



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Instituto de Ecología

Estudio comparativo de las tasas de
diversificación de los subgéneros
neotropicales de *Acacia* (Leguminosae:
Mimosoideae) en México.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

DOCTORA EN CIENCIAS

P R E S E N T A

M. en C. Sandra Luz Gómez Acevedo

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Luis Enrique Eguiarte Fruns

COMITÉ TUTOR: Dr. Alfonso Octavio Delgado Salinas
Dr. Juan Servando Nuñez Farfán

MÉXICO, D.F.

Diciembre, 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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


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

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 04 de octubre de 2010, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de DOCTORA EN CIENCIAS de la alumna GÓMEZ ACEVEDO SANDRA LUZ con número de cuenta 91160630 con la tesis titulada: "ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS TASAS DE DIVERSIFICACIÓN DE LOS SUBGÉNEROS NEOTROPICALES DE ACACIA (LEGUMINOSAE: MIMOSOIDEAE) EN MÉXICO", realizada bajo la dirección del DR. LUIS ENRIQUE EGUIARTE FRUNS.

Presidente:	DR. ALFONSO OCTAVIO DELGADO SALINAS
Vocal:	DRA. MARÍA DE LOURDES RICO ARCE
Vocal:	DRA. SUSANA AURORA MAGALLÓN PUEBLA
Vocal:	DRA. ROSA GABRIELA CASTAÑO MENESES
Secretario:	DR. LUIS ENRIQUE EGUIARTE FRUNS
Suplente:	DR. JUAN NÚÑEZ FARFÁN
Suplente	DR. DANIEL IGNACIO PIÑERO DALMAU

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

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F. a 17 de noviembre de 2010.


Dr. Juan Núñez Farfán
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente de la interesada.

Agradecimientos

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, por el apoyo otorgado para la realización de este proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada (167194).

A mi director de tesis, Dr. Luis Eguiarte, por aceptarme en su laboratorio y dejarme ser.

A los miembros del comité tutor, Dr. Alfonso Delgado y Dr. Juan Núñez, por el tiempo y la paciencia que dedicaron todos estos años para que este trabajo tuviera un buen término.

Un agradecimiento muy especial a la Dra. Lourdes Rico, por todo el apoyo que siempre me ha brindado aún estando del otro lado del mundo, por su guianza en el intrincado mundo de las acacias...muchas gracias.

A la Dra. Gabriela Castaño, la Dra. Susana Magallón y el Dr. Alfonso Delgado por compartir conmigo sus conocimientos, por su disposición, por su paciencia y por dejarme invadir tantas veces sus lugares de trabajo (y correos)...muchas gracias.

A todos los miembros del jurado: Dra. Loures Rico, Dra. Susana Magallón, Dra. Gabriela Castaño, Dr. Alfonso Delgado, Dr. Daniel Piñero, Dr. Juan Núñez, Dr. Luis Eguiarte, por aceptar y participar con sus sugerencias y observaciones.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por haberme aceptado de nuevo en sus instalaciones, por la libertad y el privilegio de ser estudiante de esta maravillosa Universidad.

A Fernando, por que nada de esto habría pasado si no hubieras estado tú....muchas, infinitas, millones de gracias por estar siempre en todo momento, por todos los ánimos y el apoyo que siempre me has dado desde que comenzó esta historia, y aún más en la fase final.

A Nuria Flores y René Cerritos por enseñarme todo lo más posible acerca del laboratorio (a hacer extracciones, purificaciones, filtrados, secados, a secuenciar, etcétera) y del BioEdit...muchas muchas gracias...vaya si la sufrieron conmigo.

A quienes amablemente me enseñaron otras técnicas: René Cerritos y Julia Domínguez (clonación); Laura Márquez (extracción de ADN con el mínimo de tejido); Erika Aguirre y Laura Espinosa (purificación de bandas); Laura Espinosa (por su apoyo en el secuenciador).

A los expertos en computadoras y a quienes molesté infinidad de veces: Jaime Gasca, Enrique Scheinvar, Roberto Trejo...lo siento, sus enseñanzas no darán frutos conmigo, jamás tendré una buena relación con las máquinas.

A todos mis compañeros, quienes en algún momento hemos sido responsables de alguna actividad para que todo funcionara bien en el labo (cuarto de geles, bodega, pedidos, etcétera)... y por todo cuanto sucedió aquí: Ale R., Alex, Alicia, Ana E., Ana N., Andrea, Carito, Celex, Christine, Eria, Erika, Esme, Enrique, Jaime, Jonás, Jorge, Julia M., Karlita, Lau E., Lau T., Luna, Manuel, Marco, Miguel (Changoleón pa los cuates), Morena, Natalia, Nuria, Rafa, René, Ricardo, Roberto, Rodrigo, Santiago, Tobias, Toño, Valeria, Víctor y Doña Chivis.

A mis compañeros del laboratorio de microartrópodos, quienes me trataron siempre como parte de ellos: Alicia, Arturo , Daniela, Gabi, Miguel, Mónica, Polo.

A las cianochicas, por tanto relajo y comidas compartidas: Carlita, Gabi, Yis...a Julia, Luisa y las nuevas víctimas del cianocubo: Pati y Yetza...(van por el mal camino bacteriano, allá ustedes).

A quienes conocí y me ayudaron a seguir aquí: Alexander, Álvaro, Beti, Claudia, Donato, Edgar, Heidi, Liz, Luci, Medardo, Paola, Pati, Ulises, Verito, y los que no supe su nombre...muchas gracias por sus caras, por sus manos, por sus voces, por sus cuidados y por todos los ánimos que me dieron.

A LA VIDA

Dedicatoria

A todas las acacias y hormigas que cayeron en mis manos y que tuve que lastimar...mil perdones.

A Fernando, porque en todos mis pasos has estado tú, siempre al pendiente, siempre juntos y de la mano...gracias por acompañarme todo este camino, por seguirme mirando, por el amor que de ti he recibido...a tí te debo más que la vida y te agradezco infinitamente todas las veces que al abrir los ojos estabas ahí, junto a mí, por todo cuanto has significado en mi vida...te amo.

A la vida...que me apretó fuerte la mano.

Índice

Tema	Página
1 Resumen / Abstract	8
2 Introducción	11
3 Justificación, hipótesis y objetivos	26
4 Materiales y métodos	29
4.1 Mimosoideas	30
4.2 Hormigas	32
4.3 Análisis filogenéticos	34
4.4 Tiempos de divergencia	34
4.5 Tasas de diversificación	35
5 Resultados	37
5.1 Hormigas asociadas a acacias mirmecófilas neotropicales	38
5.2 Regiones nucleares de mimosoideas	41
5.3 Regiones de cloroplasto de mimosoideas	54
5.4 Regiones nucleares de hormigas	64
5.5 Comparación de las filogenias del sistema mutualista <i>Acacia-Pseudomyrmex</i>	71
6 Discusión	72
6.1 Hormigas asociadas a acacias mirmecófilas neotropicales	73
6.2 Comparación entre las filogenias y edades de divergencia obtenidas para mimosoideas	76
6.3 Filogenia y tiempos de divergencia en el género <i>Acacia</i>	80
6.4 Filogenia y tiempos de divergencia en el género <i>Pseudomyrmex</i>	90
6.5 Geología de México y Australia en el Mioceno	93
6.6 Mutualismo neotropical	97
6.7 Mutualismo paleotropical	99
6.8 Tasas de diversificación	100
6.9 Mosaico geográfico <i>Acacia-Pseudomyrmex</i>	103
7 Conclusiones	107
8 Literatura citada	110
9 Anexo	128

1. Resumen / Abstract

1.1 Resumen

El género *Acacia* se encuentra actualmente bajo escrutinio, sugiriéndose la presencia de cinco linajes evolutivos. Dentro de este género destaca un pequeño grupo constituido por quince especies mirmecófilas neotropicales, que mantienen una fuerte asociación mutualista con hormigas del grupo *Pseudomyrmex ferrugineus* y hasta ahora, no ha habido un análisis molecular de este sistema (*Pseudomyrmex-Acacia*) en términos de origen y edad. La intención del presente trabajo es contribuir al entendimiento de las relaciones filogenéticas, de los tiempos de origen y de las tasas de diversificación entre las especies de los géneros *Acacia* y *Pseudomyrmex*. Se realizaron análisis filogenéticos utilizando las regiones nucleares *ITS* (64 taxa) y *PEPC* (35 taxa); y tres regiones de cloroplasto (*matK*, *psaB-rps14* y *trnL-trnF*) en un grupo de 70 mimosoideas; así como dos regiones nucleares (*long-wavelength rhodopsine* y *wingless*) en un total de 43 taxa de hormigas de la subfamilia Pseudomyrmecinae. En la filogenia obtenida con *ITS* sólo los grupos *Acacia farnesiana* y *Acacia macracantha* del subgénero *Acacia* así como el subgénero *Phyllodineae* resultan monofiléticos. El género *Acaciella* representa el único grupo monofilético en la filogenia con *PEPC*. El subgénero *Acacia* así como cinco grupos informales analizados dentro de él, se recuperan como monofiléticos en el análisis de cloroplasto. Las acacias mirmecófilas neotropicales son monofiléticas sólo en la filogenia con cloroplasto, aunque en todos los casos se demuestra su cercanía filogenética con el grupo *Acacia macracantha*. Los tiempos de divergencia estimados para los grupos involucrados en el mutualismo son 5.44 ± 1.93 Ma para las acacias mirmecófilas y 4.58 ± 0.82 Ma para sus hormigas asociadas, implicando que esta relación se originó en Mesoamérica en el Plioceno Medio, con una eventual diversificación de ambos grupos en México. Las tasas de diversificación en el subgénero *Acacia*, aumentan conforme la distribución de las especies se aproximan al ecuador, siendo los grupos *Acacia acuífera* y mirmecófilo, los que presentan un mayor valor en este parámetro. En contraparte, el grupo *Pseudomyrmex ferrugineus* presenta una tasa de diversificación intermedia, lo cual podría estar indicando que el mutualismo obligatorio ha tenido un mayor costo para estas hormigas, quienes han tenido que desarrollar modificaciones fisiológicas.

1.2 Abstract

The genus *Acacia* is actually under scrutiny and the presence of five evolutionary lineages has been suggested. Within this genus, there is a small group that highlights which includes fifteen neotropical myrmecophilous species that maintain a strong association with mutualistic ants of the group *Pseudomyrmex ferrugineus*. To date, are no known molecular analyses of this system (*Pseudomyrmex-Acacia*) in the context of either origin and its age. The objective of this study is to contribute towards an understanding of the phylogenetic relations, the times of origin and the rates of diversification between the species of the genus *Acacia* and *Pseudomyrmex*. Phylogenetic analyses were performed using the *ITS* (64 taxa) and *PEPC* (35 taxa) nuclear regions; as well as the chloroplast regions (*matK*, *psaB-rps14* and *trnL-trnF*) in a group of 70 mimosidea. In addition, two nuclear regions (*long-wavelength rhodopsine* and *wingless*), were also analyzed in a total of 43 taxa of the ant subfamily Pseudomyrmecinae. *ITS* phylogeny suggests that *Acacia farnesiana* and the *Acacia macracantha* groups, both of the subgenus *Acacia*, and the subgenus *Phyllodineae* are monophyletic. The *Acaciella* genus represents the only monophyletic group in the *PEPC* phylogeny. According to chloroplast analyses, the *Acacia* subgenus, including the five informal groups analyzed within this subgenus appear to form monophyletic. The Neotropical myrmecophilous acacias, however, are only monophyletic within the chloroplast phylogeny, although in all cases the phylogenetic proximity with the *Acacia macracantha* group is demonstrated. The divergence time estimated for the groups involved with mutualism are $5,44 \pm 1.93$ Ma for the myrmecophilous acacias and $4,58 \pm 0,82$ Ma for their associated ants. This implies that this relationship originated in Mesoamerica during the mid Pliocene, with an eventual diversification of both groups in Mexico. The diversification rates of the *Acacia* subgenus increases with the approximation of the species to the equator, representing the *Acacia acuífera* and the myrmecophilous groups those that present the highest values of this parameter. On the other hand, the *Pseudomyrmex ferrugineus* group, present an intermediate diversification rate that may indicate that the obligate mutualism is a major cost for these ants, which have developed physiological modifications.

2. Introducción

2.1 Tasas de diversificación

En la actualidad, uno de los aspectos clave para entender la evolución de la diversidad biológica se basa en la explicación de las variaciones en las tasas de diversificación, la cual se define como la tasa a la cual incrementa el número de especies sobre el tiempo evolutivo y corresponde a la diferencia entre la tasa de especiación (S) y la tasa de extinción (E) ($D = S - E$) (Stanley, 1979). La forma más directa de obtener las tasas de diversificación es la documentación de los taxa sobre los intervalos estratigráficos, a partir de lo cual se obtienen las tasas generales de especiación y de extinción. Sin embargo, aparte de requerirse de la identificación inequívoca de cada fósil, el registro es, para la mayoría de los taxa, incompleto y el intervalo estratigráfico observado raramente representa el verdadero intervalo temporal. Esto último debido a que la visualización de fósiles documenta sólo cuando los organismos han sido abundantes y no su tiempo de origen y aun cuando exista un excelente registro, el tiempo transcurrido desde la diversificación del linaje y su aparición estratigráfica es realmente desconocido. A pesar de ello, el registro fósil representa la mejor fuente disponible de información cronológica (Magallón, 2004).

No obstante, cuando la evidencia fósil es pobre o inexistente, las tasas de diversificación pueden ser estimadas considerando la diversidad de especies vivientes y su edad (Magallón y Sanderson, 2001). En este caso, las edades se obtienen a partir de una filogenia realizada con base en datos moleculares, ya que además de describir las relaciones jerárquicas entre los taxa, incluyen una dimensión temporal proporcionada por el reloj molecular, el cual señala que las diferencias genéticas entre pares de secuencias se acumulan de manera proporcional al evento de divergencia. Este método se basa en la regresión lineal de las distancias moleculares a fin de obtener el tiempo transcurrido. Sin embargo, existen factores que sesgan los estimados de tiempos de divergencia, como el muestreo taxonómico, el cual tiene una influencia significativa (Sanderson y Doyle, 2001) y los diferentes tipos de datos moleculares, ya que se ha observado que las tasas de evolución molecular son heterogéneas entre linajes, entre genes y a través del tiempo, lo que resulta en estimaciones substancialmente diferentes (Cutler, 2000; Sanderson y Doyle, 2001). Asimismo, cuando se incluye más de un marcador molecular, es indispensable analizar individualmente cada partición de datos a fin de estimar el modelo de sustitución al que mejor se ajusta, ya que los análisis exploratorios señalan que las diferentes particiones se explican de manera significativamente mejor por modelos y parámetros individuales que por un sólo modelo optimizado para el total de datos (Sanderson y Doyle, 2001).

Una vez obtenida la filogenia, se requiere del calibramiento de nodos, lo cual consiste en asignar una edad absoluta a un clado a fin de convertir los tiempos relativos de divergencia en unidades absolutas de tiempo. La calibración es un paso crítico, ya que de ello dependen las estimaciones de edades absolutas, por tal motivo, la edad asignada debe ser lo más cercano posible al tiempo real de la división del linaje, para lo cual puede ocuparse información proveniente del registro fósil, de información geológica o de edades provenientes de análisis moleculares independientes. Los nodos pueden restringirse con edades mínimas y máximas, y con esto facilitar la estimación de tiempos mediante la imposición de límites superiores e inferiores a las posibles edades de los nodos (Magallón, 2004).

Adicionalmente, los datos moleculares a veces no se ajustan al modelo de reloj molecular y la tasa evolutiva entre los linajes es variable. Para estos casos, existen varios métodos que permiten reconstruir los tiempos de divergencia en ausencia de reloj molecular. En algunos de ellos, los linajes que se desvían del reloj molecular son eliminados y los tiempos de divergencia se reconstruyen considerando sólo a los linajes restantes (Li y Tanimura, 1987; Sanderson, 1997). Takezaki *et al.* (1995) formalizan este procedimiento utilizando pruebas de tasas relativas y combinando la información proveniente de múltiples secuencias dentro de los clados para eliminar los linajes que se desvían significativamente de una tasa constante y refieren a estos árboles como “árboles linearizados”. Este método ha sido usado para obtener los tiempos de divergencia en Drosophilidae (Russo *et al.*, 1995), en mamíferos (Hedges *et al.*, 1996) y en diatomeas (Kooistra y Medlin, 1996). Hasegawa *et al.* (1989) y Kishino y Hasegawa (1990) desarrollaron una propuesta basada en distancias que conlleva a diferentes tasas de parámetros en diferentes partes del árbol. Sanderson (1997) desarrolló un método adicional llamado “Nonparametric Rate Smoothing (NPRS)”, el cual se basa en minimizar los cambios en las tasas locales ancestro-descendiente y se apoya en información fósil, la cual es incorporada para maximizar o minimizar las edades de los nodos. Este método ha sido aplicado en estudios de aves (Moyle, 2005), venados (Pitra *et al.*, 2004) y plantas (Kim *et al.*, 2004; Bell y Donoghue, 2005) entre otros.

Una vez obtenidas las edades de divergencia, es posible estimar las tasas de diversificación taxonómica, y para ello existen varios modelos que consideran básicamente a la diversidad de especies como una función del tiempo. Los modelos estocásticos son los más utilizados, entre éstos se encuentran el “pure birth”, propuesto por Yule (1925), “birth and death (BD)”,

propuesto por Bailey (1964) y “branching process (BGW)”, propuesto por Bienaymé, Galton y Watson (Sanderson y Donoghue, 1996), siendo los dos primeros los más utilizados. Mediante el modelo BD, se supone que tanto la especiación (λ), como la extinción (μ), ocurren a una tasa constante, haciendo el proceso homogéneo a través del tiempo, lo que conlleva a un incremento exponencial del incremento o decremento de la diversidad. La tasa de diversificación (r) es definida como $r = \lambda - \mu$, y la tasa relativa de extinción es definida como $\varepsilon = \mu/\lambda$, y se obtienen dos estimados de r , uno correspondiente a una tasa donde no hay extinción ($r_{0.0}$) y otro correspondiente a una tasa de extinción excepcionalmente alta ($r_{0.9}$), los valores resultantes constituyen los límites de las tasas de diversificación para un grupo determinado (Magallón y Sanderson, 2001). En lo que respecta al modelo de Yule, supone que las tasas de diversificación son constantes y que no hay extinción, en otras palabras, constituye un proceso de Markov, el cual supone que el número de eventos de diversificación a lo largo de cualquier rama sigue una distribución de Poisson, lo que significa que el tiempo entre los eventos de diversificación se distribuye exponencialmente. Este modelo es el más simple, y a pesar de las críticas ofrece buenas estimaciones como una primera aproximación para explorar las tasas de diversificación (Savage, 1983; Sanderson y Wojciechowski, 1996).

Por otra parte, la información resultante de las relaciones filogenéticas, junto con las tasas de diversificación comienza a ser utilizada como una herramienta más para proponer hipótesis concernientes a correlaciones biológicas de diversificación; por ejemplo, se ha sugerido que una mayor acumulación de especies en un clado particular puede ser resultado de una mayor tasa de diversificación, o bien, que los clados de mayor edad tienen mayor número de especies debido a que han tenido más tiempo para acumularlas. Siguiendo estas tendencias, algunos autores han propuesto que la acumulación de especies en los trópicos corresponde a variaciones en las tasas de diversificación a lo largo de gradientes ambientales (Diniz-Filho *et al.*, 2007). En particular, para aves paseriformes y mariposas, se ha corroborado que la mayor diversidad observada en los trópicos corresponde a una mayor tasa de diversificación (Cardillo, 1999; Cardillo *et al.*, 2005). De igual manera, para las angiospermas en general, se ha observado que las tasas de diversificación son mayores hacia el Ecuador, sugiriendo que el gradiente de diversidad latitudinal puede ser explicado por diferencias en este parámetro, y no por migración posterior a la especiación (Janson y Davies, 2008). Sin embargo, para otros organismos, como las ranas arborícolas, aún cuando existe una mayor diversidad en los trópicos, las tasas de diversificación

son similares tanto en regiones templadas como tropicales, sugiriendo que las regiones templadas tienen menor número de especies debido a que fueron colonizadas recientemente (Wiens *et al.*, 2006). Resultados similares han sido descritos para artrópodos, cordados y moluscos, en donde los patrones de riqueza de especies de estos Phyla son resultado de la longevidad de sus clados y no de las tasas de diversificación, aún cuando éstas últimas son mayores en los clados más recientes (McPeck y Brown, 2007).

Estas metodologías han permitido identificar clados inusualmente diversos, así como grupos con tasas de diversificación excepcionalmente altas como en *Lupinus*, drosófilas y plantas de Hawai, entre otros (Thomas y Hunt, 1991; Baldwin y Sanderson, 1998; Hughes y Eastwood, 2006). Asimismo, el uso de filogenias moleculares, junto con la estimación de tiempos de divergencia y tasas de diversificación permiten estudiar los patrones temporales de especiación de linajes, conllevando a una mejor comprensión de los procesos que han moldeado la diversidad. Particularmente, las variaciones observadas en las tasas de diversificación taxonómica han sido atribuidas a una serie de factores que incluyen innovaciones biológicas, reestructuración del ecosistema, cambios ambientales, asociaciones mutualistas y ocupación de diferentes áreas geográficas (McConway y Sims, 2004; Smith *et al.*, 2008), siendo las asociaciones mutualistas de particular interés para el presente trabajo.

2.2 Interacciones planta-hormiga

La interacción entre hormigas y plantas ha sido un tema de gran interés debido a la complejidad y diversidad que presentan dichas relaciones (Jolivet, 1998). Cabe señalar que las interacciones ecológicas entre especies son factores evolutivos de gran importancia y pueden ser una de las principales fuerzas que conllevan a la diversificación y especialización de linajes (Chenuil y McKey, 1996; Fiala *et al.*, 1999). Las plantas y las hormigas se encuentran involucradas en una gran variedad de relaciones que van desde el parasitismo, el mutualismo condicional, hasta el mutualismo obligatorio. Este tipo de relaciones alcanza un alto grado de sofisticación en las plantas mirmecófilas, las cuales se caracterizan por ofrecer hospedaje permanente (domacios) y alimento para sus hormigas residentes. Los domacios son cavidades que pueden desarrollarse en órganos vegetativos como pecíolos, tallos, bases de las hojas, raíces, así como en invaginaciones o plegamientos de las hojas y ocasionalmente, no sólo proveen de sitios de

anidamiento para las hormigas, sino también de lugares en los cuales algunas especies pueden criar homópteros para complementar su dieta (Davidson y McKey, 1993). A cambio de los domacios y del alimento ofrecido por los hospederos, las hormigas protegen a las plantas de la herbivoría y les confieren beneficios adicionales como la protección contra hongos patógenos; la remoción de lianas; la adición de CO₂ y de nutrientes, principalmente nitrógeno, a causa de la descomposición de desechos (Sagers *et al.*, 2000; Fischer *et al.*, 2003).

La mirmecofilia es conocida en 465 especies de plantas, predominantemente angiospermas (50 familias), así como en una familia de helechos (Polypodiaceae) y una familia de coníferas (Jolivet, 1998), tanto hierbas, arbustos, árboles y lianas, de ambientes tropicales, templados y áridos en todo el mundo (Schupp y Fenner, 1990). No obstante, la flora mirmecófila tropical africana es menos rica en especies, aunque muchas de ellas presentan una distribución muy amplia. En contraparte, en el neotrópico existen géneros ricos en especies pero con distribuciones geográficas restringidas. Estas últimas especies parecen ser enteramente neoendémicas, producto de una rápida y reciente especiación, en vez de relictos paleoendémicos. De manera particular, en el trópico, la mirmecofilia se encuentra presente en al menos 141 géneros de 47 familias de plantas (Davidson y McKey, 1993). Cabe señalar que el continente americano presenta la mayor riqueza de especies mirmecófilas (Jolivet, 1998), particularmente, la parte central del Amazonas, en donde habitan 16 especies de plantas de este tipo y 25 especies de hormigas hospederas, además una hectárea de bosque puede contener hasta 380 individuos mirmecófilos (Fonseca y Ganade, 1996).

