-0.191581] 0.181819[0.113375-0.273787]	0.00990101[0.00306999-0.0230387] 0.0273628[0.0141928-0.0469607]
Cunoniaceae	<i>DAVIDSONIA</i>	0.134929[0.0762724-0.217712]	0.0105312[0.00326895-0.0244978]
Elaeocarpaceae	<i>ELAEOCARPUS</i>	0.0931824[0.0470282-0.162061]	0[0-0.00695055]
Fabales			
Fabaceae	<i>CERCIS</i> <i>ALBIZIA</i> <i>GLYCINE</i> <i>MEDICAGO</i>	0.129143[0.0675848-0.218106] 0.148444[0.0789263-0.248978] 0.430595[0.307056-0.585153] 0.428291[0.306826-0.579698]	0.00556542[0.000924224-0.0172081] 0.0127114[0.00393931-0.0295849] 0.0169514[0.00690608-0.0336246] 0.0397755[0.0228621-0.0633663]
Rosales			
Rosaceae	<i>KERRIA</i> <i>PRUNUS</i>	0.0709075[0.031467-0.132862] 0.0806936[0.0384286-0.14535]	0.00744061[0.0018339-0.0193525] 0.02038[0.00929073-0.038023]
Rhamnaceae	<i>RHAMNUS</i> <i>CEANOTHUS</i>	0.217413[0.141011-0.317864] 0.147058[0.084867-0.233924]	0.0165613[0.00676132-0.0328061] 0.0150981[0.00562985-0.0314286]
Cannabaceae	<i>CELTIS</i> <i>HUMULUS</i>	0.303931[0.205811-0.430342] 0.228017[0.14532-0.336064]	0.0105892[0.00327408-0.0246564] 0.0139528[0.00454691-0.0299983]
Moraceae	<i>FICUS</i>	0.20608[0.120811-0.324017]	0[0-0.0102903]
Cucurbitales			
Anisophylleaceae	<i>ANISOPHYLLEA</i> <i>POGA</i> <i>COMBRETOCARPUS</i>	0.0821309[0.0380881-0.149005] 0.0519699[0.0180993-0.110177] 0.209905[0.13318-0.31207]	0[0-0.00956671] 0.0228074[0.0109469-0.0411907] 0.0539808[0.0339883-0.0806937] 0.00252734[0.000139283-0.0111521]
Cucurbitaceae	<i>COCCINIA</i> <i>CUCUMIS</i> <i>LAGENARIA</i> <i>DENDROSICYOS</i> <i>SEYRIGIA</i> <i>ECBALLIUM</i> <i>SCHIZOPEPON</i> <i>MARAH</i>	0[0-0.0157189] 0.0944731[0.0497367-0.160435] 0.0236239[0.00581147-0.0615965] 0.00776803[0.000419845-0.034377] 0.0115248[0.000737108-0.0440547] 0.0730719[0.0349836-0.132476] 0.0710998[0.0334494-0.129929] 0.0797181[0.0396896-0.140812]	0.0128024[0.00435886-0.0278348] 0.00495705[0.000824275-0.0153238] 0[0-0.00477915] 0.0140445[0.00515874-0.0295295] 0.01014[0.00313196-0.0236192] 0.0139562[0.00480473-0.0298919] 0[0-0.00478503] 0.00371131[0.000246763-0.0138887]
Tetramelaceae	<i>OCTOMELES</i> <i>TETRAMELES</i>	0.0812869[0.040032-0.144278] 0.0597399[0.0252397-0.11648]	0.00752121[0.00186906-0.0195314] 0.00246971[0.000128423-0.0109343] 0.00504711[0.000835902-0.0156079]
Datisceae	<i>DATISCA</i>	0.0722277[0.0340858-0.131805]	0.0154873
Begoniaceae	<i>BEGONIA</i> <i>HILLEBRANDIA</i>	0.154696[0.0925541-0.240444] 0.104019[0.054789-0.176549]	0.00746915[0.00185823-0.0193925] 0.00764657[0.00190218-0.0198539]