Algunos autores consideran que las plantas portadoras de domacios evolucionaron a partir de plantas que mantenían una interacción facultativa con hormigas. Fiala y Maschwitz (1992a, b) proponen que en comparación con los nectarios extraflorales y los cuerpos alimenticios, los domacios son la característica más importante en la evolución de las simbiosis hormiga-planta ya que estas estructuras permiten una mayor constancia en la asociación y, como consecuencia, un aumento en la protección hacia la planta. La recompensa alimenticia ofrecida a las hormigas varía desde aminoácidos y soluciones azucaradas producidas en los nectarios extraflorales, hasta proteínas o cuerpos alimenticios a base de glucógeno (Hölldobler y Wilson, 1990; Davidson y McKey, 1993).

Algunos sistemas hormiga-planta de los bosques lluviosos neotropicales y paleotropicales involucran también la presencia de otros insectos (Hemiptera: Coccoidea; Hölldobler y Wilson, 1990; Ward, 1991), los cuales habitan frecuentemente, ya sea dentro de los domacios, en otros tallos huecos de las plantas o en construcciones realizadas por las hormigas en los tallos o las hojas (Heckroth *et al.*, 1998). Algunos autores (McKey, 1989; Ward, 1991) consideran la presencia de estos insectos como un factor importante en la evolución de la mirmecofilia, ya que permiten una relación más estrecha de las hormigas con las plantas. A su vez, las hormigas se ven privilegiadas por los recursos alimenticios proporcionados por tales insectos, los cuales consisten especialmente de un aporte extra de azúcares contenido en las excretas (Way, 1963), aunque en algunas ocasiones estos insectos son consumidos directamente como una fuente de proteínas o lípidos (Wheeler, 1942). En contraparte, las hormigas proveen de servicios vitales para estos homópteros, tales como la protección contra parásitos, los transportan hacia nuevos sitios de anidamiento y mejoran sus condiciones de sanidad removiendo sus desechos (Way, 1963), incluso algunas hormigas reinas fundadoras portan estos insectos en sus mandíbulas durante su vuelo nupcial (Buschinger *et al.*, 1987; Klein *et al.*, 1992, citados en Heckroth *et al.*, 1998).

Las plantas mirmecófilas mantienen una estrecha relación con al menos 25 géneros de hormigas (McKey y Davidson, 1993). Como se mencionó anteriormente, este tipo de relaciones es más común en la región tropical, aunque se ha observado que en los géneros que presentan especies tanto en el Nuevo Mundo como en el Viejo Mundo, la mirmecofilia está presente sólo en una o en otra región. La única excepción conocida hasta el momento se presenta en el género *Acacia*, que incluye este tipo de plantas tanto en África como en América y en ambas regiones extienden el síndrome hacia zonas áridas (McKey y Davidson, 1993). Este género consta de aproximadamente 1600 especies (Lewis *et al.*, 2005), de las cuales sólo cuatro africanas (Janzen, 1974) y 15 neotropicales (Rico-Arce, 2003) mantienen una relación muy estrecha con hormigas.

2.3 Acacias mirmecófilas africanas.

Las cuatro especies de acacias mirmecófilas africanas (*Acacia bussei*, *A. drepanolobium*, *A. luederitzii* y *A. seyal*) presentan domacios y nectarios extraflorales, pero a diferencia de las mirmecófilas neotropicales, carecen de cuerpos beltianos. Los estudios ecológicos hacen

referencia principalmente a *A. drepanolobium*, especie dominante en el distrito de Laikipia, Kenia (Fig. 1) (Taiti, 1992; Young *et al.*, 1998), cuyas hojas portan de 1-3 nectarios extraflorales situados en el raquis central (Stanton *et al.*, 2005). Las ramas están densamente armadas con estípulas espinosas (domacios) de hasta 60 mm de largo, de las cuales sólo el 5-20% presentan agujeros de entrada y se encuentran ocupadas como cámaras de anidamiento por hormigas residentes (Stanton *et al.*, 2005). *A. drepanolobium* es habitada por cuatro especies de hormigas (*Crematogaster mimosae*, *C. nigriceps*, *C. sjostedti* y *Tetraponera penzigi*), las cuales coexisten en el mismo individuo debido a que los árboles hospederos son el recurso limitante tanto para las colonias maduras de hormigas como para las hormigas reinas fundadoras (Palmer *et al.*, 2003). Estas hormigas reducen el tiempo que pasan forrajeando en las acacias animales herbívoros, como jirafas, elefantes, gacelas y rinocerontes. Al reducir el tiempo de forrajeo, se reduce la pérdida de las hojas y se incrementa la longevidad de sus hospederos (Madden y Young, 1992; Stapley, 1998). Sin embargo, cabe señalar que los árboles ocupados particularmente por *C. mimosae*, son los menos forrajeados por jirafas y rinocerontes blancos, lo cual provee evidencia de que esta especie defiende eficazmente a sus hospederos (Martins, 2010).

Las cuatro especies de hormigas asociadas a esta acacia africana presentan historias de vida contrastantes. *Crematogaster mimosae* Santschi es la residente más común, se presenta en el 40%-60% de los árboles maduros y es considerada como una verdadera mutualista debido a que defiende activamente a sus hospederos, especialmente las partes más jóvenes (Young *et al.*, 1997; Palmer *et al.*, 2000). Forma pequeñas colonias aparentemente monogínicas (una reina por colonia), aunque, cuando la colonia ocupa múltiples árboles pueden tener varias reinas (poligíneas). En este último caso, se han llegado a encontrar hasta siete reinas con su respectivas progenies dentro de un solo domacio (Stanton *et al.*, 2005). Asimismo, estas hormigas cultivan insectos escama tanto dentro de los domacios como en la parte inferior de las ramas jóvenes (Palmer *et al.*, 2000).

Crematogaster sjostedti Mayr se caracteriza por ser la especie dominante en los sitios fértiles del distrito de Laikipia, especialmente los cercanos a montículos de termitas (Palmer, 2003). Sus colonias pueden ocupar varios árboles y contener varias reinas, aunque esta especie parece propagarse por *budding* y *fission* (Stanton *et al.*, 2005). *Budding* y *fission* son dos estrategias para el

crecimiento de una colonia, cuando se presentan varias reinas. La primera estrategia (*budding*) es la más común y consiste en que un grupo de trabajadoras, se separan del nido principal con una o más reinas para comenzar una nueva unidad de nidación. En cambio, en la estrategia de *fission*, los grupos que se separan de la colonia llevando consigo reinas fértiles, se independizan de la colonia y siguen su propio curso (Hölldobler y Wilson, 1990). Cuando hay disturbios en las plantas, *C. sjostedti* es la especie menos activa y se caracteriza porque no cría su progenie dentro de los domacios; prefiere cavidades de madera muerta en las partes viejas de las plantas o en el suelo alrededor de las bases de los árboles. Sin embargo, defiende a los árboles en contra de las otras tres especies de hormigas asociadas. Cultiva insectos escama y es tolerante a una gran variedad de otros insectos y epífitas (Palmer *et al.*, 2000).

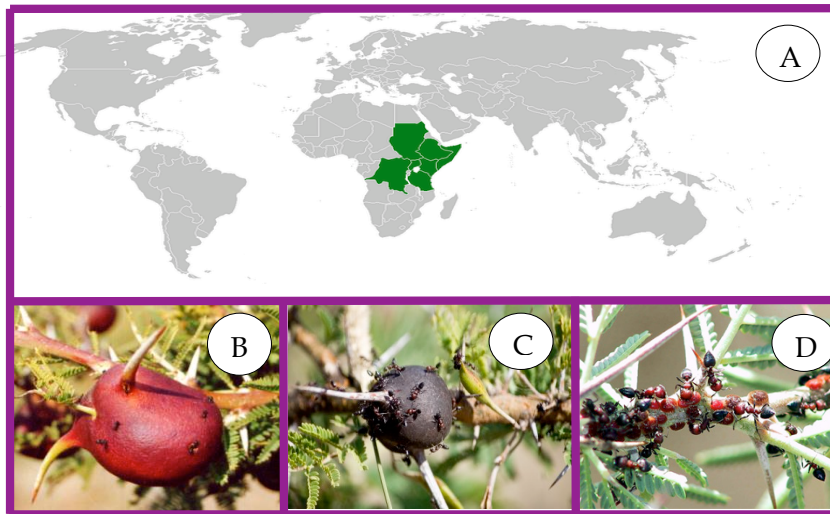
Crematogaster nigriceps Emery y *Tetraoponera penzigi* son estrictamente monogínicas y sus reinas fundadoras son siempre solitarias (Stanton *et al.*, 2005). Son las más comunes en árboles pequeños (Palmer *et al.*, 2000). *C. nigriceps* habita los domacios y se alimenta del néctar extrafloral de sus hospederos, es una especie muy activa y tiene el peculiar comportamiento de remover todas las yemas florales, esterilizando de esta manera a sus hospederos (Young *et al.*, 1997; Stanton *et al.*, 1999; Palmer *et al.*, 2000). *T. penzigi* Mayr responde lentamente a los disturbios pero es la única especie con picadura dolorosa. Se alimenta del néctar extrafloral y los domacios que coloniza tienen las entradas más pequeñas y más numerosas en comparación con las otras dos especies de *Crematogaster* (Palmer *et al.*, 2000).

Después del vuelo nupcial, las hormigas reinas, con excepción de *C. sjostedti*, buscan domacios desocupados, generalmente en plántulas de *A. drepanolobium* de menos de 0.6 m y realizan una pequeña entrada, proceso que les toma alrededor de 2 horas. Una vez dentro de los domacios, las reinas sellan la abertura. El sellado que realiza *T. penzigi* es hermético. En cambio, el sellado que realizan las especies de *Crematogaster* es áspero, y ocupan para ello folíolos de *Acacia*, pedazos de espinas y partes de insectos muertos (Stanton *et al.*, 2005).

Dentro de los domacios han sido encontrados otros artrópodos como arañas y larvas de polillas, sin embargo las reinas fundadoras nunca los ocupan con arañas dentro y raramente los co-ocupan con larvas de polillas (Stanton *et al.*, 2005). Ocasionalmente algunas colonias de las

hormigas mutualistas son parasitadas por el bracónido *Trigastrotheca laikipiensis* (Hymenoptera: Braconidae). Las hormigas reinas no detectan su presencia y los bracónidos se alimentan de los huevos, larvas y pupas presentes. Las reinas procuran a los bracónidos parasitoides desde que son pupas e incluso hasta cuando eclosionan como adultos dentro de las cámaras de anidamiento (Quicke y Stanton, 2005).

Figura 1. A: Distribución *Acacia drepanolobium*. B, C: Domacios de *A. drepanolobium* con hormigas del género *Crematogaster* (Foto: Jessica Walden). D: Hormigas *C. mimosae* (Foto: Todd Palmer).



2.4 Acacias mirmecófilas neotropicales.

Las 15 especies de acacias mirmecófilas neotropicales (*A. allenii*, *A. cedilloi*, *A. chiapensis*, *A. cookii*, *A. cornigera*, *A. collinsii*, *A. gentlei*, *A. globulifera*, *A. hindsii*, *A. hirtipes*, *A. janzenii*, *A. mayana*, *A. melanoceras*, *A. ruddiae* y *A. spherocéphala*) se distribuyen como grupo, principalmente en las regiones costeras desde el centro de México hasta el noroeste de Colombia, generalmente a elevaciones por debajo de los 1,200 m snm (Fig. 2). Las especies de mayor distribución son *A. collinsii* (México hasta Colombia), *A. cornigera* (México hasta Costa Rica) y *A. hindsii* (México hasta Nicaragua). Las poblaciones actuales de acacias mirmecófilas muestran una variación clinal en características tales como el tamaño de los foliolos; el tamaño y forma de la espina; formas de vida; forma de la semilla y de la vaina (Janzen, 1974). La mayoría de las especies han

incrementado su densidad local, su tamaño poblacional y su cobertura geográfica, invadiendo campos de cultivo, pastizales y orillas de carreteras con lo cual conectan a los sitios naturales perturbados que se encuentran a lo largo de los ríos, arroyos y lagos (Janzen, 1974).

Las semillas de estas plantas son dispersadas por aves que comen ya sea la vaina entera como en *A. cornigera* y *A. sphaerocephala*, o por grupos de semillas (Fig. 2). Estas plantas parecen ser las únicas acacias neotropicales dispersadas por aves (Janzen, 1969). Presentan además una fenología floral representativa, esto es, la mayoría de las plantas maduras portan inflorescencias abiertas por 4-8 semanas casi al mismo tiempo cada año. Este período de floración puede comenzar en cualquier momento durante los dos primeros meses de la estación seca, dependiendo de la especie y del área. Para una especie determinada y un área dada, la oportunidad es la misma año con año. Una sola especie puede mostrar una suficiente variación de un sitio a otro en las fechas de floración, debido al inicio de las estaciones húmeda y seca. En general, al menos el 80% de las subpoblaciones de acacias mirmecófilas florecen durante la estación seca (Janzen, 1974). Durante la temporada de floración existe una separación temporal hormiga/polen-polinizador, es decir, las inflorescencias se abren cuando las hormigas son menos activas, como en *A. constricta* (Nicklen y Wagner, 2006) y en *A. zanzibarica* (Willmer y Stone, 1997), sin embargo, en algunas otras especies esta separación temporal es menor, como en *A. hindsii* (Raine *et al.*, 2002), o nula como en *A. collinsii* (Ghazoul, 2001), en donde las hormigas y los polinizadores están activos a las mismas horas del día. Las flores de acacias presentan repelentes contra hormigas, los cuales podrían estar presentes en el polen (Nicklen y Wagner, 2006) y esto es independiente de si presentan alguna relación mutualista con hormigas (Willmer y Stone, 1997; Ghazoul, 2001; Raine *et al.*, 2002). Cabe señalar que la secreción de la glándula metapleurale presente en las hormigas, parece inhibir la viabilidad del polen, de aquí que las hormigas no sean consideradas, en general, como buenas polinizadoras (Beattie *et al.*, 1984).

Las acacias mirmecófilas neotropicales presentan características morfológicas relacionadas con la asociación mutualista con hormigas: todas portan estípulas espinosas modificadas (domacios) que son habitadas por las hormigas; presentan cuerpos beltianos ubicados en el ápice de los foliolos; uno o más nectarios extraflorales en el pecíolo o raquis de las hojas (Fig. 2); producen hojas nuevas durante todo el año (Janzen, 1966); y carecen de compuestos químicos como

alcaloides y glicósidos cianogénicos, los cuales son mecanismos de defensa de las plantas en general, contra insectos fitófagos (Rehr *et al.*, 1973). En estas plantas, las hormigas mutualistas cumplen con la función de eliminar insectos herbívoros, y mantienen libres de esporas de hongos a las hojas de sus hospederos. No obstante, *A. chiapensis* presenta características intermedias, ya que contiene compuestos químicos e incluso es capaz de sobrevivir en ausencia de hormigas, aunque en su hábitat natural siempre está asociada con hormigas (Rehr *et al.*, 1973).

Los cuerpos beltianos (Fig. 2) están constituidos por lípidos (1-10% del peso seco), proteínas y aminoácidos libres (8-14% del peso seco), carbohidratos (3-11% del peso seco) y agua (18-24%), y son usados como fuente de alimento exclusivo para las larvas de las hormigas mutualistas (Heil *et al.*, 2004). Sin embargo, cabe señalar que la araña *Bagheera kiplingi* (Salticidae) consume también estas estructuras alimenticias. En México, *B. kiplingi* habita a *A. collinsii* y los cuerpos beltianos constituyen el 91% de su dieta; en tanto que en Costa Rica, en donde ocupa a *A. collinsii* y *A. cornigera*, sólo representa el 60% de su ingesta, complementándola con néctar extrafloral de las mismas acacias; larvas de hormigas; pequeñas moscas; y raramente arañas pequeñas (Meehan *et al.*, 2009). *B. kiplingi* habita casi exclusivamente las acacias mirmecófilas y cientos de ellas pueden habitar una sola de estas plantas. Construyen sus nidos en las puntas de las hojas más viejas, evitando así el patrullaje de las hormigas mutualistas (Meehan *et al.*, 2009).

Las hormigas que mantienen el mutualismo obligatorio con las acacias mirmecófilas pertenecen al grupo neotropical *Pseudomyrmex ferrugineus*, el cual consta de 10 especies (*P. ferrugineus*, *P. flavicornis*, *P. janzenii*, *P. mixtecus*, *P. nigrocinctus*, *P. particeps*, *P. peperi*, *P. satanicus*, *P. spinicola* y *P. veneficus*), para las cuales se considera que no se relacionan con ningún otro grupo de plantas y que anidan de manera exclusiva en los domacios de las acacias mirmecófilas del Nuevo Mundo. Janzen (1974) propuso que estas hormigas no son específicas a una especie de acacia mirmecófila, pero sí a su forma de vida. Este grupo de hormigas habitan desde el este y oeste de México hasta América Central y el norte de Colombia y a pesar de que no hay una especie que abarque todo este intervalo, su distribución colectiva es similar a la de sus hospederos (Fig. 2) (Ward, 1993); sin embargo sólo *P. ferrugineus* y *P. peperi* presentan distribuciones muy amplias, desde México hasta Honduras y Nicaragua en el segundo caso, en

tanto que las demás ocupan localidades más limitadas (Ward, 1993). Estas especies presentan un comportamiento muy agresivo y defienden vigorosamente a sus hospederas (Ward, 1993).

Usualmente, sólo existe una colonia de *Pseudomyrmex ferrugineus* por individuo de *Acacia cornigera*. Las obreras de las colonias jóvenes (menos de 50 individuos) dejan los domacios sólo el tiempo suficiente para coleccionar néctar y cuerpos beltianos y cuando la colonia consta de 50 a 100 individuos, comienzan a patrullar todas las hojas de su hospedero. Una vez que cuentan con 200 a 400 individuos, lo cual les toma alrededor de 10 meses, las obreras se vuelven más agresivas e incluso atacan a obreras de colonias vecinas así como a insectos que lleguen a su hospedero (Janzen, 1967).

Por otra parte, resalta el comportamiento de *Pseudomyrmex spinicola*, especie que corta la vegetación circundante alrededor de su hospedero (*A. collinsii*) en una circunferencia de cuatro metros, de tal forma que el tronco principal de la planta es el principal punto de acceso para otras hormigas y herbívoros; y para proteger a sus acacias, estas hormigas se concentran en grupos, desde la base hasta las primeras ramas, permaneciendo inmóviles y con sus antenas dirigidas hacia el suelo, con lo cual incrementan la probabilidad de encontrar intrusos (Amador-Vargas, 2008). De manera similar a lo propuesto para *P. ferrugineus* (Janzen 1966), las colonias de *P. spinicola* podrían presentar una división de labores conforme a la edad, es decir, las hormigas más viejas son las que defienden a la colonia por ser las más agresivas, mientras que las hormigas más jóvenes son las encargadas del cuidado de las larvas (Amador-Vargas, 2008).

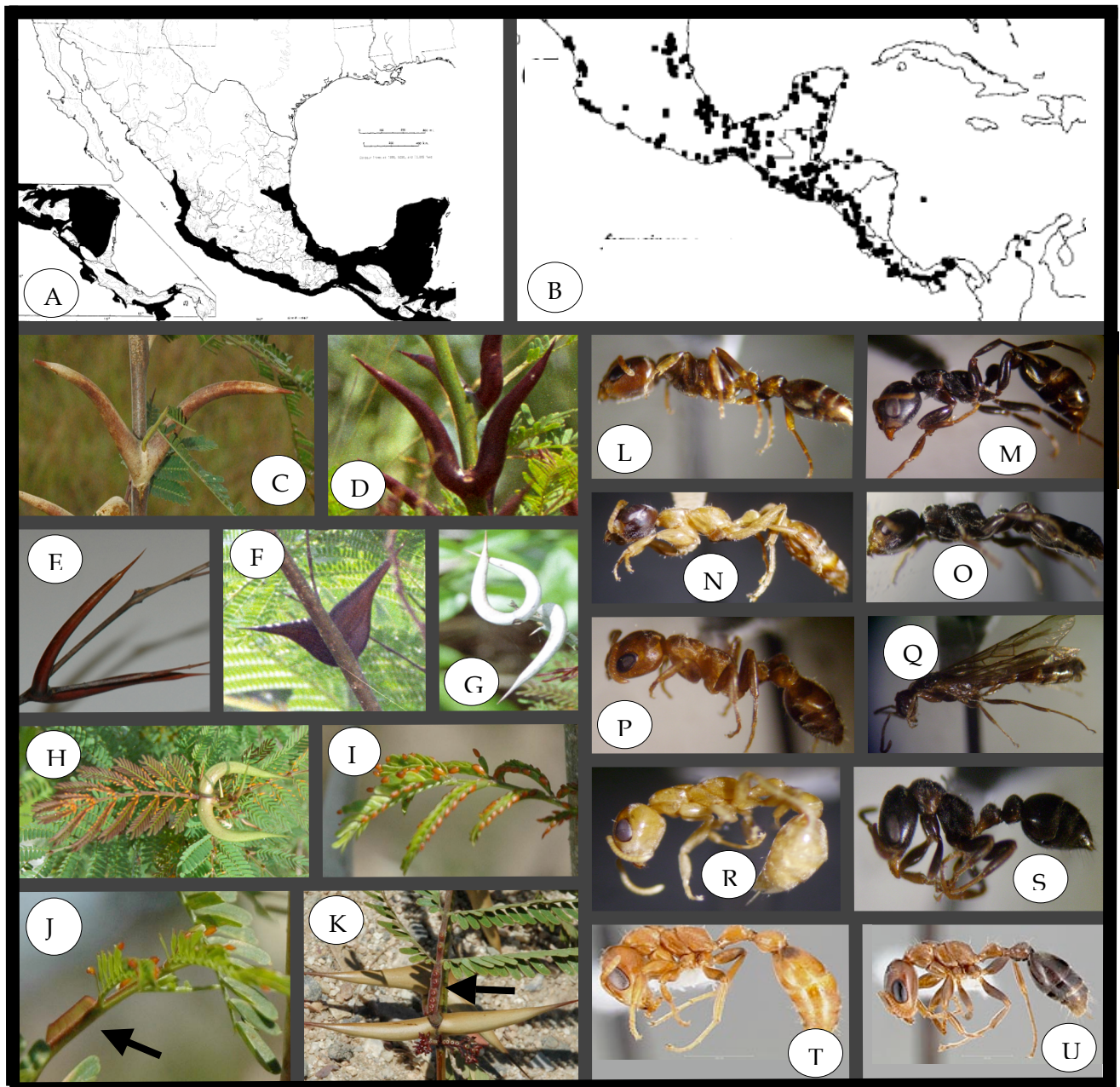
Cabe resaltar que una acacia, con tres cuartas partes de sus domacios llenos con larvas de hormigas, representa una fuente importante de alimento para aves insectívoras. En un domacio puede haber hasta 0.8 gr (0.6 gr en peso seco) de larvas vivas, por lo que en un árbol de 2 metros de alto se puede encontrar 40 gr de alimento. Sin embargo, las aves rara vez llegan a disponer de este recurso, y las evidencias señalan que las hormigas son consumidas básicamente durante la época en que éstas son menos activas, como los meses fríos de diciembre a enero o durante la época seca de finales de marzo y principios de abril. Incluso algunas especies de aves como *Amblycercus holosericeus*, *Campylorhynchus rufinucha*, *Icterus* sp., *Pitangus sulphuratus*, *Scardella inca* y *Thamnophilus doliatus* anidan en *Acacia collinsii* y *A. cornigera* en Costa Rica (Janzen, 1969).

Se considera que estas aves obtienen un beneficio indirecto del mutualismo al construir sus nidos en estas acacias como un mecanismo para evitar la depredación, tanto por las defensas mecánicas de la misma planta, como por la defensa de las hormigas contra artrópodos y vertebrados (Young *et al.*, 1990).

Por otra parte, una más de las adaptaciones presentes en el sistema mutualista neotropical *Pseudomyrmex-Acacia*, se encuentra en la composición especial del néctar: en los nectarios hay secreción simultánea de sacarosa e invertasa, enzima encargada de hidrolizar tal azúcar, de tal forma que finalmente el néctar está constituido principalmente de glucosa y fructosa, lo cual es favorable para las hormigas mutualistas, quienes a diferencia del resto de las hormigas, carecen de invertasa en su sistema digestivo. Esta adaptación permite a su vez evitar visitantes no deseados (Heil *et al.*, 2005). No obstante, la pérdida de invertasa sólo está presente en las trabajadoras y no en las larvas, quienes presentan actividad de esta enzima, ya que son alimentadas exclusivamente de cuerpos beltianos, los cuales contienen sacarosa (Heil *et al.*, 2004). Asimismo, cabe señalar que los nectarios extraflorales de acacias no-mirmecófilas como *A. cochliacantha*, *A. farnesiana* y *A. macracantha*, así como en *Leucaena leucocephala* (Leguminosae), se presentan pequeñas cantidades de invertasa, por lo que la alta cantidad de esta enzima en los nectarios extraflorales de las acacias mirmecófilas representa un cambio cuantitativo en vez de cualitativo (Heil *et al.*, 2005; Kautz *et al.*, 2009).

Al momento existen dos hipótesis para tratar de explicar el origen de las acacias mirmecófilas neotropicales. Janzen (1974) propuso que forman un grupo polifilético, es decir, que la mirmecofilia pudo haberse originado más de una vez o que algunas especies no mirmecófilas adquirieron esta característica a través de la hibridación. En cambio, Clarke *et al.* (2000) sugieren que podrían haber derivado a partir de un ancestro del grupo *Acacia macracantha* (subgénero *Acacia*).

Figura 2. A: Distribución general de las acacias mirmecófilas neotropicales (Tomado de Janzen, 1974). B: Distribución general del grupo *Pseudomyrmex ferrugineus* (Tomado de Ward, 1993). Domacios de C: *Acacia cornigera*, D: *A. collinsii*, E: *A. chiapensis*, F: *A. hindsii*, G: *A. cedilloi*. H, I: Cuerpos beltianos (color naranja) de *A. cedilloi*. J, K: Nectarios extraflorales, señalados por las flechas (Fotos: Sandra Gómez). L: *Pseudomyrmex ferrugineus*, M: *P. flavicornis*, N: *P. gracilis*, O: *P. ita*, P: *P. peperi*, Q: *P. peperi* macho, R: *P. subtilissimus*, S: *P. veneficus* (Fotos: Gabriela Castaño), T: *P. nigrocinctus*, U: *P. particeps* (Fotos: Phil Ward) .



3. Justificación, hipótesis, objetivos

3.1 Justificación

Una pieza clave para el entendimiento de la evolución de la biodiversidad es tratar de explicar las variaciones en las tasas de diversificación, mismas que pueden verse afectadas por diversos factores como las asociaciones mutualistas. Es decir, estudios previos han sugerido que polinizadores especialistas pueden promover una rápida diversificación en plantas; así como los mutualismos de polinización obligatoria pueden promover la coespeciación entre las plantas y sus polinizadores, resultando en una diversificación simultánea (Althoff *et al.*, 2006). En consecuencia, para los integrantes de los casos mencionados, se esperarían tasas de diversificación mayores.

Sin embargo, el entendimiento de cómo se originan los mutualismos y se diversifican subsecuentemente, requiere de una propuesta filogenética, y no obstante que los estudios ecológicos acerca de los mutualismos son abundantes en la literatura, la mayoría de ellos carecen de análisis que pongan a prueba su origen evolutivo y diversificación. En términos generales, este tipo de estudios ecológicos y filogenéticos se han realizado principalmente en sistemas planta-polinizador (Althoff *et al.*, 2006; Whittall y Hodges, 2007; Smith *et al.*, 2008).

Las interacciones planta-hormiga han sido poco estudiadas, aunque uno de los ejemplos más conocido es el sistema *Pseudomyrmex-Acacia*, descrito por primera vez en detalle por Janzen (1966). Este es uno de los mutualismos más constantes y persistentes entre plantas e insectos, lo que ha generado una gran especialización de ambas partes. No obstante, al hacer referencia a este sistema se menciona generalmente sólo a *Acacia cornigera* y a *Pseudomyrmex ferrugineus*, dejando de lado el resto de las especies involucradas en este mutualismo.

Debido a lo anterior, el presente estudio tiene la finalidad de aportar información actualizada acerca de las especies de hormigas que habitan el grupo de acacias mirmecófilas neotropicales; analizar el sistema mutualista *Pseudomyrmex-Acacia* desde una perspectiva filogenética, a fin de conocer su ubicación filogenética con respecto a las demás especies de los géneros a los cuales pertenecen y establecer si ambos taxa representan grupos monofiléticos. Asimismo, también se

pretende establecer el probable origen cronológico en el cual se estableció el mutualismo obligatorio, y observar de manera general si las tasas de diversificación en ambos participantes se han visto afectadas por esta asociación.

3.2 Hipótesis

Estudios previos señalan que las asociaciones mutualistas pueden promover una rápida diversificación en los grupos involucrados; por tal motivo, es de esperar que los grupos que conforman el mutualismo neotropical obligatorio *Acacia-Pseudomyrmex*, presenten tasas de diversificación mayores en comparación con el resto de las especies de los géneros a los cuales pertenecen.

3.3 Objetivos

- Establecer las relaciones ancestro-descendiente para un grupo de mimosoideas y de hormigas Pseudomyrmecinae, en particular para las acacias mirmecófilas y sus hormigas asociadas.
- Estimar los tiempos de origen para los principales grupos de mimosoideas y de hormigas mediante metodologías de fechación molecular, utilizando el programa r8s (Sanderson, 2003).
- Estimar las tasas de diversificación para los grupos monofiléticos de mimosoideas y de hormigas, y hacer inferencias respecto a si éstas corresponden con factores ecológicos, climáticos o ambos.
- Comparar las filogenias resultantes de los grupos involucrados en el mutualismo neotropical, usando el programa TreeMap (Page, 1994).

4. Materiales y métodos

4.1 Mimosoideas

Se consideró una muestra representativa de mimosoideas, principalmente del género *Acacia*, tomando como base la lista de "especies críticas" de Maslin y Stirton (1997), pero con la finalidad de tener una mayor representatividad de especies del subgénero *Acacia*, por ser éste al cual pertenecen las acacias mirmecófilas. Se colectaron hojas de material fresco y en algunos casos fueron tomadas de material de herbario (MEXU y USCG). El material de respaldo se encuentra depositado en el Herbario Nacional MEXU. El ADN total fue aislado mediante el método mini-prep CTAB (Doyle y Doyle, 1987). Dos regiones nucleares (*ITS* y *PEPC*) y tres regiones de cloroplasto (*matK*, *psaB-rps14* y *trnL-trnF*) fueron amplificadas mediante el método de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Las condiciones bajo las cuales se amplificó cada región se mencionan a continuación.

ITS

La región completa de *ITS* que incluye a *ITS1*, *5.8S* e *ITS2* ha sido ampliamente utilizada en análisis filogenéticos a varios niveles taxonómicos (Baldwin *et al.*, 1995; Käss y Wink, 1996; Ariati *et al.*, 2006). Esta región fue amplificada y secuenciada con los pares de primers siguientes: **AcF** (5'- GGA GAA GTC GTA ACA AGG TTT CCG -3'; Murphy *et al.*, 2003) y **26SE** (5'- TAG AAT TCC CCG GTT CGC TCG CCG TTA C -3'; Sun *et al.*, 1994). La mezcla de PCR consistió de 3.0 µl de Buffer (10X), 1.5 µl de MgCl₂ (30 mM/L), 2.0 µl de dNTPs en solución equimolar (1.25 mM/L), 1.2 µl de cada primer (10 µM), 2.0 µl de ADN (10-50 ng) y 1 unidad de Taq polimerasa en un volumen total de 30.0 µl. La amplificación se realizó con una desnaturalización inicial de 94.0 °C por 3 minutos, seguido de 30 ciclos de 94.0 °C por 1 minuto, 60.0 °C por 1 minuto y 72.0 °C por 2 minutos, con un periodo de extensión final de 72.0 °C por 7 minutos.

PEPC

La región nuclear *PEPC* codifica para la enzima fosfoenolpiruvato carboxilasa, la cual es de principal importancia para la fijación de CO₂ y para el metabolismo del carbono (Latzko y Kelly, 1983). Los genes que codifican para esta enzima parecen estar presentes en pocas copias en familias multigénicas pequeñas (Panstruga *et al.*, 1995). El cuarto intrón de *PEPC* fue amplificado y secuenciado con los primers reportados por Olson (2002), y corresponden a: **PPCX4F** (5'- ACT

CCA CAG GAT GAG ATG AG -3') y **PPCX5R** (5'- GCG CCA TCA TTC TAG CCA A -3'). La mezcla de PCR consistió de 3.0 µl de Buffer (10X), 1.5 µl de MgCl₂ (30 mM/L), 1.5 µl de dNTPs en solución equimolar (1.25 mM/L), 0.6 µl de cada primer (10 µM), 2.0 µl de ADN (10-50 ng) y 1 unidad de Taq polimerasa en un volumen total de 30.0 µl. La amplificación se realizó con una desnaturalización inicial de 94.0 °C por 2 minutos, seguido de 30 ciclos de 94.0 °C por 30 segundos, 51.0 °C por 30 segundos y 72.0 °C por 1 minuto, con un periodo de extensión final de 72.0 °C por 4 minutos.

matK

matK es un marcador adecuado, ya que ha sido empleado con resultados satisfactorios para ubicar al género *Acacia* dentro de la subfamilia Mimosoideae (Miller *et al.*, 2003) y para proporcionar un esquema de las relaciones entre los tres subgéneros (Miller y Bayer, 2000, 2003), así como a nivel de secciones dentro del subgénero *Phyllodineae* (Murphy *et al.*, 2003). La amplificación inicial se llevó a cabo con los primers **trnK-3914** (5'- GGG GTT GCT AAC TCA ACG G -3'; Johnson y Soltis, 1994) y **Ac1707R** (5'- TGC ACA CGG CTT TCC CTA TG -3'; Miller y Bayer, 2000). Las secuencias fueron generadas con cuatro primers internos reportados por Miller y Bayer (2001), y corresponden a: **Ac283R** (5'- CAC TGA CGG CAA GCC CCT CTG -3'), **Ac12F** (5'- GGT GCA (A/C)AA TCT AGG TTA TGA C - 3'), **Ac1290R** (5'- AAT ACA AGA AAG CCG AAG -3') y **Ac1104F** (5'- CCT CTA ATT AGA TCA TTG GC - 3'). La mezcla de PCR consistió de 3.0 µl de Buffer (10X), 1.8 µl de MgCl₂ (30 mM/L), 0.6 µl de dNTPs en solución equimolar (1.25 mM/L), 0.6 µl de cada primer (10 µM), 2.0 µl de ADN (10-50 ng) y 1 unidad de Taq polimerasa en un volumen total de 30.0 µl. La amplificación se realizó con una desnaturalización inicial de 94.0 °C por 3 minutos, seguido de 30 ciclos de 94.0 °C por 1 minuto, 53.0 °C por 1 minuto y 72.0 °C por 2 minutos, con un periodo de extensión final de 72.0 °C durante 20 minutos.

psaB-rps14

Este espaciador fue amplificado y secuenciado usando los primers reportados por Suyama *et al.* (2000) y corresponden a: **psaB-rps14 1** (5'- GCA CGA TTA GTT GCA TTA GC -3') y **psaB-rps14 2** (5'- CCA TCT CAC GGA GTA TGT GT -3'). La mezcla de PCR consistió de 3.0 µl de Buffer (10X), 1.5 µl de MgCl₂ (30 mM/L), 1.2 µl de dNTPs en solución equimolar (1.25 mM/L), 0.75 µl

de cada primer (10 μ M), 2.0 μ l de ADN (10-50 ng) y 1 unidad de Taq polimerasa en un volumen total de 30.0 μ l. La amplificación se realizó con una desnaturalización inicial de 95.0 $^{\circ}$ C por 10 minutos, seguido de 40 ciclos de 94.0 $^{\circ}$ C por 30 segundos, 55.0 $^{\circ}$ C por 1 minuto y 72.0 $^{\circ}$ C por 1 minuto, con un periodo de extensión final de 72.0 $^{\circ}$ C por 10 minutos.

trnL-trnF

La región *trnT-trnL-trnF* incluye tres genes de tRNA. Los segmentos no codificantes incluyen un intrón del Grupo I y dos espaciadores intergénicos situados entre *trnT-trnL* y *trnL-trnF*. Estas regiones son altamente variables y por lo tanto informativas a nivel infragenérico (Taberlet *et al.*, 1991) y han sido ampliamente usadas para la sistemática de briofitas, pteridofitas, gimnospermas y angiospermas. El espaciador *trnL-trnF* presenta una longitud variable que va desde 100 pb en musgos hasta aproximadamente 500 pb en plantas con semilla. Esta región fue amplificada y secuenciada con los primers reportados por Taberlet *et al.* (1991), y corresponden a: C (5'- CGA AAT CGG TAG ACG CTA CG -3') y F (5'- ATT TGA ACT GGT GAC ACG AG -3'). La mezcla de PCR consistió de 3.0 μ l de Buffer (10X), 1.5 μ l de MgCl₂ (30 mM/L), 1.2 μ l de dNTPs en solución equimolar (1.25 mM/L), 0.75 μ l de cada primer (10 μ M), 2.0 μ l de ADN (10-50 ng) y 1 unidad de Taq polimerasa en un volumen total de 30.0 μ l. La amplificación se realizó con una desnaturalización inicial de 95.0 $^{\circ}$ C por 10 minutos, seguido de 40 ciclos de 94.0 $^{\circ}$ C por 30 segundos, 55.0 $^{\circ}$ C por 1 minuto y 72.0 $^{\circ}$ C por 1 minuto, con un periodo de extensión final de 72.0 $^{\circ}$ C por 10 minutos.

4.2 Hormigas

Las hormigas fueron obtenidas directamente de los domacios de las acacias mirmecófilas durante los meses de febrero del 2005, marzo y julio del 2006 en México (Guerrero, Nayarit, Oaxaca, Quintana Roo y Veracruz), Guatemala y Costa Rica. El material fue fijado en etanol al 70%. Algunos individuos fueron montados en alfileres entomológicos para su identificación. El material de respaldo se encuentra depositado en la Colección de Hormigas del Laboratorio de Ecología y Sistemática de Microartrópodos, de la Facultad de Ciencias, UNAM. El ADN fue obtenido mediante el método de Fenol-Cloroformo (Gadua *et al.*, 1996). Se amplificaron únicamente dos regiones nucleares: *long-wavelength rhodopsin* y *wingless*, mediante el método de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Estas dos regiones fueron seleccionadas debido a

que presentan una gran variabilidad (Ward y Downie, 2005). Para los análisis filogenéticos se obtuvieron secuencias del GenBank a fin de tener una mayor representatividad de hormigas del género neotropical *Pseudomyrmex*. Asimismo, también se incluyeron especies de los géneros *Myrcidris* (género neotropical monotípico) y *Tetraoponera*, éstas últimas constituyen el linaje africano de la familia Pseudomyrmecinae, y por tal motivo fueron consideradas como grupo externo.

Long-wavelength rhodopsin

El gen nuclear *LW Rh* (*long-wavelength rhodopsin*) codifica para rodopsinas, las cuales son receptores de proteínas que realizan el primer paso de la transducción visual en diversos organismos. Este marcador ha sido empleado extensivamente en análisis filogenéticos dentro del orden Hymenoptera tanto a niveles taxonómicos superiores como inferiores, particularmente en abejas (Mardulyn y Cameron 1999, Cameron y Williams 2003) y avispas (Rokas *et al.*, 2002), así como también en mariposas (Hsu *et al.*, 2001) y áfidos (Ortiz-Rivas *et al.*, 2003).

Los primers utilizados corresponden a los registrados por Ward y Downie (2005): **Lr143F** (5'-GAC AAA GTK CCA CCR GAR ATG CT -3') y **Lr639ER** (5'- YTT ACC GRT TCC ATC CRA ACA -3'). La mezcla de PCR consistió de 3.0 µl de Buffer (10X), 1.5 µl de MgCl₂ (30 mM/L), 0.8 µl de dNTPs en solución equimolar (1.25 mM/L), 0.4 µl de cada primer (10 µM), 3.0 µl de ADN (10-50 ng) y 1 unidad de Taq polimerasa en un volumen total de 30.0 µl. La amplificación se realizó con una desnaturalización inicial de 95.0 °C por 1 minuto, seguido de 40 ciclos de 95.0 °C por 30 segundos, 50.0 °C por 30 segundos y 72.0 °C por 1.30 minutos, con un periodo de extensión final de 72.0 °C por 3 minutos.

Wingless

Wingless es un gen nuclear de una sola copia (Campbell *et al.*, 2000) perteneciente a la familia *Wnt*, la cual consta de nueve genes reguladores del desarrollo que se caracterizan por presentar una alta tasa de substitución, y para los cuales se ha propuesto una diferenciación estructural y funcional en un período de tiempo relativamente corto de aproximadamente 100 millones de

años (Sidow, 1992). Esta familia génica es muy importante en el patrón de formación de alas en adultos de una gran variedad de insectos (Carroll *et al.*, 1994, Neumann y Cohen 1996, citados en Brower y De Salle, 1998).

Los primers utilizados para amplificar este gen corresponden a: **Wg578F** (5'- TGC ACN GTG AAR ACY TGC TGG ATG CG -3'; Ward y Downie 2005) y **Wg1032R** (5'- ACY TCG CAG CAC CAR TGG AA -3'; Abouheif y Wray, 2002). La mezcla de PCR consistió de 3.0 µl de Buffer (10X), 1.5 µl de MgCl₂ (30 mM/L), 0.8 µl de dNTPs en solución equimolar (1.25 mM/L), 0.4 µl de cada primer (10 µM), 3.0 µl de ADN (10-50 ng) y 1 unidad de Taq polimerasa en un volumen total de 30.0 µl. La amplificación se realizó con una desnaturalización inicial de 95.0 °C por 1 minuto, seguido de 40 ciclos de 95.0 °C por 30 segundos, 52.0 °C por 30 segundos y 72.0 °C por 1.30 minutos, con un periodo de extensión final de 72.0 °C por 3 minutos.

4.3 Análisis filogenéticos

Las secuencias obtenidas tanto de mimosoideas como de hormigas fueron alineadas utilizando Clustal W (Thompson *et al.*, 1994) en BioEdit 7.0.0 (Hall, 1997). El programa Modeltest 3.7 (Posada y Crandall, 1998) fue utilizado para obtener el modelo de sustitución de mejor ajuste para cada región de ADN. Los análisis filogenéticos se realizaron en MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001) implementando particiones de datos y considerando el modelo de sustitución de mejor ajuste. Los datos fueron analizados con 5,000,000 de generaciones y dos corridas paralelas, cada una con una cadena fría y tres cadenas calientes (temp= 0.2). El muestreo de árboles se realizó cada 200 generaciones. Las fiogenias de los grupos involucrados en el mutualismo fueron comparadas mediante el programa TreeMap (Page, 1994).

4.4 Tiempos de divergencia

Los tiempos de divergencia (edades medias, mínimas y máximas) fueron estimados usando el método de verosimilitud penalizada (Sanderson, 2002) en el programa r8s 1.71 (Sanderson, 2003). Para hormigas, estas estimaciones se realizaron en 103 árboles con longitudes de ramas topológicamente idénticos al árbol bayesiano de mayor probabilidad posterior (MAP). Para

mimosoideas, al hacer la búsqueda de árboles idénticos al MAP, sólo se obtuvieron tres (tanto para las regiones nucleares como la de cloroplasto), razón por la cual se realizó una nueva restricción, tomando como base al árbol bayesiano consenso y de esta manera se obtuvieron 83 árboles para *ITS*, 308 árboles para *PEPC* y 72 árboles con los datos de cloroplasto.

Una vez obtenidos los árboles con longitudes de ramas, se utilizaron dos puntos de calibración tanto para mimosoideas como para hormigas. Para las hormigas, se utilizó una edad de 44.10 Ma para el género *Tetraoponera*, y un intervalo de edad de 15.0 – 20.0 Ma para el clado que incluye a todas las especies del género *Pseudomyrmex*. Estas edades están basadas en registros fósiles de ámbar Báltico y Dominicano respectivamente (Ward, 1992; Dlussky, 1997). Para mimosoideas, se consideró un intervalo de edad 22.6 – 40.4 Ma para el género *Prosopis*, y una edad mínima de 15.0 Ma para el clado que incluye a todas las especies aquí analizadas excepto *Prosopis*. Estas edades están basadas en el nodo 11 y en el nodo G respectivamente de Lavin *et al.* (2005). Cabe señalar que la edad reportada para el nodo G en Lavin *et al.* (2005: pág. 581) es de 20 Ma, sin embargo, en el apéndice de dicho trabajo (pág. 593) mencionan que la edad asignada al nodo G es de 15 Ma. Esta situación fue aclarada (com. pers. de Susana Magallón con Mat Lavin), de tal forma que la edad correcta asignada para este nodo corresponde a 15 Ma.

4.5 Tasas de diversificación

Las tasas de diversificación fueron estimadas principalmente para los grupos monofiléticos de mimosoideas y de hormigas. Se utilizaron los métodos de Yule (1925) y de Magallón y Sanderson (2001). La propuesta de Yule (1925) supone una tasa constante de diversificación de linajes, sin extinciones, en otras palabras, el modelo es de sólo nacimientos (“pure birth”). La fórmula corresponde a $SR = (\ln n_1 - \ln n_0) / t$, en donde n_1 es el número estimado de especies existentes, obtenido a partir de la literatura; n_0 es la diversidad inicial considerada como 1; y t es el tiempo en millones de años. A pesar de su simplicidad, este método ha sido ampliamente utilizado y provee de una buena aproximación para estimar las tasas de diversificación (Sanderson y Donoghue, 1994).

En contraparte, Magallón y Sanderson (2001) consideran tanto los procesos de especiación como los de extinción de linajes, aplicando el método de estimador de momentos (Rohatgi, 1976; citado en Magallón y Sanderson, 2001), el cual es un modelo estocástico de procesos de nacimiento-muerte (especiación-extinción) que permite la obtención de las tasas de diversificación asumiendo que no hay extinción ($\epsilon = 0.0$) y bajo una tasa relativamente alta de extinción ($\epsilon = 0.9$) empleando la siguiente fórmula, que corresponde a los grupos corona:

$$r_{\epsilon} = 1/t \{ \log [\frac{1}{2} n (1 - \epsilon^2) + 2\epsilon + \frac{1}{2} (1 - \epsilon) \sqrt{ n (n\epsilon^2 - 8\epsilon + 2 n\epsilon + n) }] - \log 2 \}$$

Cabe señalar que en el presente estudio se considera que los grupos obtenidos en las filogenias corresponden a grupos corona y no a grupos troncales. Los grupos corona representan grupos monofiléticos que incluyen a todos los miembros existentes de un clado, aunque pueden incluir linajes que están extintos al presente pero que divergieron después del ancestro común más reciente de todos los representantes existentes. La edad de este grupo corresponde al tiempo de la primera divergencia filogenética dentro del grupo corona (Magallón y Sanderson, 2001). Los grupos troncales se definen como grupos monofiléticos más inclusivos que contienen a todos los miembros existentes de un clado y pueden incluir taxa extintos que divergieron a partir del linaje que conlleva al grupo corona, mismos que deben estar estrechamente relacionados más al grupo corona que a cualquier otro grupo viviente. La edad de este grupo puede ser considerablemente más antigua y corresponde al tiempo de divergencia entre el grupo corona en cuestión y su grupo hermano existente (Doyle y Donoghue, 1993; Magallón y Sanderson, 2001).