Coriariaceae	<i>CORIARIA</i>	0.151019[0.0908914-0.233894]	0.0201222[0.00918399-0.0375295] 0.00485018[0.000706758-0.0152564]
Corynocarpaceae	<i>CORYNOCARPUS</i>	0.0731971[0.0339348-0.134493]	0.0152564
Fagales			
Fagaceae	<i>CASTANEA</i> <i>CASTANOPSIS</i> <i>CHRYSOLEPIS</i> <i>TRIGONOBALANUS</i> <i>FAGUS</i>	0.0170427[0.00280151-0.0528796] 0.0169757[0.00276397-0.0527405] 0.0170703[0.00282097-0.0528609] 0.0330469[0.0098469-0.0777676] 0.104835[0.0549043-0.178074]	0[0-0.00508205] 0[0-0.00508205] 0.0077327[0.00192195-0.0200772] 0.00501332[0.000825005-0.015518] 0.0174133[0.0074743-0.033733] 0.00268412[0.000153171-0.0118308]
Myriaceae	<i>COMPTONIA</i>	0.108496[0.0578139-0.18335]	0[0-0.00612388]
Juglandaceae	<i>CARYA</i> <i>PLATYCARYA</i>	0.0257545[0.00638228-0.067082] 0.00846741[0.000410397-0.0376521]	0.00529752[0.000880751-0.0163742]

Rhoipteleaceae Ticodendraceae Casuarinaceae	<i>CYCLOCARYA</i>	0[0-0.0166372]	0.0079489[0.00197733-0.0206375] 0.00514325[0.000854291- 0.0159021]
	<i>RHOIPTOLEA</i>	0.036506[0.0111492-0.0846553]	0.00683944[0.00131219-0.0190488]
	<i>TICODENDRON</i>	0.121209[0.0671552-0.198771]	0.0079683[0.00198223-0.0206896]
	<i>CASUARINA</i>	0.189263[0.118461-0.284958] 0.0100473[0.000355196- 0.0432519]	0[0-0.00724706]
Betulaceae	<i>ALNUS</i>	0.0694356[0.0315716-0.130091]	0.0267109[0.013366-0.0469456]
	<i>OSTRYA</i>	0.00825432[9.82825e-05- 0.0378053]	0[0-0.00789532]
	<i>OSTRYOPSIS</i>		
GRUPOS EXTERNOS	<i>VITIS</i>	0.144359[0.0867536-0.223727]	0.00741956[0.00184397-0.0192606]
	<i>ALTINGIA</i>	0.0713569[0.0268917-0.139042]	0.00061995[0-0.00907829]
	<i>CRASSULA</i>	0.758103[0.591247-0.959502]	0.0523468[0.0329513-0.0782596]
	<i>PHYTOLACCA</i>	0.622437[0.477826-0.797333]	0.0222646[0.0105235-0.040493]
	<i>HYDRANGEA</i>	0.176585[0.105839-0.272385]	0.0129858[0.00464862-0.0279106]
	<i>GARRYA</i>	0.243238[0.15998-0.351692]	0.0232477[0.010827-0.0421486]
	<i>GUNNERA</i>	0.212162[0.138233-0.309289]	0.0173154[0.00742909-0.0335535] 0.00492524[0.000819008- 0.0152258]
	<i>BUXUS</i>	0.192027[0.122844-0.284001]	0.00493981[0.000821392- 0.0152695]
	<i>TROCHODENDRON</i>	0.0866626[0.0428452-0.152449]	0.0177645[0.00762538-0.0344157]
	<i>XANTHORHIZA</i>	0.430842[0.3156-0.573188]	
	<i>PLATANUS</i>	0.207213[0.132524-0.305951]	0[0-0.00485888]
	<i>CERATOPHYLLUM</i>	0.425446[0.308603-0.570038]	0.0216719[0.0101076-0.0396494]
	<i>ACORUS</i>	0.549861[0.411014-0.719744]	0.047011[0.0282612-0.0726605]
	<i>ILLICIAM</i>	0.274078[0.181457-0.39277]	0.0325679[0.017848-0.0537626]