5. Resultados

5.1 Hormigas asociadas a acacias mirmecófilas neotropicales.

Se colectaron un total de 18 especies de hormigas correspondientes a 4 géneros y 3 subfamilias, en 9 especies de acacias mirmecófilas neotropicales. Los géneros corresponden a: *Cephalotes* (2 especies) y *Crematogaster* (4 especies) de la subfamilia Myrmecinae; *Dorymyrmex* (1 especie) de la subfamilia Dolichoderinae y *Pseudomyrmex* (11 especies) de la subfamilia Pseudomyrmecinae. Las especies de *Pseudomyrmex* se ubicaron dentro de seis grupos *sensu* Ward (1989): *Pseudomyrmex ferrugineus* (5 especies), *P. gracilis* (1 especie), *P. pallens* (2 especies), *P. sericeus* (1 especie), *P. subtilissimus* (1 especie) y *P. tenuis* (1 especie) (Tabla 1). Cabe señalar que en dos individuos de *Acacia cornigera* (SL-41, Veracruz y SL-48, Oaxaca) se registró la coexistencia de *Pseudomyrmex* y *Crematogaster*, además, en una de ellas (SL-41, Veracruz) se encontró una colonia de homópteros.

Tabla 1. Lista de hormigas encontradas en domacios de acacias mirmecófilas neotropicales. El número de voucher corresponde al ejemplar de *Acacia* colectado: ADS = Alfonso Delgado Salinas; LT= Laura Trejo Hernández; NFA= Nuria Flores Abreu; Olson= Mark Olson; SL= Sandra Luz Gómez Acevedo; VCC= Verónica Cepeda Cornejo. Localidad: 1= Antón Lizardo, Veracruz; 2= Cancún, Q. Roo; 3= Carr. Pinotepa Nacional, Oaxaca; 4= La Tobará, Nayarit; 5= Los Tuxtlas, Veracruz; 6= Monte de las Salinas, Guerrero; 7= Presa Miguel Alemán, Oaxaca; 8= Mpio. Petén, Guatemala; 9= Mpio. Sacatepequez, Guatemala; 10= Palo Verde, Costa Rica; 11= Esquíputas, Costa Rica; 12= Chilpancingo, Guerrero; 13= Mpio. Copala, Guerrero.

Especie de hormiga	Asociada a	Voucher	Localidad
Subfamilia Dolichoderinae			
<i>Dorymyrmex smithi</i> Cole	<i>A. hindsii</i>	NFA-1	4
Subfamilia Myrmecinae			
<i>Cephalotes</i> sp. 1	<i>A. cedilloi</i>	SL-65	2
<i>Cephalotes</i> sp. 2	<i>A. hindsii</i>	ADS 2501	12
<i>Crematogaster torosa</i> Mayr	<i>A. cedilloi</i>	SL-65	2
	<i>A. cedilloi</i>	SL-68	2

<i>Crematogaster</i> sp. 1	<i>A. cornigera</i>	SL-48	7
<i>Crematogaster</i> sp. 2	<i>A. cornigera</i>	SL-41	1
<i>Crematogaster</i> sp. 3	<i>A. hindsii</i>	ADS 2501	12
Subfamilia Pseudomyrmecinae			
Grupo <i>Pseudomyrmex ferrugineus</i>			
<i>P. ferrugineus</i> (Smith)	<i>A. chiapensis</i>	SL-43	7
	<i>A. cornigera</i>	SL-38	1
	<i>A. cornigera</i>	SL-50	7
	<i>A. cornigera</i>	LT1(2)	9
	<i>A. collinsii</i>	SL-70	2
	<i>A. hindsii</i>	SL-60	3
	<i>A. hindsii</i>	ADS 2383	13
	<i>A. mayana</i>	VCC-1	5
<i>P. flavicornis</i> (Smith)	<i>A. collinsii</i>	Olson1045	10
	<i>A. cornigera</i>	Olson1048	10
<i>P. mixtecus</i> Ward	<i>A. cornigera</i>	SL-41	1
<i>P. peperi</i> (Forel)	<i>A. cedilloi</i>	SL-66	2
	<i>A. cornigera</i>	SL-40	1
	<i>A. cornigera</i>	SL-45	7
	<i>A. cornigera</i>	SL-49	7
<i>P. veneficus</i> (Wheeler)	<i>A. cornigera</i>	SL-57	6
	<i>A. hindsii</i>	SL-54	6
	<i>A. hindsii</i>	SL-58	3
	<i>A. hindsii</i>	SL-59	3
	<i>A. hindsii</i>	NFA-1	4
Grupo <i>Pseudomyrmex gracilis</i>			
<i>P. gracilis</i> (Fabricius)	<i>A. cedilloi</i>	SL-67	2
Grupo <i>Pseudomyrmex pallens</i>			
<i>P. apache</i> Creighton	<i>A. chiapensis</i>	SL-44	7

<i>P. pallens</i> (Mayr)	<i>Acacia sp.</i>	Olson1062	11
Grupo <i>Pseudomyrmex sericeus</i>			
<i>P. ita</i> (Forel)	<i>A. sphaerocephala</i>	SL-62	3
Grupo <i>Pseudomyrmex subtilissimus</i>			
<i>P. subtilissimus</i> (Emery)	<i>A. collinsii</i>	Olson1043	10
	<i>A. cornigera</i>	SL-48	7
Grupo <i>Pseudomyrmex tenuis</i>			
<i>P. boopis</i> (Roger)	<i>A. collinsii</i>	LT-4	8
	<i>A. cornigera</i>	SL-39	1

5.2 REGIONES NUCLEARES DE MIMOSOIDEAS

5.2.1 Amplificación y secuenciación de la región ITS.

La amplificación y secuenciación de la región nuclear *ITS* fue complicada y sólo se pudo obtener para 11 especies, las demás fueron obtenidas del GenBank. Para el análisis filogenético se utilizaron en total 64 secuencias, de las cuales 14 pertenecen al subgénero *Acacia*; 4 especies al subgénero *Aculeiferum*, tres de ellas del grupo *A. coulteri* (= *Mariosousa*); 32 especies al subgénero *Phyllodineae*, 2 especies al género *Acaciella*, 9 especies de la tribu Ingeae y 3 especies de la tribu Mimoseae (Tabla 2). Las especies de *Prosopis* se consideraron como grupo externo. El modelo de mejor ajuste para los datos, en base al Criterio de Información de Akaike, corresponde a GTR+I+G.

Tabla 2. Lista de mimosoideas utilizadas para el análisis con la region nuclear *ITS*. Se indican los números de catálogo del GenBank. ^a= Especies secuenciadas en el presente estudio. ^b= Secuencias obtenidas de Brown *et al.*, 2008. ^c= Secuencia obtenida de Murphy, D. y F. Udovicic (Datos no publicados). ^d= Secuencias obtenidas de Murphy *et al.*, 2003. ^e= Secuencia obtenida de Howarth *et al.*, 2007. ^f= Secuencia obtenida de Daniel, C. y W. Knoess (Datos no publicados). ^g= Secuencia obtenida de Hughes *et al.*, 2003. ^h= Secuencias obtenidas de Bessega *et al.*, 2006.

	Especie	ITS		Especie	ITS
Subgénero <i>Acacia</i>			32	<i>A. genistifolia</i>	AF487770 ^d
Especies mirmecófilas neotropicales			33	<i>A. guinetii</i>	AF487757 ^d
1	<i>A. cedilloi</i>	a	34	<i>A. jonesii</i>	AF487776 ^d
2	<i>A. chiapensis</i>	a	35	<i>A. lateriticola</i>	AF487774 ^d
3	<i>A. collinsii</i>	EF638216 ^b	36	<i>A. leucoclada</i>	AF487777 ^d
4	<i>A. cornigera</i>	a	37	<i>A. mearnsii</i>	AY864897 ^e
5	<i>A. gentlei</i>	a	38	<i>A. melanoxylon</i>	AF360723 ^d
6	<i>A. globulifera</i>	a	39	<i>A. multispicata</i>	AF487761 ^d
7	<i>A. hindsii</i>	a	40	<i>A. penninervis</i>	EF638168 ^b
8	<i>A. hirtipes</i>	a	41	<i>A. pentadenia</i>	AF487773 ^d
9	<i>A. mayana</i>	a	42	<i>A. platycarpa</i>	AF360724 ^d

Especies no mirmeecófilas del Nuevo Mundo			43	<i>A. rossei</i>	AF487756 ^d
10	<i>A. cochliacantha</i>	a	44	<i>A. spectabilis</i>	AF487778 ^d
11	<i>A. constricta</i>	a	45	<i>A. spinescens</i>	AF360700 ^d
12	<i>A. farnesiana</i>	AF360728 ^c	46	<i>A. suaveolens</i>	AF487768 ^d
13	<i>A. macracantha</i>	a	47	<i>A. translucens</i>	AF360722 ^d
14	<i>A. schaffneri</i>	EF638221 ^b	48	<i>A. tumida</i>	AF360709 ^d
Subgénero <i>Aculeiferum</i>			49	<i>A. victoriae</i>	AF487772 ^d
15	<i>A. coulteri</i>	EF638198 ^b	50	<i>A. wanyu</i>	AF487762 ^d
16	<i>A. dolichostachya</i>	EF638199 ^b	Género <i>Acaciella</i>		
17	<i>A. feddeana</i>	a	51	<i>Acaciella angustissima</i>	EF638169 ^b
18	<i>A. salazarii</i>	EF638200 ^b	52	<i>Acaciella painteri</i>	a
Subgénero <i>Phyllodineae</i>			Tribu <i>Ingeae</i>		
19	<i>A. acradenia</i>	AF487765 ^d	53	<i>Albizia adinocephala</i>	EF638170 ^b
20	<i>A. adoxa</i>	AF360715 ^d	54	<i>Albizia julibrissin</i>	FJ572041 ^f
21	<i>A. aphylla</i>	AF487758 ^d	55	<i>Albizia saponaria</i>	EF638171 ^b
22	<i>A. aulacocarpa</i>	AF487766 ^d	56	<i>Calliandra dysantha</i>	EF638180 ^b
23	<i>A. binervata</i>	AF487775 ^d	57	<i>Calliandra foliosa</i>	EF638181 ^b
24	<i>A. blakelyi</i>	AF487759 ^d	58	<i>Havardia pallens</i>	EF638194 ^b
25	<i>A. chrysocephala</i>	AF487760 ^d	59	<i>Inga edulis</i>	a
26	<i>A. colei</i>	AF360710 ^d	60	<i>Lysiloma divaricatum</i>	AF487755 ^d
27	<i>A. cognata</i>	AF487771 ^d	61	<i>Pithecellobium dulce</i>	EF638206 ^b
28	<i>A. currani</i>	AF487764 ^d	Tribu <i>Mimoseae</i>		
29	<i>A. cyperophylla</i>	AF487767 ^d	62	<i>Mimosa guatemalensis</i>	AF458784 ^g
30	<i>A. denticulosa</i>	AF487763 ^d	63	<i>Prosopis juliflora</i>	DQ323140 ^h
31	<i>A. fasciculifera</i>	AF487769 ^d	64	<i>Prosopis laevigata</i>	DQ323138 ^h

5.2.2 Filogenia y tiempos de divergencia

El árbol filogenético con longitudes de ramas, resultado de la matriz con 643 sitios para los 64 taxa se presenta en la Fig. 3. Las letras de los nodos mencionados en esta sección corresponden a esta figura. Con excepción de *Lysiloma divaricatum*, el resto de las especies se encuentra en alguno de los cuatro clados principales (C, D, E, P), mismos que derivan del clado B. La mayoría de los grupos obtenidos en esta filogenia se encuentran apoyados por probabilidades posteriores (PP) altas, de 0.9 a 1.0 (Fig. 3). Las edades de divergencia obtenidas a partir de los 83 árboles semejantes al árbol bayesiano consenso se presentan en la Tabla 3.

• Subgénero *Acacia*

Las 14 especies de este subgénero no resultaron monofiléticas, ya que *Acaciella angustissima* se agrupa junto con estos taxa en el clado J. La edad de divergencia para este nodo es de 8.07 ± 2.45 Ma, correspondiente al Mioceno. Las especies de los grupos *Acacia farnesiana* (K: 3.28 ± 1.55 Ma) y *A. macracantha* (N: 2.00 ± 1.17 Ma) resultaron monofiléticas y de origen en el Plioceno. El grupo mirmecófilo no resultó monofilético, debido a que *A. collinsii* (L: 4.12 ± 1.60 Ma) quedó fuera del clado que incluye a las ocho especies restantes (O: 2.30 ± 1.09 Ma). Este último grupo se encuentra estrechamente relacionado con las especies del grupo *A. macracantha* a partir de un nodo con una edad estimada en el Plioceno (M: 3.11 ± 1.31 Ma).

• Subgénero *Aculeiferum*

Las cuatro especies incluidas no resultaron monofiléticas. *Acacia feddeana* se agrupa con una especie de la tribu Ingeae en un nodo con una edad correspondiente al Mioceno (D: 7.45 ± 3.66 Ma). Las tres especies restantes, que corresponden al grupo *A. coulteri* (= *Mariosousa*) se ubican en el clado G, con un origen estimado en el Plioceno (4.71 ± 2.27 Ma).

• Subgénero *Phyllodineae*

Las 32 especies de este subgénero forman un grupo monofilético (P), con una edad de divergencia correspondiente al Mioceno (10.31 ± 2.66 Ma).

- *Género Acaciella*

Las dos especies aquí incluidas no resultaron monofiléticas. Como se mencionó anteriormente, *A. angustissima* se ubica dentro del clado de las especies del subgénero *Acacia* (J: 8.07 ± 2.45 Ma), en tanto que *A. painteri* se encuentra como taxa hermano de *Mimosa guatemalensis* a partir de un nodo de edad estimada en el Plioceno (I: 5.12 ± 2.42 Ma).

- *Tribu Ingeae*

Las especies de esta tribu no constituyen un grupo monofilético y se encuentran agrupadas en cuatro clados. Uno de ellos incluye a la mayoría de estas especies con un origen en el Mioceno (C: 7.74 ± 3.08 Ma). El otro grupo incluye a *Inga edulis* junto con *Acacia feddeana* y una edad de divergencia cercana a la anterior (D: 7.45 ± 3.66 Ma). El tercer grupo incluye a dos de tres especies del género *Albizia* (H: 3.38 ± 1.83 Ma). La última especie de esta tribu, *Lysiloma divaricatum* se encuentra dentro del clado general B (16.56 ± 1.16 Ma).

- *Tribu Mimoseae*

Las tres especies de esta tribu no se agrupan como monofiléticas. Las especies de *Prosopis* representan el grupo externo y se ubican en el nodo A, al cual se asignó el intervalo de 22.6 - 40.4 Ma, como punto de calibración. *Mimosa guatemalensis* se encuentra agrupada con una especie del género *Acaciella* en el nodo I (5.12 ± 2.42 Ma).

5.2.3 Tasas de diversificación

Las tasas de diversificación fueron obtenidas para los taxa que resultaron monofiléticos y corresponden a los grupos *Acacia farnesiana*, *A. macracantha* (ambos del subgénero *Acacia*) y para el subgénero *Phyllodineae*. Bajo el modelo de Yule (1925), el grupo *A. macracantha* presenta el mayor valor de diversificación de linajes obtenido, seguido del grupo *A. farnesiana* y finalmente el subgénero *Phyllodineae*. El modelo de Magallón y Sanderson (2001) señalan también al grupo *A. macracantha* como el de mayor valor, en tanto que el grupo *A. farnesiana* presenta la tasa más baja (Tabla 4).

Figura 3. Árbol bayesiano consenso para mimosoideas, con base en la región nuclear *ITS*. Las líneas gruesas representan las ramas con probabilidades posteriores de 0.90 a 1.00. Las líneas punteadas representan ramas con valores de apoyo de 0.57 a 0.89.

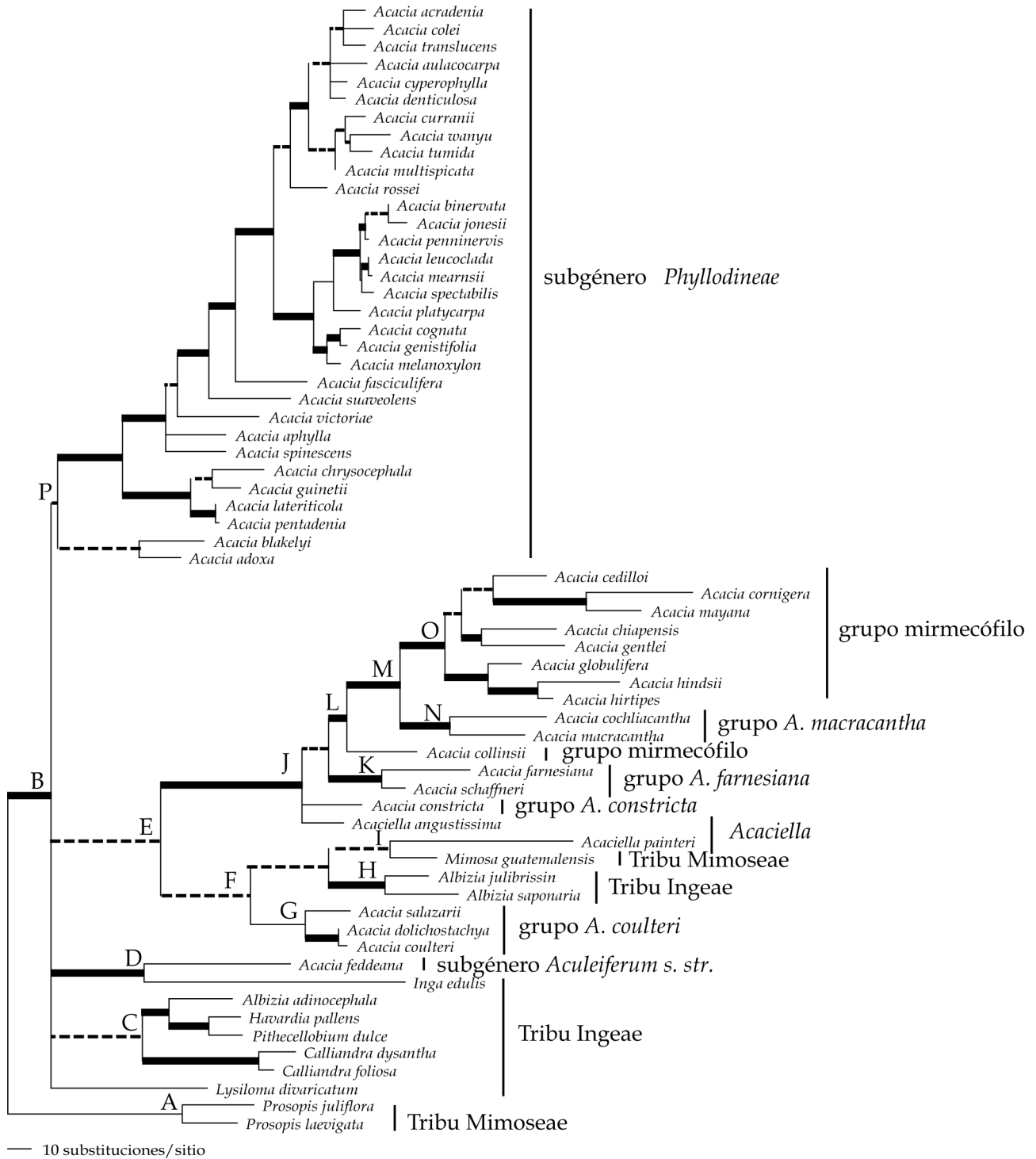


Tabla 3. Edades estimadas derivadas de los 83 árboles topológicamente idénticos al árbol bayesiano consenso de mimosoideas basado en la región nuclear *ITS*. Las letras corresponden a los clados mencionados en la Fig. 3. Ma= millones de años; SD= desviación estándar.

Nodo	Edad media (Ma) \pm SD	Edad mínima (Ma)	Edad máxima (Ma)
B	16.56 \pm 1.16	15.00	18.44
C	7.74 \pm 3.08	2.53	16.53
D	7.45 \pm 3.66	1.94	16.91
E	10.35 \pm 2.87	5.17	17.77
F	7.24 \pm 2.70	2.62	14.16
G	4.71 \pm 2.27	1.54	11.21
H	3.38 \pm 1.83	0.73	8.20
I	5.12 \pm 2.42	1.23	12.78
J	8.07 \pm 2.45	3.53	15.68
K	3.28 \pm 1.55	0.66	8.55
L	4.12 \pm 1.60	1.35	9.96
M	3.11 \pm 1.31	0.87	6.43
N	2.00 \pm 1.17	0.32	5.67
O	2.30 \pm 1.09	0.63	5.12
P	10.31 \pm 2.66	4.75	17.24

Tabla 4. Tasas de diversificación estimadas bajo los modelos de Yule (1925) y de Magallón y Sanderson (2001) para grupos de mimosoideas y de hormigas. Cabe resaltar que el modelo de Yule (1925) y el de Magallón y Sanderson (2001) con $\epsilon=0.0$, corresponden al mismo proceso, en el cual se considera sólo "nacimientos" (especiación sin extinción). El número de especies corresponde al total para cada grupo, el número dentro del paréntesis indica las especies incluidas en el presente estudio. *= En el análisis de cloroplasto, el género *Acaciella* no resultó

monofilético, sin embargo, se obtuvieron los valores de diversificación tomando en consideración al grupo que incluye a la mayoría de estas especies aquí incluidas.

Grupo	Figura	Clado	Número de especies	Edad media (Ma)	Yule	Magallón y Sanderson	
						$\epsilon=0.0$	$\epsilon=0.9$
Mimosoideas							
Subgénero <i>Acacia</i>	5	C	161 (27)	14.88	0.341	0.294	0.186
Subgénero <i>Acacia</i> Viejo Mundo	5	D	73 (5)	10.85	0.395	0.331	0.189
Subgénero <i>Acacia</i> Nuevo Mundo	5	G	53 (22)	12.34	0.321	0.265	0.143
Grupo <i>A. constricta</i>	5	H	5 (3)	7.93	0.201	0.115	0.035
Grupo <i>A. farnesiana</i>	3	K	11 (2)	3.28	0.731	0.519	0.194
Grupo <i>A. farnesiana</i>	5	I	11 (4)	6.31	0.378	0.270	0.101
Grupo <i>A. macracantha</i>	3	N	7 (2)	2.00	0.972	0.626	0.207
Grupo <i>A. macracantha</i>	5	K	7 (3)	4.57	0.424	0.274	0.090
Grupo <i>A. acuífera</i>	5	M	12 (2)	5.42	0.457	0.330	0.127
Grupo mirmecófilo	5	L	15 (10)	5.44	0.496	0.370	0.151
Subgénero <i>Phyllodineae</i>	3	P	1045 (32)	10.31	0.674	0.607	0.446
Subgénero <i>Phyllodineae</i>	5	S	1045 (12)	3.33	2.087	1.879	1.383
Género <i>Acaciella</i>	4	I	15 (4)	3.72	0.727	0.541	0.221
			14 (4)		0.709	0.523	0.209
Género <i>Acaciella</i>	5	Q	14* (6)	4.67	0.563	0.416	0.166
Hormigas							
Género <i>Pseudomyrmex</i>	7	C	200 (39)	20.00	0.264	0.230	0.149
Grupo <i>P. tenuis</i>	7	E	4 (4)	9.38	0.147	0.073	0.021
Grupo <i>P. subtilissimus</i>	7	H	4 (2)	3.38	0.410	0.205	0.059
Grupo <i>P. gracilis</i>	7	I	31 (3)	3.76	0.913	0.728	0.354
Grupo <i>P. sericeus</i>	7	J	15 (3)	2.75	0.984	0.732	0.299
Grupo <i>P. ferrugineus</i>	7	N	10 (8)	4.58	0.502	0.351	0.128
Grupo <i>P. pallidus</i>	7	P	27 (4)	2.90	1.136	0.897	0.423
Grupo <i>P. oculatus</i>	7	S	11 (2)	2.63	0.911	0.648	0.243

5.2.4 Amplificación y secuenciación de la región PEPC.

La amplificación y secuenciación fue relativamente fácil para la mayoría de los taxa muestreados. Cabe señalar que en la mayoría de los casos se obtuvo sólo una banda correspondiente a 400 pb, en tanto que para otros taxa, se observaron una o dos bandas adicionales pero inferiores a este peso. En estos casos, se procedió a extraer sólo la de tamaño correspondiente a los 400 pb. Para *Acacia anegadensis* y *Acacia mearnsii* se tuvieron que realizar clonas debido a que, aún cuando se tenía sólo una banda del peso adecuado, la secuenciación indicó la presencia de más de una copia. En el análisis filogenético se ocuparon 19 especies del subgénero *Acacia* (una de ellas con cuatro clonas); 6 especies del subgénero *Aculeiferum*, de las cuales 3 pertenecen al grupo *A. coulteri* (= *Mariosousa*); dos especies del subgénero *Phyllodineae* (una de ellas con cinco clonas); 4 especies del género *Acaciella*; 3 especies de la tribu Ingeae y una especie de la tribu Mimoseae, *Prosopis laevigata*, la cual se utilizó como grupo externo (Tabla 5).

Tabla 5. Lista de mimosoideas utilizadas para el análisis con la region nuclear PEPC. Todas las especies indicadas en la tabla fueron secuenciadas en el presente estudio. c1, c2, c3, c4 y c5 indican el número de clona para *A. anegadensis* y *A. mearnsii*.

	Especie		Especie
Subgénero <i>Acacia</i>		Subgénero <i>Aculeiferum s. str.</i>	
Especies mirmecófilas neotropicales		23	<i>A. feddeana</i>
1	<i>A. cedilloi</i>	24	<i>A. reniformis</i>
2	<i>A. chiapensis</i>	25	<i>A. visco</i>
3	<i>A. collinsii</i>	Grupo <i>A. coulteri</i>	
4	<i>A. cornigera</i>	26	<i>A. centralis</i>
5	<i>A. gentlei</i>	27	<i>A. dolichostachya</i>
6	<i>A. globulifera</i>	28	<i>A. willardiana</i>
7	<i>A. hindsii</i>	Subgénero <i>Phyllodineae</i>	
8	<i>A. hirtipes</i>	29	<i>A. mearnsii</i> – c1
9	<i>A. mayana</i>	30	<i>A. mearnsii</i> – c2

10	<i>A. sphaerocephala</i>	31	<i>A. mearnsii</i> - c3
Especies no mirmeecófilas del Nuevo Mundo		32	<i>A. mearnsii</i> - c4
11	<i>A. anegadensis</i> - c1	33	<i>A. mearnsii</i> - c5
12	<i>A. anegadensis</i> - c2	34	<i>A. saligna</i>
13	<i>A. anegadensis</i> - c3	Género <i>Acaciella</i>	
14	<i>A. anegadensis</i> - c4	35	<i>Acaciella bicolor</i>
15	<i>A. cochliacantha</i>	36	<i>Acaciella painteri</i>
16	<i>A. constricta</i>	37	<i>Acaciella rosei</i>
17	<i>A. farnesiana</i>	38	<i>Acaciella sousae</i>
18	<i>A. macracantha</i>	Tribu Ingeae	
19	<i>A. roigii</i>	39	<i>Inga edulis</i>
20	<i>A. tortuosa</i>	40	<i>Lysiloma divaricatum</i>
Especies mirmeecófilas del Viejo Mundo		41	<i>Pithecellobium dulce</i>
21	<i>A. drepanolobium</i>	Tribu Mimoseae	
22	<i>A. seyal</i>	42	<i>Prosopis laevigata</i>

5.2.5 Filogenia y tiempos de divergencia

La hipótesis filogenética con longitudes de ramas resultante de 409 sitios para los 42 taxa se presenta en la Fig. 4, las letras de los nodos mencionados en esta sección corresponden a esta Fig.. La mayoría de los especies se ubican en dos clados (G, O), mismos que derivan del nodo F, cuya edad corresponde al Mioceno (8.36 ± 1.67 Ma). Las edades de divergencia obtenidas a partir de los 308 árboles semejantes al árbol bayesiano de consenso se encuentran en la Tabla 6.

• Subgénero *Acacia*

Dieciséis especies de este subgénero, junto con la clona número cuatro de *A. anegadensis* se ubican en el clado O (6.92 ± 1.69 Ma), con un origen en el Mioceno, sin embargo no resultan monofiléticas debido a que dentro de este mismo clado se encuentra una especie del subgénero *Aculeiferum*, específicamente del grupo *A. coulteri* (clado P: 4.14 ± 1.57 Ma) y cuatro clonas de *A.*

mearnsii (subgénero *Phyllodineae*, clado Q: 2.95 ± 1.31 Ma). Los taxa de este subgénero que quedan fuera de este clado corresponden a tres clonas de *A. anegadensis*, una de ellas en el clado G (6.64 ± 1.69 Ma), como grupo hermano de algunas especies del subgénero *Aculeiferum*, de *Acacia saligna* (subgénero *Phyllodineae*), del género *Acaciella* y de la tribu Ingeae. Las dos clonas restantes se agrupan en el clado E (6.54 ± 2.24 Ma), con un origen en el Mioceno.

Las 10 acacias mirmecófilas neotropicales no resultaron como monofiléticas. Nueve de ellas, junto con *Acacia macracantha*, se ubican en el clado V (2.29 ± 1.09 Ma), con una edad de divergencia correspondiente al Plioceno. La décima, *A. hirtipes* se agrupa junto con *A. tortuosa* en el clado S (1.45 ± 0.85), cuya edad corresponde al Pleistoceno. Las dos especies del grupo *A. macracantha* (*A. macracantha* y *A. cochliacantha*) no se encuentran juntas, y se localizan en los clados V (2.29 ± 1.09 Ma) y R (2.91 ± 1.08 Ma). *Acacia constricta* se representa como taxa hermano de *A. drepanolobium* (U: 0.90 ± 0.61 Ma) y éste clado como taxa hermano de *A. seyal* (T: 1.36 ± 0.80 Ma).

- Subgénero *Aculeiferum*

Las seis especies incluidas de este subgénero no se agrupan como monofiléticas. *A. dolichostachya* (gpo. *A. coulteri*) se encuentra en el clado P (4.14 ± 1.57 Ma) con un origen en el Plioceno, y como taxa hermano de *A. mearnsii*. Las otras dos especies del grupo *A. coulteri*, *A. centralis* y *A. willardiana* se ubican en el nodo N (1.09 ± 0.70 Ma) con una edad de divergencia correspondiente al Pleistoceno. *A. feddeana* y *A. reniformis*, con origen en el Plioceno, se ubican dentro del clado J (3.92 ± 1.38 Ma). *A. visco* se encuentra en la base del clado que incluye a todas las especies incluidas, excepto *Prosopis laevigata* (B).

- Subgénero *Phyllodineae*

Sólo se incluyeron dos especies de este subgénero, *A. saligna* y *A. mearnsii*, para la cual se obtuvieron cinco clonas, cuatro de ellas se agrupan en el clado Q con una edad estimada en el Plioceno (2.95 ± 1.31 Ma); y la quinta en el nodo C, con una edad más antigua, correspondiente al Mioceno (12.33 ± 1.45 Ma). Estas dos especies no resultaron monofiléticas, *A. saligna* (L: 1.16 ± 0.73 Ma) representa el taxa hermano de dos especies de la tribu Ingeae.

- *Género Acaciella*

Las cuatro especies de este género se agrupan en el clado I, con un origen en el Plioceno (3.72 ± 1.46 Ma). Se encuentran como grupo hermano del clado J (3.92 ± 1.38), cuya edad es muy semejante a la anterior. Este último clado incluye a cuatro especies del subgénero *Aculeiferum*, una especie del subgénero *Phyllodineae* y tres especies de la tribu Ingeae. Ambos clados (I, J), derivan de un nodo situado en el Plioceno (H: 5.08 ± 1.53 Ma).

- *Tribu Ingeae*

Los tres géneros representantes de esta tribu no forman un grupo monofilético. *Inga edulis* se ubica en el clado K, cuya edad de divergencia se sitúa en el Plioceno y *Lysiloma divaricatum*, junto con *Pithecellobium dulce* en el nodo M, con un origen estimado en el Holoceno.

- *Tribu Mimoseae*

Prosopis laevigata, único representante de esta tribu en el presente estudio, se ubica como grupo externo a todas las demás especies incluidas (A).

5.2.6 Tasas de diversificación

La tasa de diversificación fue obtenida sólo para las cuatro especies del género *Acaciella*, por ser el único grupo monofilético en el análisis con la región nuclear *PEPC* y corresponde a 0.727 sp/Ma bajo el modelo de Yule (1925) y a $r_{0,0} = 0.541$, $r_{0,9} = 0.221$, bajo el modelo de Magallón y Sanderson (2001) (Tabla 4).

Figura 4. Árbol bayesiano consenso para mimosoideas obtenido a partir de la región nuclear *PEPC*. Las letras indican los grupos mencionados en el texto. Las líneas horizontales gruesas representan ramas con probabilidad posterior de 0.9 a 1.0. Las líneas punteadas representan ramas con probabilidad posterior de 0.55 a 0.89.

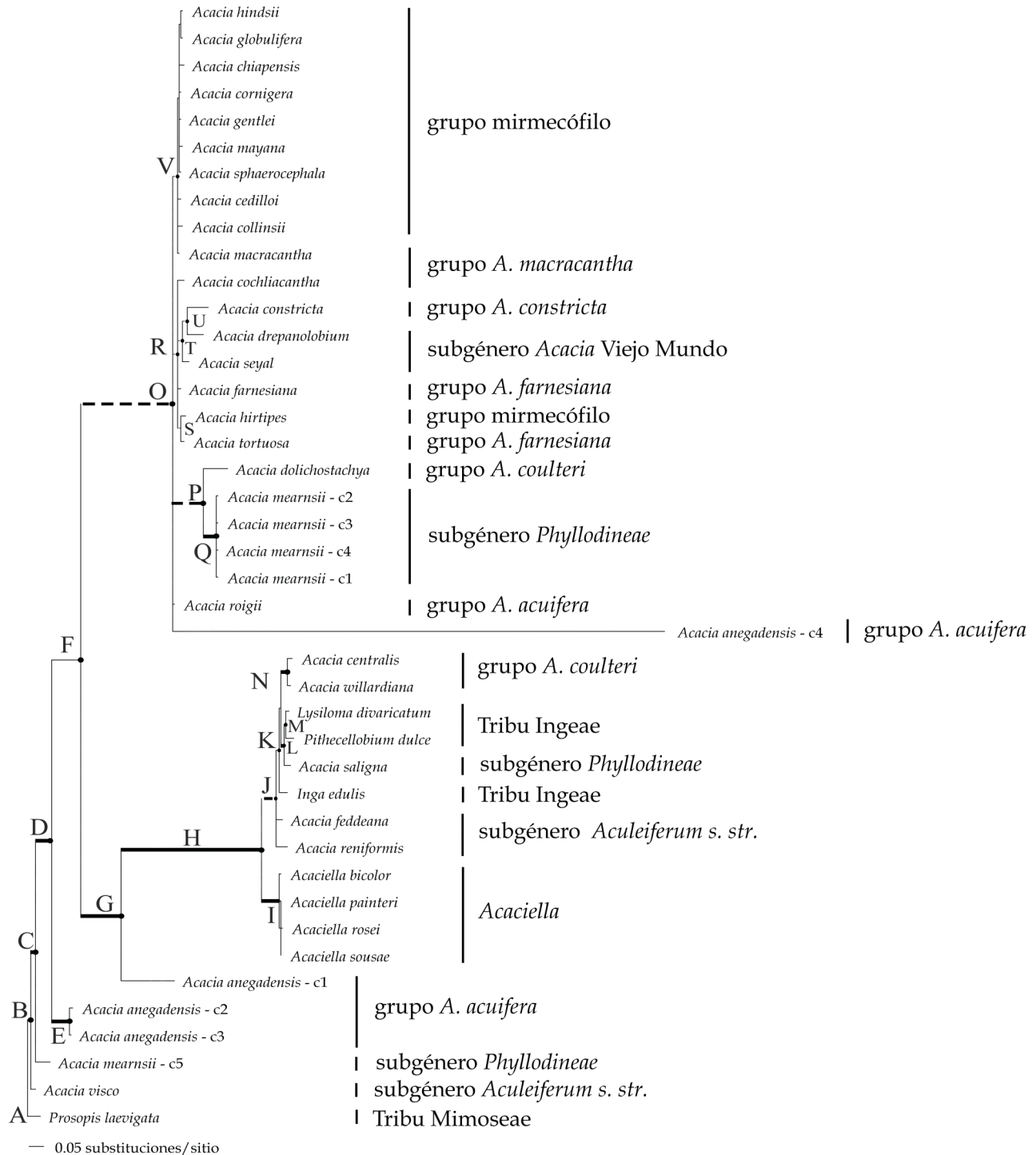


Tabla 6. Edades de divergencia estimadas para mimosoideas a partir de 308 árboles semejantes al árbol bayesiano consenso con base en la región nuclear *PEPC*. Las letras de los nodos corresponden a aquellas de la Fig. 4. Ma= millones de años; SD= desviación estándar.

Nodo	Edad Media (Ma) \pm SD	Edad Mínima (Ma)	Edad Máxima (Ma)
C	12.33 \pm 1.45	9.69	14.96
D	10.20 \pm 1.67	6.68	14.72
E	6.54 \pm 2.24	2.44	14.25
F	8.36 \pm 1.67	4.71	13.45
G	6.64 \pm 1.69	2.93	13.08
H	5.08 \pm 1.53	2.40	10.07
I	3.72 \pm 1.46	1.21	9.77
J	3.92 \pm 1.38	1.46	9.17
K	1.67 \pm 0.88	0.36	5.66
L	1.16 \pm 0.73	0.19	5.47
M	0.75 \pm 0.61	0.07	5.11
N	1.09 \pm 0.70	0.14	3.82
O	6.92 \pm 1.69	3.68	12.44
P	4.14 \pm 1.57	1.23	10.51
Q	2.95 \pm 1.31	0.86	8.99
R	2.91 \pm 1.08	1.08	6.61
S	1.45 \pm 0.85	0.20	4.69
T	1.36 \pm 0.80	0.14	4.98
U	0.90 \pm 0.61	0.10	3.58
V	2.29 \pm 1.09	0.43	7.83

5.3 REGIONES DE CLOROPLASTO DE MIMOSOIDEAS

5.3.1 Amplificación y secuenciación de las tres regiones de cloroplasto.

La amplificación y secuenciación de las tres regiones del cloroplasto fue relativamente fácil para todas las especies, aunque la región *matK* no pudo ser obtenida a partir de las muestras de herbario del género *Acaciella*. Para el análisis filogenético se utilizó una matriz de 70 taxa que incluye 22 especies del subgénero *Acacia* del Nuevo Mundo; cinco especies del subgénero *Acacia* del Viejo Mundo; 13 especies del subgénero *Aculeiferum*, incluyendo cuatro especies del grupo *A. coulteri* (= *Mariosousa*); 12 especies del subgénero *Phyllodineae*; siete especies del género *Acaciella*; siete especies de la tribu Ingeae y cuatro especies de la tribu Mimoseae. De estas especies se amplificaron y secuenciaron en el presente estudio 37 para *matK*, 49 para *psaB-rps14* y 45 para *trnL-trnF*, las demás secuencias fueron obtenidas del GenBank (Tabla 7). Los modelos de mejor ajuste para los datos corresponden a GTR+I+G para *matK*, K81+uf+G para *psaB-rps14* y TIM+G para *trnL-trnF*.

Tabla 7. Lista de mimosoideas utilizadas en el presente estudio para el análisis de cloroplasto. Los números de catálogo del GenBank se encuentran indicados para cada región. ^a= Especies secuenciadas en el presente estudio. ^b= Secuencia obtenida de Miller y Bayer (2003). ^c= Indica que no hay secuencia en el GenBank para esa especie. ^d= Secuencia obtenida de Luckow *et al.* (2003). ^e= Regiones que no pudieron ser amplificadas o secuenciadas en el presente estudio. ^f= Secuencia obtenida de Miller y Bayer (2001). ^g= Secuencia obtenida de Seigler *et al.* (2006). ^h= Secuencia obtenida de J. Miller (no publicada). ⁱ= Secuencia obtenida de Murphy *et al.* (2000).

Especie		matK	psaB-rps14	trnL-trnF
Subgénero <i>Acacia</i>				
Especies mirmecófilas neotropicales				
1	<i>A. cedilloi</i>	HM020708 ^a	HM020745 ^a	HM020798 ^a
2	<i>A. chiapensis</i>	HM020709 ^a	HM020746 ^a	HM020799 ^a
3	<i>A. collinsii</i>	HM020711 ^a	HM020748 ^a	HM020801 ^a
4	<i>A. cornigera</i>	HM020713 ^a	HM020750 ^a	HM020803 ^a
5	<i>A. gentlei</i>	HM020717 ^a	HM020754 ^a	HM020807 ^a

6	<i>A. globulifera</i>	HM020718 ^a	HM020755 ^a	HM020808 ^a
7	<i>A. hindsii</i>	HM020719 ^a	HM020756 ^a	HM020809 ^a
8	<i>A. hirtipes</i>	HM020720 ^a	HM020757 ^a	HM020810 ^a
9	<i>A. mayana</i>	HM020722 ^a	HM020760 ^a	HM020813 ^a
10	<i>A. sphaerocephala</i>	HM020729 ^a	HM020769 ^a	HM020821 ^a
Especies mirmecófilas africanas				
11	<i>A. drepanolobium</i>	HM020714 ^a	HM020751 ^a	HM020804 ^a
12	<i>A. seyal</i>	HM020728 ^a	HM020768 ^a	HM020820 ^a
13	<i>A. luederitzii</i>	AF523186 ^b	c	c
Especies no mirmecófilas del Nuevo Mundo				
14	<i>A. anegadensis</i>	HM020706 ^a	HM020743 ^a	HM020796 ^a
15	<i>A. caven</i>	AF274131 ^d	c	AF522967 ^d
16	<i>A. cochliacantha</i>	HM020710 ^a	HM020747 ^a	HM020800 ^a
17	<i>A. constricta</i>	HM020712 ^a	HM020749 ^a	HM020802 ^a
18	<i>A. farnesiana</i>	HM020715 ^a	HM020752 ^a	HM020805 ^a
19	<i>A. macracantha</i>	HM020721 ^a	HM020759 ^a	HM020812 ^a
20	<i>A. neovernicosa</i>	AF523113 ^d	c	AF522970 ^d
21	<i>A. pennatula</i>	HM020724 ^a	HM020762 ^a	HM020814 ^a
22	<i>A. roigii</i>	e	HM020765 ^a	e
23	<i>A. schaffneri</i>	AF274132 ^f	HM020767 ^a	HM020818 ^a
24	<i>A. schottii</i>	AF274136 ^d	c	AF522971 ^d
25	<i>A. tortuosa</i>	HM020730 ^a	HM020771 ^a	HM020823 ^a
Especies no mirmecófilas del Viejo Mundo				
26	<i>A. karroo</i>	AF274137 ^f	HM020758 ^a	HM020811 ^a
27	<i>A. tortilis</i>	AF274140 ^f	HM020770 ^a	HM020822 ^a
Subgénero <i>Aculeiferum</i> s. str.				
28	<i>A. berlandieri</i>	HM020707 ^a	HM020744 ^a	HM020797 ^a
29	<i>A. feddeana</i>	HM020716 ^a	HM020753 ^a	HM020806 ^a
30	<i>A. gaumeri</i>	DQ371895 ^g	c	DQ371858 ^g

31	<i>A. picachensis</i>	EU812009 ^h	c	EU439983 ^h
32	<i>A. reniformis</i>	HM020725 ^a	HM020763 ^a	HM020815 ^a
33	<i>A. riograndensis</i>	HM020726 ^a	HM020764 ^a	HM020816 ^a
34	<i>A. scleroxyla</i>	e	e	HM020819 ^a
35	<i>A. visco</i>	HM020731 ^a	HM020772 ^a	HM020824 ^a
36	<i>A. vogeliana</i>	HM020732 ^a	HM020773 ^a	e
Grupo <i>Acacia coulteri</i>				
37	<i>A. centralis</i>	e	HM020781 ^a	HM020832 ^a
38	<i>A. dolichostachya</i>	DQ371892 ^g	HM020782 ^a	DQ371873 ^g
39	<i>A. usumacintensis</i>	DQ371891 ^g	c	DQ371864 ^g
40	<i>A. willardiana</i>	HM020735 ^a	HM020783 ^a	HM020833 ^a
Subgénero <i>Phyllodineae</i>				
41	<i>A. adoxa</i>	AF523076 ^d	c	AF195684 ^d
42	<i>A. ampliceps</i>	AF523074 ^d	c	AF522983 ^d
43	<i>A. colei</i>	AF274215 ^d	c	AF522987 ^d
44	<i>A. elata</i>	AF274149 ^d	c	AF195683 ^d
45	<i>A. mearnsii</i>	HM020723 ^a	HM020761 ^a	AF195694 ⁱ
46	<i>A. melanoxyton</i>	AF274166 ^d	c	AF195680 ^d
47	<i>A. penninervis</i>	AF274159 ^f	c	c
48	<i>A. platycarpa</i>	AF274223 ^d	c	AF522985 ^d
49	<i>A. saligna</i>	HM020727 ^a	HM020766 ^a	HM020817 ^a
50	<i>A. spinescens</i>	AF523082 ^d	c	AF195687 ^d
51	<i>A. translucens</i>	AF274165 ^f	c	AF522984 ^d
52	<i>A. tumida</i>	AF523111 ^d	c	AF522986 ^d
Género <i>Acaciella</i>				
53	<i>A. angustissima</i>	HM020733 ^a	HM020774 ^a	HM020825 ^a
54	<i>A. bicolor</i>	e	HM020775 ^a	HM020826 ^a
55	<i>A. chamelensis</i>	HM020734 ^a	HM020776 ^a	HM020827 ^a
56	<i>A. painteri</i>	e	HM020777 ^a	HM020828 ^a

57	<i>A. rosei</i>	e	HM020778 ^a	HM020829 ^a
58	<i>A. sousae</i>	e	HM020779 ^a	HM020830 ^a
59	<i>A. tequilana</i>	e	HM020780 ^a	HM020831 ^a
Tribu Ingeae				
60	<i>Albizia kalkora</i>	AF523083 ^d	c	AF522945 ^d
61	<i>Calliandra houstoniana var. anomala</i>	HM020736 ^a	HM020784 ^a	HM020834 ^a
62	<i>Faidherbia albida</i>	HM020737 ^a	HM020785 ^a	HM020835 ^a
63	<i>Havardia pallens</i>	AF274125 ^d	c	AF522955 ^d
64	<i>Inga edulis</i>	HM020738 ^a	HM020786 ^a	HM020836 ^a
65	<i>Lysiloma divaricatum</i>	AF523088 ^d	HM020787 ^a	HM020837 ^a
66	<i>Pithecellobium dulce</i>	HM020740 ^a	HM020789 ^a	e
Tribu Mimoseae				
67	<i>Mimosa similis</i>	HM020739 ^a	HM020788 ^a	HM020838 ^a
68	<i>Piptadenia viridiflora</i>	AF521856 ^d	c	AF522963 ^d
69	<i>Prosopis juliflora</i>	HM020741 ^a	HM020790 ^a	HM020839 ^a
70	<i>Prosopis laevigata</i>	HM020742 ^a	HM020791 ^a	HM020840 ^a

5.3.2 Filogenia y tiempos de divergencia

La filogenia estimada con longitudes de ramas, utilizando los 70 taxa de mimosoideas y la matriz concatenada con las tres regiones del cloroplasto (3128 sitios) se muestra en la Fig. 5. Para los marcadores de cloroplasto se utilizó la matriz conjunta con las tres regiones debido a que se ha señalado que combinar los datos moleculares puede aumentar la resolución filogenética y los valores de apoyo (Bena *et al.*, 1998; Linder *et al.*, 2001; citados en Ariati *et al.*, 2006). Cabe señalar que no se utilizó una matriz conjunta para los marcadores nucleares debido a que el número de taxa compartidos es de 21, lo que representa el 50% de las secuencias con *ITS* y el 32.81% de los datos obtenidos con *PEPC*.

El cronograma correspondiente a la Fig. 5 se muestra en la Fig. 6. En general, la mayoría de los grupos se encuentran apoyados por probabilidades posteriores altas (Fig. 5). Todos los taxa analizados, con excepción de las especies del género *Prosopis*, derivan del nodo B y están incluidos en uno de dos clados principales, unos de ellos agrupa a todas las especies del subgénero *Acacia* y el otro a aquellas especies de los subgéneros *Aculeiferum*, *Phyllodineae*, del género *Acaciella* y de las tribus Ingeae y Mimoseae. El nodo B fue utilizado como punto de calibración, al cual se asignó la edad mínima de 15 Ma y para el cual se obtuvo una edad media de 18.12 ± 0.41 Ma. Los clados mencionados en esta sección corresponden a las Figs. 5 y 6. Las edades de tales grupos se encuentran en la Tabla 8, y las tasas de diversificación en la Tabla 4.

- Subgénero *Acacia*

Las especies de este subgénero se resuelven como monofiléticas, con una edad de origen correspondiente al Mioceno (C: 14.88 ± 1.98 Ma). Las especies del Nuevo y Viejo Mundo se agrupan en los clados G (12.34 ± 2.25 Ma) y D (10.85 ± 2.97 Ma), respectivamente. *Acacia constricta*, *A. neovernicosa* y *A. schottii* divergen antes del resto de las especies del Nuevo Mundo en el clado H (7.93 ± 2.77 Ma). Las especies *A. caven*, *A. farnesiana*, *A. schaffneri* y *A. tortuosa* se agrupan en el clado I (6.31 ± 2.58 Ma). *A. cochlicantha*, *A. macracantha* y *A. pennatula* se agrupan en el clado K (4.57 ± 2.14 Ma). Las especies endémicas del Caribe *A. anegadensis* y *A. roigii* se ubican en el clado M (5.42 ± 2.08 Ma).

Las acacias mirmecófilas neotropicales resultaron monofiléticas (L: 5.44 ± 1.93 Ma) y están estrechamente relacionadas con las especies del grupo *A. macracantha* (K: 4.57 ± 2.14 Ma). Dentro de las mirmecófilas neotropicales es posible distinguir un pequeño grupo formado por *A. cedilloi*, *A. collinsii*, *A. globulifera*, *A. hindsii* y *A. hirtipes* (L': 1.93 ± 1.09 Ma). En contraste, las tres mirmecófilas africanas (*A. drepanolobium*, *A. luederitzii* y *A. seyal*) no resultaron monofiléticas y se agrupan en dos clados, uno de los cuales incluye a *A. drepanolobium* y *A. luederitzii* (E: 5.00 ± 2.44 Ma) como especies hermanas de *A. tortilis*. El otro grupo incluye a *A. seyal* y *A. karroo* (F: 7.08 ± 3.11 Ma).

- Subgénero *Aculeiferum*

Las especies analizadas de este subgénero no resultaron monofiléticas, aunque todas se originan a partir de un clado situado en el Mioceno (O: 12.31 ± 2.29 Ma). El clado W (5.64 ± 1.98 Ma) incluye a *A. berlandieri*, *A. reniformis*, *A. gaumeri* y *A. picachensis*. Las especies endémicas de Bolivia: *A. feddeana* y *A. riograndensis*, se agrupan junto con la endémica de República Dominicana *A. scleroxyla* en el clado V (2.75 ± 1.44 Ma). Éstas, junto con *A. vogeliana* y las cuatro especies de grupo *A. coulteri* (*A. centralis*, *A. dolichostachya*, *A. usumacintensis* y *A. willardiana*) se ubican en el clado U (6.18 ± 2.17 Ma). El grupo *A. coulteri*, recientemente propuesto como el género *Mariosousa* (Seigler *et al.*, 2006) no resultó monofilético debido a que *A. willardiana* diverge antes, en el nodo U (6.18 ± 2.17 Ma). *Acacia visco* deriva del nodo O (12.31 ± 2.29 Ma) y es la especie hermana del clado que incluye a todas las especies muestreadas de los subgéneros *Aculeiferum*, *Phyllodineae* y aquellas de la tribu Ingeae y del género *Acaciella*.

- Subgénero *Phyllodineae*

El subgénero *Phyllodineae* se resuelve como monofilético, a pesar de estar representado en este estudio por sólo 12 especies, una pequeña muestra considerando que incluye 1045 especies (Miller y Bayer, 2003; Lewis *et al.*, 2005). La edad del grupo corona corresponde al Plioceno (S: 3.33 ± 1.32 Ma). Estas especies se encuentran agrupadas dentro del clado R (6.66 ± 2.07 Ma), el cual incluye a seis especies de la tribu Ingeae y una sola especie del género *Acaciella* (*A. chamelensis*).

- Género *Acaciella*

Las siete especies incluidas de este género no resultaron monofiléticas, agrupándose en dos clados, uno de los cuales incluye a seis de ellas con un origen en el Plioceno (Q: 4.67 ± 1.82 Ma) y como grupo hermano de *Calliandra houstoniana* var. *anomala* (P: 6.42 ± 1.85 Ma). Como se mencionó anteriormente, *A. chamelensis* se agrupa con las especies de la tribu Ingeae y del subgénero *Phyllodineae* en el clado R (6.66 ± 2.07 Ma).

- Tribu Ingeae

Las siete especies representantes de siete géneros de esta tribu se encuentran distribuidas en tres grupos, dos de ellos derivan del clado R (6.66 ± 2.07 Ma). El primero de estos nodos incluye a *Inga edulis* como taxa hermano de *Acaciella chamelensis*, mismos que representan el grupo hermano de *Albizia kalkora* y las especies del subgénero *Phyllodineae*. El segundo clado agrupa a cuatro integrantes de esta tribu: *Faidherbia albida*, *Havardia pallens*, *Lysiloma divaricatum* y *Pithecellobium dulce*. En el tercer grupo se encuentra solamente *Calliandra houstoniana* var. *anomala* como taxa hermano de seis especies del género *Acaciella* (P: 6.42 ± 1.85 Ma).

- Tribu Mimoseae

La tribu Mimoseae está representada por cuatro especies en esta sección, de las cuales *Prosopis laevigata* y *P. juliflora* fueron seleccionadas como grupo externo y a las cuales se asignó el intervalo de 22.6 – 40.4 Ma, como punto de calibración (A). *Mimosa similis* y *Piptadenia viridiflora* se agruparon juntas con un origen en el Mioceno (N: 9.97 ± 3.02 Ma) y como grupo hermano del clado que incluye a las especies de los subgéneros *Aculeiferum* y *Phyllodineae*, de la tribu Ingeae y del género *Acaciella* (O: 12.31 ± 2.29 Ma).

5.3.3 Tasas de diversificación

Las tasas de diversificación fueron obtenidas sólo para los subgéneros *Acacia* y *Phyllodineae*, siendo éste último el de mayor diversificación por millón de años. Dentro del subgénero *Acacia* se obtuvo una mayor tasa para el linaje africano en comparación con el linaje americano. Asimismo, de los cinco grupos informales del Nuevo Mundo, mismos que resultaron monofiléticos, las tasas de diversificación menores corresponden a los grupos *A. constricta* y *A. farnesiana*. Los grupos *A. macracantha*, *A. acuífera* y mirmecófilo presentan en ese orden, tasas de diversificación con valores altos, mismas que son significativamente mayores a las de los otros dos grupos del Nuevo Mundo ($F= 30.72$; $P_{(d.f.= 4, \alpha= 0.05)}= 0.0000$). Cabe señalar que a pesar de que el género *Acaciella* no resultó monofilético en este análisis, se obtuvo la tasa de diversificación para el clado que agrupa a seis de las siete especies incluidas y el valor obtenido es mayor al observado para el grupo mirmecófilo (Tabla 4).

Figura 5. Árbol consenso bayesiano de mimosoideas inferido a partir de tres regiones de cloroplasto (*matK*, *psaB-rps14* y *trnL-trnF*). Las letras indican los grupos discutidos en el texto. Las líneas horizontales gruesas representan ramas con probabilidad posterior de 0.90 a 1.0. Las líneas punteadas representan ramas con probabilidad posterior de 0.50 a 0.89.

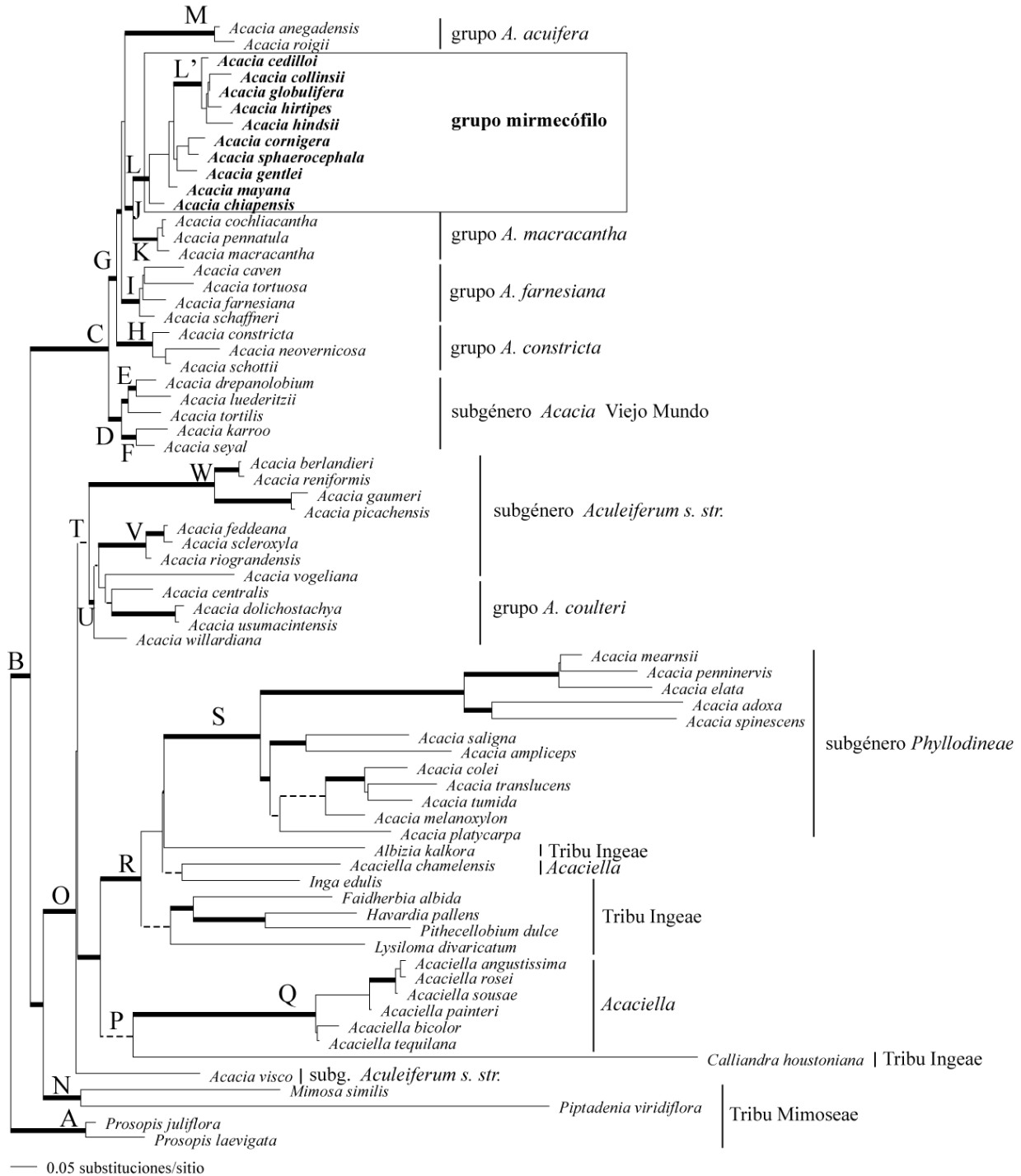


Figura 6. Cronograma derivado del árbol consenso de mimosoideas obtenido con las regiones de cloroplasto. Las letras indican los grupos discutidos en el texto. Las líneas horizontales gruesas representan ramas con probabilidades posteriores de 0.9 a 1.0. Las líneas punteadas indican ramas con probabilidades posteriores de 0.5 a 0.89. No se encontraron ramas con apoyo menor a 0.5.

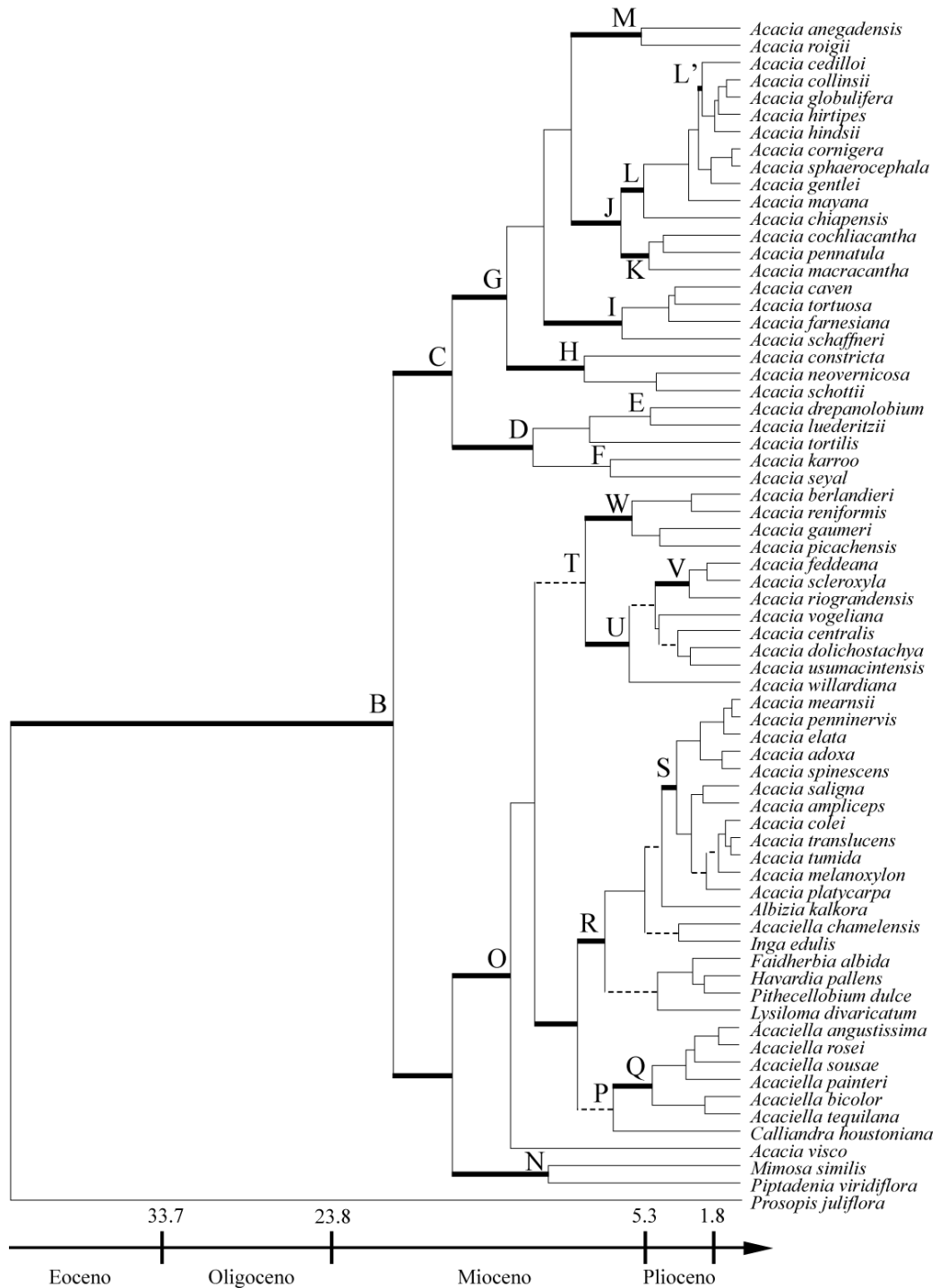


Tabla 8. Estimaciones de edades derivadas de los 72 árboles topológicamente idénticos al árbol bayesiano consenso de cloroplasto para mimosoideas. Las letras corresponden a las Figs. 5 y 6. Ma= millones de años. SD= desviación estándar.

Nodo	Edad media (Ma) \pm SD	Edad mínima (Ma)	Edad máxima (Ma)
B	18.12 \pm 0.41	17.46	19.37
C	14.88 \pm 1.98	11.63	18.39
D	10.85 \pm 2.97	5.87	17.22
E	5.00 \pm 2.44	0.72	11.45
F	7.08 \pm 3.11	2.10	14.66
G	12.34 \pm 2.25	7.72	17.74
H	7.93 \pm 2.77	3.83	17.32
I	6.31 \pm 2.58	2.08	13.86
J	6.92 \pm 2.49	3.10	13.81
K	4.57 \pm 2.14	1.79	11.46
L	5.44 \pm 1.93	1.83	11.55
L'	1.93 \pm 1.09	0.35	5.80
M	5.42 \pm 2.08	1.97	9.98
N	9.97 \pm 3.02	4.56	16.16
O	12.31 \pm 2.29	8.51	17.09
P	6.42 \pm 1.85	3.00	10.96
Q	4.67 \pm 1.82	1.48	10.37
R	6.66 \pm 2.07	3.50	11.67
S	3.33 \pm 1.32	1.08	8.36
T	8.06 \pm 2.38	3.16	12.99
U	6.18 \pm 2.17	2.56	11.19
V	2.75 \pm 1.44	0.56	6.29
W	5.64 \pm 1.98	2.30	10.76

5.4 REGIONES NUCLEARES DE HORMIGAS

5.4.1 Amplificación y secuenciación

La amplificación y secuenciación de las dos regiones nucleares (*long-wavelength rhodopsin* y *wingless*) sólo fue realizada para cuatro especies del grupo *Pseudomyrmex ferrugineus*, las demás secuencias fueron obtenidas del GenBank. Se utilizaron en total 43 taxa, de los cuales 39 pertenecen al género *Pseudomyrmex*, uno al género *Myrcidris* y tres al género *Tetraponera* (Tabla 9). Los modelos de mejor ajuste corresponden a TVM+G para *long-wavelength rhodopsin* y K80+G para *wingless*.

Tabla 9. Lista de hormigas utilizadas para el análisis filogenético. Se proporcionan los números de catálogo del GenBank para cada región nuclear. LW Rh= *long-wavelength rhodopsin*. wg= *wingless*. ^a= secuencias obtenidas de Ward y Downie (2005). ^b= especies secuenciadas en el presente estudio. ^c= secuencias obtenidas de Kautz *et al.* (2009).

	Especie	LW Rh	Wg
1	<i>Myrcidris epicharis</i> ^a	AY703785	AY703651
2	<i>Pseudomyrmex apache</i> ^a	AY703786	AY703652
3	<i>Pseudomyrmex boopis</i> ^a	AY703787	AY703653
4	<i>Pseudomyrmex concolor</i> ^a	AY703788	AY703654
5	<i>Pseudomyrmex cordiae</i> ^a	AY703789	AY703655
6	<i>Pseudomyrmex cubaensis</i> ^a	AY703790	AY703656
7	<i>Pseudomyrmex dendroicus</i> ^a	AY703791	AY703657
8	<i>Pseudomyrmex denticollis</i> ^a	AY703792	AY703658
9	<i>Pseudomyrmex elongatulus</i> ^a	AY703793	AY703659
10	<i>Pseudomyrmex ferrugineus</i> ^b	HM020792	HM020841
11	<i>Pseudomyrmex filiformis</i> ^a	AY703794	AY703660
12	<i>Pseudomyrmex flavicornis</i> ^a	AY703795	AY703661
13	<i>Pseudomyrmex godmani</i> ^a	AY703796	AY703662
14	<i>Pseudomyrmex gracilis</i> ^a	AY703797	AY703663

15	<i>Pseudomyrmex haytianus</i> ^a	AY703798	AY703664
16	<i>Pseudomyrmex holmgreni</i> ^a	AY703799	AY703665
17	<i>Pseudomyrmex ita</i> ^a	AY703800	AY703666
18	<i>Pseudomyrmex kuenckeli</i> ^a	AY703801	AY703667
19	<i>Pseudomyrmex mixtecus</i> ^b	HM020793	HM020842
20	<i>Pseudomyrmex nigrocinctus</i> ^a	AY703802	AY703668
21	<i>Pseudomyrmex nigropilosus</i> ^a	AY703803	AY703669
22	<i>Pseudomyrmex oculatus</i> ^a	AY703804	AY703670
23	<i>Pseudomyrmex oki</i> ^a	AY703805	AY703671
24	<i>Pseudomyrmex pallens</i> ^a	AY703807	AY703673
25	<i>Pseudomyrmex pallidus</i> ^a	AY703806	AY703672
26	<i>Pseudomyrmex pazosi</i> ^a	AY703808	AY703674
27	<i>Pseudomyrmex pepereri</i> ^b	HM020794	HM020843
28	<i>Pseudomyrmex phyllophilus</i> ^a	AY703809	AY703675
29	<i>Pseudomyrmex satanicus</i> ^c	FJ436889	FJ436865
30	<i>Pseudomyrmex sericeus</i> ^a	AY703810	AY703676
31	<i>Pseudomyrmex simplex</i> ^a	AY703811	AY703677
32	<i>Pseudomyrmex spiculus</i> ^a	AY703812	AY703678
33	<i>Pseudomyrmex spinicola</i> ^c	FJ436890	FJ436866
34	<i>Pseudomyrmex subater</i> ^a	AY703813	AY703679
35	<i>Pseudomyrmex tachigaliae</i> ^a	AY703814	AY703680
36	<i>Pseudomyrmex tenuis</i> ^a	AY703815	AY703681
37	<i>Pseudomyrmex tenuissimus</i> ^a	AY703816	AY703682
38	<i>Pseudomyrmex termitarius</i> ^a	AY703817	AY703683
39	<i>Pseudomyrmex veneficus</i> ^b	HM020795	HM020844
40	<i>Pseudomyrmex viduus</i> ^a	AY703818	AY703684
41	<i>Tetraoponera aethiops</i> ^a	AY703770	AY703636
42	<i>Tetraoponera pilosa</i> ^a	AY703781	AY703647
43	<i>Tetraoponera rufonigra</i> ^a	AY703783	AY703649

5.4.2 Filogenia y tiempos de divergencia

La filogenia estimada con longitudes de rama, para los 43 taxa, usando una matriz concatenada de 980 sitios se muestra en la Fig. 7 y el cronograma correspondiente en la Fig. 8. En general, las probabilidades posteriores son altas, de 0.9 a 1.0, excepto para el nodo del grupo *P. tenuis* y para el nodo del cual derivan los grupos *P. ferrugineus* (mas la especie *P. haytianus*), *P. pallidus*, y un subgrupo del grupo *P. viduus*. Los clados mencionados a continuación corresponden a las Figs. 7 y 8. Las edades de tales grupos y las tasas de diversificación se encuentran en las Tablas 10 y 4 respectivamente.

- Género *Pseudomyrmex*

Las especies de este género se agrupan como monofiléticas (C) con un origen estimado en el Mioceno. Se presentan dos grupos principales (D y F), uno de los cuales (D: 12.48 ± 1.85 Ma) incluye a las especies del grupo *P. tenuis* y a *P. filiformis*. El otro grupo (F: 17.18 ± 1.23 Ma) incluye al resto de las especies de *Pseudomyrmex*. De los nueve grupos morfológicos sugeridos por Ward (1989), sólo los grupos *P. pallens* (G: 4.69 ± 1.23 Ma, L: 4.01 ± 1.19 Ma) y *P. viduus* (K: 9.58 ± 1.65 Ma, Q: 4.18 ± 1.05 Ma, T: 1.68 ± 0.74 Ma) no resultaron monofiléticos. Por el contrario, los grupos *P. ferrugineus* (N: 4.58 ± 0.82 Ma), *P. gracilis* (I: 3.76 ± 0.97 Ma), *P. oculatus* (S: 2.63 ± 0.64 Ma), *P. pallidus* (P: 2.90 ± 0.63 Ma), *P. sericeus* (J: 2.75 ± 0.67 Ma), *P. subtilissimus* (H: 3.38 ± 1.14 Ma) y *P. tenuis* (E: 9.38 ± 1.52 Ma) son monofiléticos.

En particular, en el presente estudio se incluyeron ocho de las 10 especies del grupo *P. ferrugineus*. Como fue mencionado anteriormente, este grupo es monofilético y presenta un origen estimado en el Plioceno. La especie *P. haytianus* (endémica de Haití) es el grupo hermano del grupo *P. ferrugineus* y el tiempo de divergencia de estos dos clados ocurrió en el Mioceno (M: 6.68 ± 1.07 Ma).

- Géneros *Myrcidris* y *Tetraponera*

Myrcidris, representado por *M. epicharis* es la especie hermana del género *Pseudomyrmex*. La edad de divergencia para estos géneros corresponde al Eoceno (B: 40.78 ± 5.51 Ma). El género *Tetraponera* (A), representado por tres especies (*T. aethiops*, *T. pilosa* y *T. rufonigra*) resultó monofilético y como grupo hermano de *Myrcidris* + *Pseudomyrmex*. La separación de los linajes del Viejo Mundo (*Tetraponera*) y del Nuevo Mundo (*Myrcidris* + *Pseudomyrmex*) corresponden al Cretácico Inferior (A': 95.80 ± 10.82 Ma).

5.4.3 Tasas de diversificación

Las tasas de diversificación fueron estimadas sólo para el género *Pseudomyrmex* y los grupos monofiléticos dentro de éste. La tasa de diversificación estimada para las especies de *Pseudomyrmex* es baja, siendo de 0.264 sp/Ma (aplicando la fórmula de Yule, 1925) y de $r_{0.0}=0.230$, $r_{0.9}=0.149$ (bajo la fórmula de Magallón y Sanderson, 2001). El valor obtenido por los dos métodos para el grupo *P. tenuis* es menor a lo observado para todo el género, en tanto que para los otros seis grupos son mayores. Sin embargo, de estos últimos, los grupos *P. subtilissimus* y *P. ferrugineus* son los de menor eventos de diversificación por millón de años en comparación con los grupos *P. oculatus*, *P. gracilis*, *P. sericeus* y *P. pallidus*, quienes presentan tasas de diversificación muy altas (Tabla 4).

Figura 7. Árbol bayesiano de mayor probabilidad posterior de hormigas *Pseudomyrmecinae*, inferido a partir de dos regiones nucleares (*long-wavelength rhodopsine* y *wingless*). Las letras indican los grupos mencionados en el texto. Las especies *Pseudomyrmex filiformis*, *P. haytianus*, *P. oki* y *P. subater* no han sido asignadas a ningún grupo morfológico *sensu* Ward (1989). Las líneas gruesas representan ramas con probabilidad posterior de 0.9 a 1.0. Las líneas punteadas representan ramas con probabilidad posterior de 0.6 a 0.8.

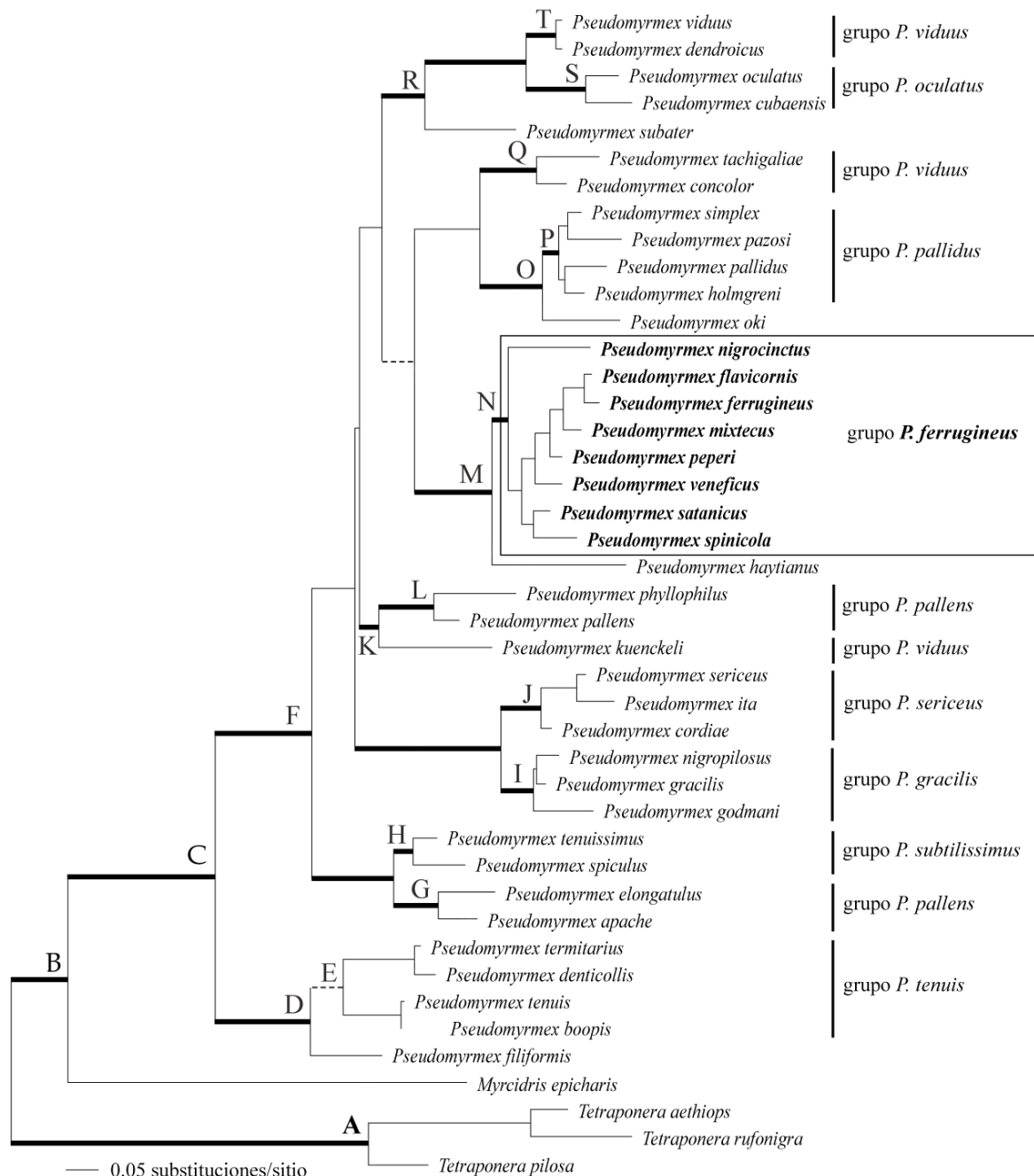


Figura 8. Cronograma derivado del árbol de mayor probabilidad posterior (MAP) de hormigas Pseudomyrmecinae. Las letras indican los grupos mencionados en el texto. *Pseudomyrmex filiformis*, *P. haytianus*, *P. oki* y *P. subater* no han sido asignadas a ningún grupo morfológico *sensu* Ward (1989). Las líneas gruesas representan ramas con probabilidad posterior de 0.9 a 1.0. Las líneas punteadas representan ramas con probabilidad posterior de 0.6 a 0.8.

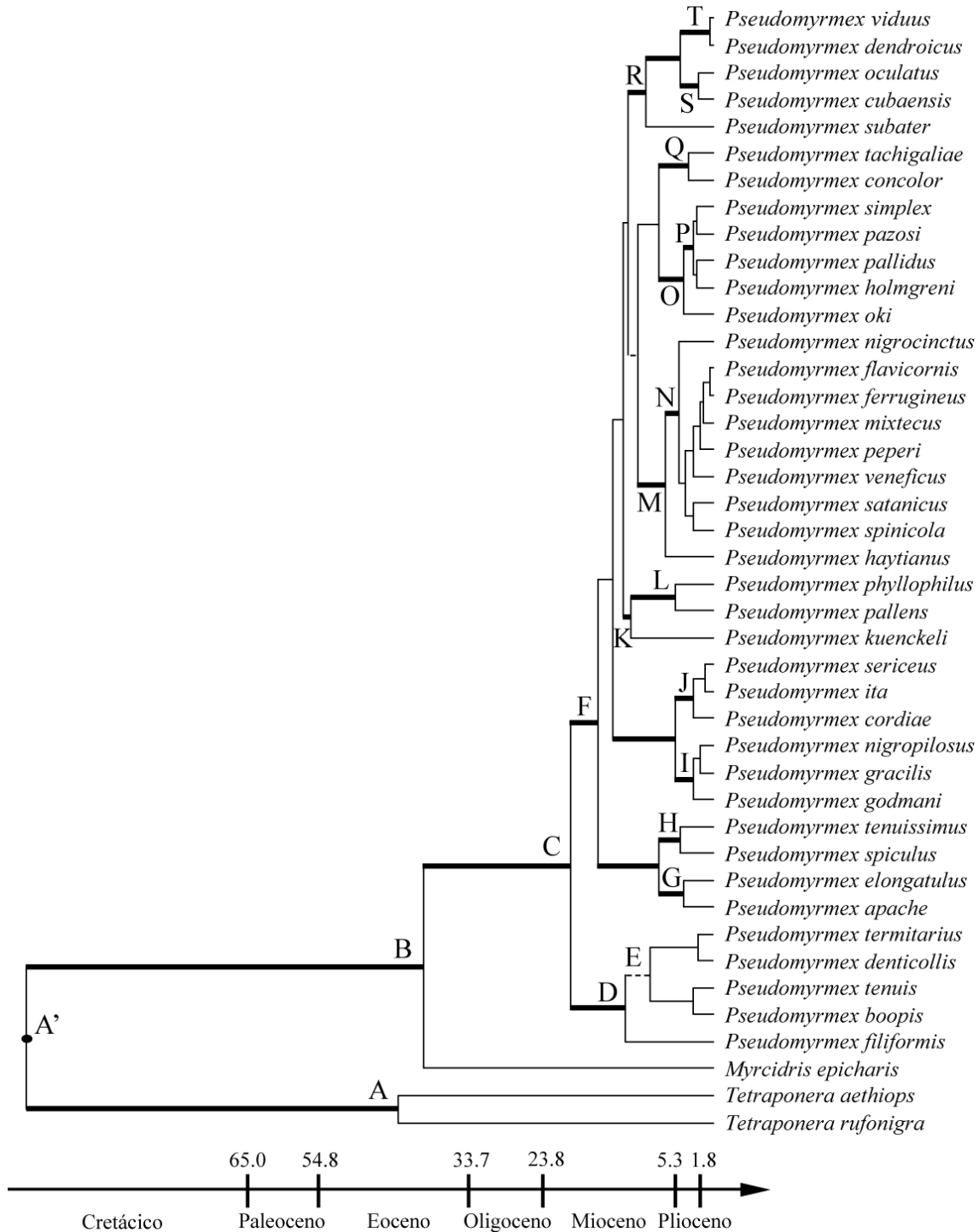


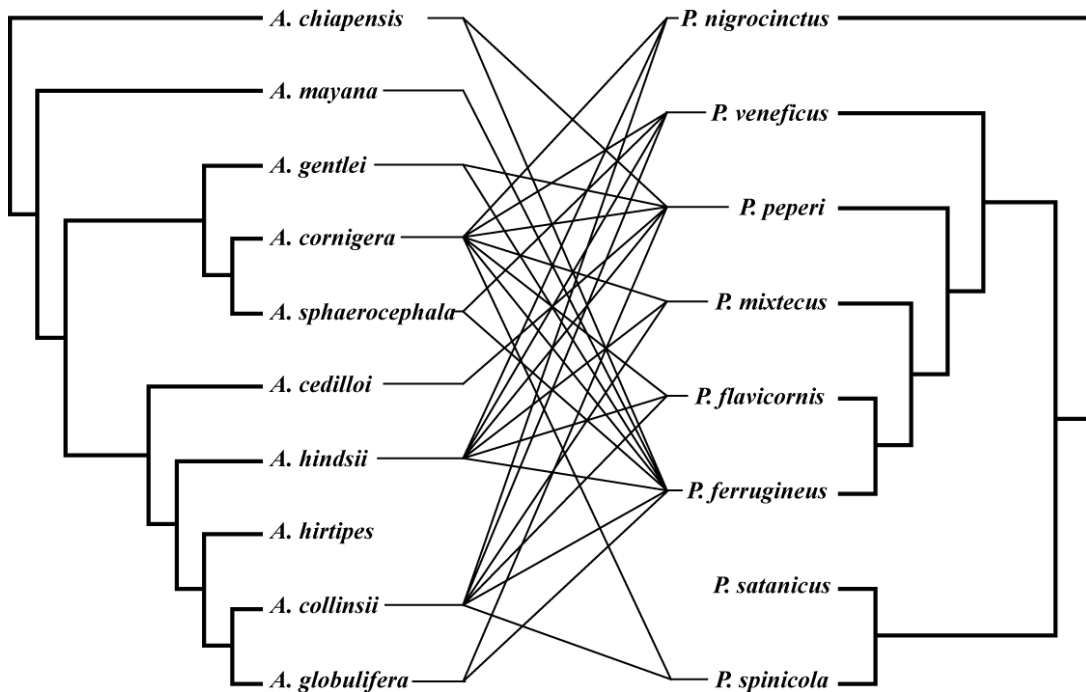
Tabla 10. Estimaciones de edades obtenidas a partir de los 103 árboles topológicamente idénticos al árbol de mayor probabilidad posterior para hormigas Pseudomyrmecinae. Las letras corresponden a los nodos de las Figuras 7 y 8. Ma= millones de años. SD= desviación estándar.

Nodo	Edad media (Ma) \pm SD	Edad mínima (Ma)	Edad máxima (Ma)
A'	95.80 \pm 10.82	76.45	139.8
B	40.78 \pm 5.51	32.13	54.27
D	12.48 \pm 1.85	9.16	17.35
E	9.38 \pm 1.52	6.63	14.02
F	17.18 \pm 1.23	14.24	19.95
G	4.69 \pm 1.23	2.22	8.23
H	3.38 \pm 1.14	1.27	7.29
I	3.76 \pm 0.97	1.93	6.19
J	2.75 \pm 0.67	1.6	4.27
K	9.58 \pm 1.65	6.35	13.60
L	4.01 \pm 1.19	1.34	6.99
M	6.68 \pm 1.07	3.92	9.34
N	4.58 \pm 0.82	2.52	7.31
O	4.02 \pm 0.73	2.52	5.92
P	2.90 \pm 0.63	1.54	4.65
Q	4.18 \pm 1.05	1.89	6.90
R	9.57 \pm 1.23	6.64	12.96
S	2.63 \pm 0.64	1.44	4.33
T	1.68 \pm 0.74	0.48	3.51

5.5 Comparación de las filogenias del sistema mutualista *Acacia-Pseudomyrmex*.

La comparación entre las filogenias de las acacias mirmecófilas neotropicales, obtenida con datos de cloroplasto, y el grupo *P. ferrugineus* no refleja una congruencia filogenética, por el contrario, se aprecian cambios constantes de hospedero (Fig. 9). Para ambos grupos, el valor de apoyo para el nodo que les da origen es alto, con una probabilidad posterior de 0.90 a 1.0 (L en Figs. 5, 6 y N en Figs. 7, 8).

Figura 9. Comparación de las filogenias obtenidas para las acacias mirmecófilas y el grupo *Pseudomyrmex ferrugineus*. Las líneas entre los árboles indican las relaciones reportadas hasta ahora en la literatura. Para *Acacia hirtipes* no existe información de hormigas mutualistas asociadas. *Pseudomyrmex satanicus* es considerada como el único habitante de *Acacia melanoceras*, la cual no fue muestreada en este estudio.



6. Discusión

6.1 Hormigas asociadas a acacias mirmecófilas neotropicales

La relación entre las acacias mirmecófilas y las hormigas del grupo *Pseudomyrmex ferrugineus* ha sido una de las simbiosis neotropicales mejor conocida hasta el momento, y frecuentemente citada como ejemplo de coevolución. De este grupo de hormigas se encontraron 5 especies: *P. ferrugineus*, *P. flavicornis*, *P. mixtecus*, *P. peperi* y *P. veneficus* (Tabla 1).

Pseudomyrmex ferrugineus es la especie más común y de mayor distribución dentro del grupo. Su distribución abarca desde el Este y Sur de México hasta El Salvador y Honduras y se le ha encontrado formando colonias monoginicas en los domacios de las 10 acacias mirmecófilas neotropicales que se encuentran en este intervalo geográfico (*A. chiapensis*, *A. collinsii*, *A. cookii*, *A. cornigera*, *A. gentlei*, *A. globulifera*, *A. hindsii*, *A. janzenii*, *A. mayana* y *A. sphaerocephala*) (Ward, 1993). En el presente estudio fue colectada en *Acacia chiapensis* (Oaxaca), *A. collinsii* (Quintana Roo), *A. cornigera* (Oaxaca, Veracruz y Guatemala), *A. hindsii* (Oaxaca) y *A. mayana* (Veracruz), lo cual es concordante con registros previos en cuanto a hospederos y distribución geográfica (Tabla 1).

P. flavicornis es una especie similar a *P. ferrugineus*. Sus colonias también son monoginicas, pero su distribución es restringida, desde Guatemala hasta Costa Rica, habitando principalmente *A. collinsii* y en menor frecuencia *A. cornigera* y *A. hindsii* (Ward, 1993). Acorde con los registros previos, en el presente trabajo sólo fue colectada en *A. collinsii* y *A. cornigera* de Costa Rica (Tabla 1).

P. mixtecus es una especie cuyas colonias son monoginicas, pero es poco conocida, hasta el momento ha sido reportada sólo en *A. collinsii* y *A. hindsii* en los estados de Guerrero y Oaxaca (Ward, 1993), sin embargo, en el presente estudio fue encontrada en un individuo de *A. cornigera* en el estado de Veracruz (Tabla 1), con lo cual, se amplía el intervalo tanto de distribución como de hospedero.

P. veneficus es considerada como una especie de distribución restringida, desde Sinaloa hasta Michoacán, habitando sólo en *A. collinsii* y *A. hindsii* (Ward, 1993), sin embargo, en el presente estudio fue colectada en *A. hindsii* en los estados de Guerrero, Nayarit y Oaxaca; y en *A. cornigera* en Guerrero, con lo cual, también para esta especie se amplía el intervalo de distribución geográfica y de hospedero. Cabe señalar que esta especie se caracteriza por la formación de unicolonias altamente poliginias (incluyendo millones de trabajadoras y algunos cientos de reinas), las cuales se encuentran entre las más grandes de todos los insectos sociales (Ward, 1993).

Pseudomyrmex peperii es la segunda especie con mayor distribución, abarcando desde el este de México hasta Nicaragua y ha sido colectada en domacios de *A. chiapensis*, *A. collinsii*, *A. cornigera*, *A. globulifera* y *A. gentlei*. Ocurre simpátricamente con *P. ferrugineus*, pero a diferencia de ella, forma colonias altamente poligineas (Ward, 1993). Debido a su distribución se esperaba tener una buena representatividad, sin embargo, sólo fue colectada en *A. cedilloi* (Q. Roo) y en *A. cornigera* (Oaxaca y Veracruz) (Tabla 1). Cabe señalar que *Acacia cedilloi* es una mirmecófila neotropical poco conocida hasta el momento y cuya distribución se restringe a unas cuantas poblaciones fragmentadas en la Península de Yucatán (Rico-Arce, 1994) y Belice (L. Rico, com. pers). Esta especie es particularmente interesante ya que representa hasta el momento la única mirmecófila neotropical en donde se ha registrado un mayor número de hormigas no mutualistas pertenecientes a géneros distintos de *Pseudomyrmex*. Figueroa-Castro y Castaño-Meneses (2004) realizaron un estudio para evaluar la mirmecofauna asociada con esta especie. Analizaron 129 plantas, de las cuales sólo el 24.81% carecía de hormigas. En los demás individuos, encontraron en total 161 hormigas pertenecientes a tres subfamilias, cuatro géneros y seis especies: *Cephalotes minutus*, *Crematogaster curvispinosa*, *C. torosa*, *Ectatomma tuberculatum*, *Pseudomyrmex ferrugineus* (la cual fue la más abundante) y *P. gracilis*. Tales autores mencionan que *Ectatomma tuberculatum* ocupa a *A. cedilloi* para forrajear néctar extrafloral y ocasionalmente para cazar individuos de *Pseudomyrmex*, los cuales llevan en sus mandíbulas hasta donde se encuentran sus nidos. En el presente estudio se encontraron sólo a las siguientes especies: *Cephalotes* sp., *Crematogaster torosa*, *Pseudomyrmex gracilis* y *P. peperii* (Tabla 1), de las cuales, la última representa un registro nuevo. Es importante mencionar que sólo en un individuo se encontraron coexistiendo a *Cephalotes* sp. y *Crematogaster torosa*, mientras que en los demás se colectó sólo una especie de hormiga.

Respecto a *C. torosa*, es una especie que se distribuye básicamente en sitios abiertos y alterados, y particularmente en Costa Rica se le ha encontrado ocupando frecuentemente acacias mirmecófilas aún en presencia de hormigas del género *Pseudomyrmex*, en donde además construyen pabellones que dan refugio a homópteros de la vegetación circundante (Longino, 2003). En las colectas realizadas se encontraron dos especies de *Crematogaster* coexistiendo con dos especies de *Pseudomyrmex* en dos individuos de *A. cornigera* y corresponden a *Crematogaster* sp. 1 + *P. subtilissimus* en la Presa Miguel Alemán, Oaxaca y *Crematogaster* sp. 2 + *P. mixtecus* en Antón Lizardo, Veracruz, en donde además se encontró una colonia de homópteros.

Como se mencionó anteriormente, el grupo *Pseudomyrmex ferrugineus* se caracteriza porque sus especies sólo habitan en acacias mirmecófilas, sin embargo, se ha reportado también que algunas especies de los grupos *P. gracilis* y *P. subtilissimus* han desarrollado de manera independiente una asociación con estas acacias (Ward, 1993). *P. gracilis* (grupo *P. gracilis*) se distribuye desde E.U. hasta Argentina y Brasil y su fenotipo es variable a lo largo de su distribución. Habita en una gran cantidad de hábitats, desde manglares, matorrales espinosos hasta bosques lluviosos, y es particularmente común en sitios alterados. Sus nidos se localizan usualmente en ramas muertas o pequeñas. Esta especie es considerada como una generalista (Ward, 1993). En el presente estudio fue encontrada en *Acacia cedilloi*, en Quintana Roo (Tabla 1). Por otra parte, *P. subtilissimus* (grupo *P. subtilissimus*) se distribuye sólo en Costa Rica y Nicaragua, en donde habita acacias mirmecófilas centroamericanas asociadas con *P. flavicornis* (Ward, 1989, 1993) sin proveer de ninguna protección a su hospedero. Esta especie es considerada como un parásito del mutualismo neotropical (Ward, 1993). Acorde con su distribución, en este estudio fue colectada en Palo Verde, Costa Rica, asociada a *A. collinsii* (Tabla 1).

Asimismo, también es conocido que varias especies de hormigas como *P. boopis* (grupo *P. tenuis*), *P. hesperius*, *P. ita* (grupo *P. sericeus*), *P. kuenckeli* (grupo *P. viduus*) y *P. opaciceps* (grupo *P. gracilis*) pueden ser habitantes facultativos de las acacias mirmecófilas neotropicales, anidando en ramas huecas. Todas ellas son consideradas como hormigas generalistas (Ward, 1993), de las cuales, en el presente estudio se encontró a *P. boopis* en *A. cornigera* (Veracruz) y en *A. collinsii* (Guatemala) y a *P. ita* en *A. sphaerocephala* (Oaxaca). *P. boopis* se distribuye principalmente en los bosques lluviosos y bosques tropicales húmedos del sureste de México hasta Ecuador,

Venezuela y el noreste de Brasil, aunque sólo se le ha encontrado formando colonias en plántulas de la mirmecófila panameña *A. melanoceras* (Ward, 1993). *P. ita* es una especie de amplia distribución, desde México hasta Colombia, habitando de manera constante en ramas o troncos muertos de varias especies de plantas leñosas, incluso ha sido colectada en *A. cornigera* (México) y en *A. collinsii* (Costa Rica y Panamá) (Ward, 1993).

Por otra parte, este estudio proporciona los primeros registros en acacias mirmecófilas neotropicales para dos especies del grupo *P. pallens*: *P. apache* encontrada en *A. chiapensis* (Oaxaca) y *P. pallens* en una acacia de Costa Rica (Tabla 1). En cuanto a distribución, *P. apache* se caracteriza por habitar en climas áridos y anidar en ramas muertas de varias especies de árboles, entre ellas *Prosopis* sp. y *Quercus* sp. en México (Ward, 1985); en tanto que *P. pallens* se distribuye en Colombia, Costa Rica y Venezuela. Finalmente, respecto a *Dorymyrmex smithi* (Tabla 1), podría ser una especie visitante ocasional de *A. hindsii*, de donde probablemente podría obtener néctar extrafloral.

6.2 Comparación entre las filogenias y edades de divergencia obtenidas para mimosoideas

Las tres filogenias obtenidas en este estudio para mimosoideas difieren básicamente en que el subgénero *Acacia* no es monofilético con marcadores nucleares (J en Fig. 3; O en Fig. 4), contrario a lo obtenido con cloroplasto (C en Figs. 5, 6) y a lo reportado en estudios previos (Robinson y Harris, 2000; Miller y Bayer, 2000, 2001, 2003; Luckow *et al.*, 2003; Brown *et al.*, 2008). Es decir, en la filogenia con *ITS*, todas las especies de este subgénero comparten su nodo ancestral con *Acaciella chamelensis*, una especie considerada originalmente dentro de la sección *Filicinae* del subgénero *Aculeiferum* (J en Fig. 3). En la filogenia obtenida con *PEPC*, dentro del clado que incluye a todos los representantes de este subgénero, se encuentran *A. dolichistachya* (grupo *A. coulteri*= *Mariosousa*, subgénero *Aculeiferum*) y *A. mearnsii*, del subgénero *Phyllodineae* (O, P, Q en Fig. 4). Asimismo, tres clonas de *A. anegadensis* (E: 6.54 ± 2.24 Ma, G: 6.64 ± 1.69 Ma, Fig. 4) quedan separadas de la clona que se agrupa con el resto de las especies del subgénero *Acacia* (O: 6.92 ± 1.69 Ma, Fig. 4), pudiendo apreciarse que han requerido de muy poco tiempo para diferenciarse.

Otra diferencia reside en que en la filogenia con *PEPC*, el subgénero *Phyllodineae* no es monofilético (C, L, Q en Fig. 4), contrario a lo obtenido con *ITS* (P en Fig. 3) y cloroplasto (S en Fig. 5). Estas especies, al igual que las del subgénero *Acacia*, son consideradas como un grupo monofilético por diversos autores (Murphy *et al.*, 2000, 2003; Robinson y Harris, 2000; Miller y Bayer 2001; Miller *et al.*, 2003; Ariati *et al.*, 2006; Brown *et al.*, 2006). Este resultado es debido a que las cinco clonas de *A. mearnsii* se encuentran en otras partes del árbol filogenético (C, Q, en Fig. 4) y no con *A. saligna*, especie que pertenece al mismo subgénero (L en Fig. 4). Cabe resaltar que una de tales clonas deriva de un nodo cuya edad (C: 12.33 ± 1.45 Ma, Fig. 4) se asemeja al valor de divergencia obtenido con *ITS* para todo este subgénero (P: 10.31 ± 2.66 Ma, Fig. 4). En tanto que la edad de las otras clonas (Q: 2.95 ± 1.31 Ma, Fig. 4), es similar a la observada tanto para el nodo donde se encuentra *A. saligna* (L: 1.16 ± 0.73 Ma, Fig. 4), como en el clado monofilético resultante del análisis con cloroplasto (S: 3.33 ± 1.32 Ma, Figs. 5, 6). Una característica presente en *PEPC*, es que la evolución concertada no ha operado del todo igual en esta región, lo cual puede observarse en *A. anegadensis* (subg. *Acacia*) y *A. mearnsii* (subg. *Phyllodineae*). La ausencia de evolución concertada es frecuente en regiones nucleares, como en el loci Lb de *Glycine* (Doyle *et al.*, 1998).

En diversos estudios tanto de plantas como de animales, se han reportado conflicto filogenético (filogenias diferentes) cuando se incorporan genes nucleares y de organelos (Shaw, 2002; Seehausen *et al.*, 2003; Sullivan *et al.*, 2004). Estas diferencias se deben principalmente a los diferentes mecanismos de herencia de cada genoma, es decir, el genoma de cloroplasto (ADNcp) se hereda uniparentalmente (generalmente a través de la línea materna en angiospermas) y no es recombinante, características que han sido preferidas para realizar estudios filogenéticos. En cambio, el ADN nuclear (ADNn) se hereda biparentalmente y presenta recombinación. Opuesto al genoma de cloroplasto, en el genoma nuclear, una gran variedad de sus genes presentan intrones que usualmente muestran una considerable variación. Particularmente, en el caso de la filogenia obtenida con *ITS*, se supone que el polimorfismo presente en esta región es atribuible a hibridación interespecífica (literatura citada en Hughes *et al.*, 2002). En algunos casos resulta ventajoso realizar filogenias con ADNn ya que permite identificar híbridos que no son revelados con análisis de ADNcp (Hughes *et al.*, 2002), a menos que las secuencias de ambos parentales sean homogeneizadas debido a evolución concertada (Wendel *et al.*, 1995).

Wendel y Doyle (1998) consideran que la incongruencia filogenética no es rara, por el contrario, constituye básicamente la regla en vez de ser la excepción siendo evidente en varios grados. Asimismo, mencionan que la incongruencia de topologías derivadas de diferentes tipos de datos es vista frecuentemente como un desafortunado pero inevitable efecto colateral en los análisis filogenéticos, y por lo tanto, puede representar un impedimento para alcanzar el entendimiento filogenético. Entre las causas posibles que pueden conllevar a un conflicto filogenético mencionan las siguientes:

1. Causas técnicas como insuficiencia de datos, o baja calidad de los mismos; error de secuenciamiento, y baja representatividad en el muestreo taxonómico.
2. Procesos a nivel de organismo como una rápida evolución morfológica o convergencia morfológica; rápida diversificación; hibridación/introgresión, y transferencia horizontal.
3. Procesos a nivel génico o del genoma como la recombinación intragénica; ortología/paralogía; interacciones interlocus; evolución concertada; tasas heterogéneas entre taxa y sitios, y sesgo en la composición de las bases.

Por otra parte, en cuanto a las edades de divergencia obtenidas en este estudio, se puede apreciar de manera general que las estimadas a partir de las regiones de cloroplasto son mayores a las estimadas con los marcadores nucleares, y de éstos últimos, las obtenidas con *ITS* son a su vez, mayores en comparación con las observadas para *PEPC*. Sin embargo, en algunos casos como en el subgénero *Phyllodineae* y la Tribu *Ingeae*, las edades resultantes de cloroplasto son mucho menores que con *ITS*. Asimismo, para los grupos *Acacia acuífera* y *A. constricta*, los valores obtenidos con cloroplasto son un poco menores a los obtenidos con marcadores nucleares (Tabla 11).

Tabla 11. Comparación de las edades medias en millones de años (\pm desviación estándar) obtenidas para mimosoideas a partir de las filogenias con marcadores nucleares y de cloroplasto. Las letras dentro de los paréntesis corresponden a los nodos donde se encuentran las especies pertenecientes a cada grupo en las figura indicada en cada columna.

Grupo	ITS (Fig. 3)	PEPC (Fig. 4)	matK, psaB-rps14, trnL-F (Figs. 5, 6)
Subgénero <i>Acacia</i>	(J) 8.07 ± 2.45	(O) 6.92 ± 1.69	(C) 14.88 ± 1.98
Subgénero <i>Acacia</i> Viejo Mundo	-	(T) 1.36 ± 0.80 (U) 0.90 ± 0.61	(D) 10.85 ± 2.97
Subgénero <i>Acacia</i> Nuevo Mundo	(J) 8.07 ± 2.45	(O) 6.92 ± 1.69	(G) 12.34 ± 2.25
Grupo <i>Acacia acuífera</i>	-	(E) 6.54 ± 2.24 (G) 6.64 ± 1.69 (O) 6.92 ± 1.69	(M) 5.42 ± 2.08
Grupo <i>Acacia constricta</i>	(J) 8.07 ± 2.45	(U) 0.90 ± 0.61	(H) 7.93 ± 2.77
Grupo <i>Acacia farnesiana</i>	(K) 3.28 ± 1.55	(R) 2.91 ± 1.08 (S) 1.45 ± 0.85	(I) 6.31 ± 2.58
Grupo <i>Acacia macracantha</i>	(N) 2.00 ± 1.17	(R) 2.91 ± 1.08 (V) 2.29 ± 1.09	(K) 4.57 ± 2.14
Grupo mirmecófilo	(L) 4.12 ± 1.60 (O) 2.30 ± 1.09	(V) 2.29 ± 1.09 (S) 1.45 ± 0.85	(L) 5.44 ± 1.93
Subgénero <i>Aculeiferum s. str.</i>	(D) 7.45 ± 3.66	(J) 3.92 ± 1.38	(O) 12.31 ± 2.29 (T) 8.06 ± 2.38
Grupo <i>Acacia coulteri</i>	(G) 4.71 ± 2.27	(N) 1.09 ± 0.70 (P) 4.14 ± 1.57	(U) 6.18 ± 2.17
<i>Acaciella</i>	(I) 5.12 ± 2.42 (J) 8.07 ± 2.45	(I) 3.72 ± 1.46	(Q) 4.67 ± 1.82 (R) 6.66 ± 2.07
Subgénero <i>Phyllodineae</i>	(P) 10.31 ± 2.66	(C) 12.33 ± 1.45 (L) 1.16 ± 0.73 (Q) 2.95 ± 1.31	(S) 3.33 ± 1.32
Tribu Ingeae	(B) 16.56 ± 1.16 (C) 7.74 ± 3.08 (D) 7.45 ± 3.66 (H) 3.38 ± 1.83	(K) 1.67 ± 0.88 (M) 0.75 ± 0.61	(P) 6.42 ± 1.85 (R) 6.68 ± 1.85
Tribu Mimoseae	(I) 5.12 ± 2.42		(N) 9.97 ± 3.02

6.3 Filogenia y tiempos de divergencia en el género *Acacia*

Las tribus Acacieae, Ingeae y Mimoseae pertenecen a la subfamilia Mimosoideae (Lewis *et al.*, 2005). Estas tribus se distinguen básicamente por las características del androceo: las especies de la tribu Mimoseae portan flores con 10 o menos estambres libres, en las tribus Acacieae e Ingeae las flores portan numerosos estambres, los cuales son libres en la mayoría de las especies de Acacieae y fusionados en Ingeae. Una hipótesis general considera que las tribus Acacieae e Ingeae son derivadas respecto a la tribu Mimoseae (Polhill *et al.*, 1981). Asimismo, análisis filogenéticos muestran que la tribu Ingeae es parafilética respecto a la tribu Acacieae (Chappill y Maslin, 1995; Robinson y Harris, 2000; Miller y Bayer, 2000, 2001; Luckow *et al.*, 2003). El presente estudio es concordante con estudios previos (Käss y Wink, 1996; Luckow *et al.*, 2003) respecto a que las tribus Acacieae, Ingeae y Mimoseae no son monofiléticas (Figs. 3-6). *Acacia* Miller *sensu lato* es un género pantropical con 1450 especies, y es el segundo más grande dentro de la familia Leguminosae y junto con el género neotropical *Acaciella* (15 especies), forman la tribu Acacieae. En el presente trabajo se considera a *Acacia* como un género con tres subgéneros (subgénero *Acacia*, subgénero *Aculeiferum* y subgénero *Phyllodineae*).

• Subgénero *Acacia*

Este subgénero incluye 161 especies de distribución pantropical, de las cuales 73 son africanas, 60 americanas, 36 asiáticas y 9 australianas. Estudios previos señalan que es un subgénero monofilético (Robinson y Harris, 2000; Miller y Bayer, 2000, 2001, 2003; Luckow *et al.*, 2003; Brown *et al.*, 2008). En el presente estudio, este subgénero sólo es monofilético con los datos de cloroplasto (*matK*, *pasB-rps14* y *trnL-trnF*), en donde la edad de origen, 14.88 ± 1.98 Ma, corresponde al Mioceno (C en Figuras 5, 6). En este caso, la monofilia de este subgénero sugiere que las características propias de este grupo, como la presencia de estípulas espinosas; políadas de 16-32 granos con exina columelar; nectarios extraflorales y carencia de aguijones se originaron sólo una vez durante la evolución del género *Acacia*.

Por otra parte, se ha sugerido que las especies del Nuevo Mundo han resultado de una radiación diferente de la que produjo las especies del Viejo Mundo (Guinet y Vassal, 1978; Miller y Bayer, 2003). El análisis con *ITS* sólo incluye especies del Nuevo Mundo. Para la región

nuclear *PEPC* se incluyeron dos especies africanas, las mirmecófilas *A. drepanolobium* y *A. seyal*, mismas que no se agrupan, ya que *A. drepanolobium* se encuentra como taxa hermano de *A. constricta* (V en Fig. 4). Sin embargo, en el análisis con las regiones de cloroplasto se aprecian dos clados bien definidos, uno integrado por las especies del Nuevo Mundo, y otro por las especies del Viejo Mundo, con una edad promedio estimada de 10.85 ± 2.97 Ma y 12.34 ± 2.25 Ma, respectivamente (D, G en Figs. 5, 6; Tabla 8). Las edades obtenidas para los nodos donde se encuentran las mirmecófilas africanas en el análisis con *PEPC* (T: 1.36 ± 0.80 Ma, U: 0.90 ± 0.61 Ma; Fig. 4; Tabla 6) son mucho más recientes que las obtenidas para los nodos donde se encuentran éstas mismas en el análisis de cloroplasto (E: 5.00 ± 2.44 Ma, F: 7.08 ± 3.11 Ma; Figs. 5, 6; Tabla 8). Cabe señalar que en ambas filogenias, *A. drepanolobium* presenta las edades más recientes.

Diversos autores han tratado de dividir las especies de ambos linajes en grupos subordinados, basándose en similitudes morfológicas, a fin de tener un esquema más comprensible de las relaciones filogenéticas entre estas especies. Para las especies del Viejo Mundo, tal agrupamiento no ha sido funcional (Ross, 1979), contrario a lo observado para las especies del Nuevo Mundo, en donde se han identificado siete pequeños grupos informales razonablemente distintos, los cuales son *Acacia acuífera* (Clarke y Seigler, 1991; Clarke *et al.*, 2009), *A. constricta* (Clarke *et al.*, 1990), *A. coriophylla* (Clarke *et al.*, 1989), *A. farnesiana* (Clarke *et al.*, 1989), *A. macracantha* (Seigler y Ebinger, 1988), *Acacia rigidula* (Lee *et al.*, 1989), y el grupo mirmecófilo (Janzen 1974). En el presente estudio se incluyeron especies de cinco grupos (*A. acuífera*, *A. constricta*, *A. farnesiana*, *A. macracantha* y el grupo mirmecófilo), excepto en el análisis con la región nuclear *ITS*, para el cual no se pudo amplificar ningún representante del grupo *A. acuífera*. La filogenia obtenida con *ITS* señala que sólo el grupo mirmecófilo no es monofilético (L, O en Fig. 3), en tanto que los datos con *PEPC* demuestran que ninguno de tales grupos es monofilético (Fig. 4). En contraparte, los cinco grupos incluidos resultan todos monofiléticos en el análisis con las regiones de cloroplasto (H, I, K, L, M en Figs. 5, 6).

En la filogenia obtenida con *ITS*, *Acacia constricta* se ubica en la base del clado del cual derivan las demás especies del subgénero *Acacia* aquí incluidas (J: 8.07 ± 2.45 Ma; Fig. 3), en tanto que en la hipótesis filogenética obtenida con *PEPC*, esta misma especie comparte un clado con la

mirmecófila africana *A. drepanolobium*, en un nodo cuya edad es muy reciente (U: 0.90 ± 0.61 Ma; Fig. 4). Semejante a la primera, en la filogenia obtenida de la matriz conjunta con las tres regiones de cloroplasto, las especies del grupo *A. constricta* se ubican en la base del clado que agrupa a las demás especies del Nuevo Mundo pertenecientes al subgénero *Acacia* con una edad que corresponde al Mioceno (H: 7.93 ± 2.77 Ma; Figs. 5, 6; Tabla 8). La posición de este grupo es semejante a la reportada por Miller y Bayer (2001, 2003), quienes incluyeron en su análisis tres especies de este grupo.

El grupo *Acacia farnesiana* no es monofilético en el análisis con *PEPC*, en donde es posible apreciar que *A. tortuosa* se agrupa con la mirmecófila neotropical *A. hirtipes* en un nodo de edad correspondiente al Pleistoceno (S: 1.45 ± 0.85 Ma; Fig. 4). En contraparte, en los análisis con *ITS* y cloroplasto, el grupo resulta monofilético, con edades de divergencia de 3.28 ± 1.55 Ma (Plioceno) y 6.31 ± 2.58 Ma (Mioceno) respectivamente (K en Fig. 3 y Tabla 3; I en Figs. 5, 6 y Tabla 8). Este grupo consta de 11 especies, y algunos análisis previos reflejan su monofilia (Clarke *et al.*, 2000; Miller y Bayer, 2001; Luckow *et al.*, 2003). Sin embargo, tanto en un estudio reciente realizado con marcadores nucleares *-ITS* y *ETS-* (Brown *et al.*, 2008), como en el de Miller y Bayer (2003), quienes utilizan regiones de cloroplasto *-matK* y *trnK-* y donde consideran algunas especies africanas dentro de este mismo grupo, el grupo *A. farnesiana* no es monofilético.

El origen estimado en este estudio para los grupos *A. constricta* y *A. farnesiana* se sitúa en el Mioceno Medio-Plioceno (J: 8.07 ± 2.45 Ma, K: 3.28 ± 1.55 Ma en Fig. 3 y Tabla 3; H: 7.93 ± 2.77 Ma, I: 6.31 ± 2.58 Ma en Figs. 5, 6; Tabla 8), edades que corresponden con la existencia de fósiles de estos taxa en ese período (Graham, 1991). Por otra parte, se ha señalado que el periodo comprendido entre el Mioceno Medio hasta el Plioceno se caracterizó por un aumento en la aridez a consecuencia del calentamiento global (Zachos *et al.*, 2001). Tomando esto en consideración, se podría decir que la posición filogenética de estos grupos sugiere que la diversificación del subgénero *Acacia* en el Nuevo Mundo se dio a partir de sitios áridos, hábitats preferidos por estas especies.

El grupo *A. acuifera*, representado en este estudio por *A. anegadensis* y *A. roigii*, se observa como monofilético en el análisis de cloroplasto, en donde la edad de divergencia corresponde a 5.42 ± 2.08 Ma (M en Figs. 5, 6, Tabla 8). En tanto que en el análisis con *PEPC*, estas dos especies no se agrupan, quedando *A. roigii* y la clona número cuatro de *A. anegadensis* derivadas de un nodo cuya edad corresponde a 6.92 ± 1.69 Ma (O en Fig. 4; Tabla 6); la clona número uno a partir de un clado con edad de 6.64 ± 1.69 Ma (G en Fig. 4; Tabla 6) y las clonas dos y tres juntas en un nodo de 6.54 ± 2.24 Ma (E en Fig. 4; Tabla 6). Las edades de divergencia obtenidas son consistentes con el periodo de aridez ocurrido en el Mioceno. Cabe mencionar que este grupo incluye 10 especies restringidas al Caribe en donde habitan sitios áridos (Clarke y Seigler, 1991).

Respecto al grupo *A. macracantha*, existen estudios a favor (Miller y Bayer 2001, 2003) y en contra (Clarke *et al.*, 2000) de su monofilia. En el presente estudio, el análisis con *PEPC* es concordante con la propuesta de Clarke *et al.* (2000) ya que *A. cochliacantha* y *A. macracantha* se encuentran en clados distintos, aunque las edades son similares y corresponden a 2.91 ± 1.08 y 2.29 ± 1.09 Ma respectivamente (R, V en Fig. 4; Tabla 6). Asimismo, los resultados obtenidos en el análisis con *ITS* y cloroplasto apoyan la propuesta de Miller y Bayer (2001, 2003). En ambos casos, este grupo es monofilético y con edades de divergencia cercanas, esto es, 2.00 ± 1.17 Ma y 4.57 ± 2.14 Ma respectivamente (N en Fig. 3 y Tabla 3; K en Figs. 5, 6 y Tabla 8). Este grupo de especies se distribuye en hábitats méxicos, y las edades de divergencia obtenidas para este grupo sitúan su origen en el Plioceno.

Para el grupo mirmecófilo neotropical también se han presentado dos propuestas contradictorias acerca de su origen. Para Janzen (1974) la mirmecofilia es una característica que pudo haberse originado más de una vez o adquirido a través de la hibridación. En contraparte, Clarke *et al.* (2000) consideran que las acacias mirmecófilas en América surgieron a partir de un ancestro similar al grupo *Acacia macracantha*, debido a que ambos grupos presentan hojas grandes producidas solamente en retoños largos, así como preferencia por ambientes méxicos, lo cual podría ser indicador de ancestría común. Las filogenias obtenidas con las regiones nucleares (*ITS* y *PEPC*) apoyan la propuesta de Janzen (1974): en ambos casos, todas excepto una de las especies del grupo mirmecófilo, se encuentran juntas y las edades de estos clados son similares, de 2.30 ± 1.09 Ma con *ITS* (O en Fig. 3; Tabla 3) y de 2.29 ± 1.09 Ma con *PEPC* (V en Fig.

4; Tabla 6). La especie restante, que en el análisis con *ITS* es *Acacia collinsii* (L: 4.12 ± 1.60 Ma), se ubica como taxón hermano del nodo M (3.11 ± 1.31 Ma; Fig. 3), nodo que comparten la mayoría de las especies del grupo mirmecófilo y el grupo *A. macracantha* (L: 4.12 ± 1.60 Ma; Fig. 3). En el análisis con *PEPC*, la especie restante es *A. hirtipes*, misma que se ubica como taxón hermano de *A. tortuosa*, especie del grupo *A. farnesiana*, en un nodo cuya edad corresponde al Pleistoceno (S: 1.45 ± 0.85 Ma; Fig. 4).

El análisis con cloroplasto apoya la propuesta de Clarke *et al.* (2000) y muestra que las mirmecófilas neotropicales forman un grupo monofilético, estrechamente relacionado con el grupo *A. macracantha*, compartiendo el clado J (Figs. 5, 6) ocurrido en el Mioceno, hace aproximadamente 7.02 ± 1.95 Ma. En esta filogenia, la edad de divergencia para el grupo mirmecófilo es de 5.44 ± 1.93 Ma, correspondiente a finales del Mioceno (H en Figs. 5, 6; Tabla 8). Dentro de este grupo sobresale un clado integrado por *A. cedilloi*, *A. collinsii*, *A. globulifera*, *A. hindsii* y *A. hirtipes* (H' en Figs. 5, 6; Tabla 8). Sin embargo, al parecer este agrupamiento no es reflejo de alguna característica morfológica particular o preferencia de hábitat. De las 10 especies mirmecófilas neotropicales aquí analizadas, *A. chiapensis* y *A. globulifera* presentan inflorescencias en cabezuela, mientras que para el resto es en espiga. En cuanto a hábitat, todas habitan preferentemente sitios húmedos, aunque *A. chiapensis*, *A. collinsii*, *A. hindsii* y *A. sphaerocephala* extienden su distribución hacia sitios secos (Rico-Arce, 2003). Cabe señalar que aunque en los análisis con marcadores nucleares el grupo mirmecófilo no aparece como monofilético, es posible apreciar la cercanía filogenética con las especies del grupo *A. macracantha* (L, M en Fig. 3; V en Fig. 4).

Heil *et al.* (2009) mencionan que entre las acacias mirmecófilas se presentan especies que ofrecen mayores recompensas a sus hormigas asociadas, es decir, que secretan una mayor cantidad de néctar extrafloral, de cuerpos alimenticios y que aportan una mayor cantidad de domacios, como *A. cornigera* y *A. collinsii*. Asimismo, sugieren que hay especies de baja recompensa, como *A. chiapensis* y *A. hindsii*, en donde la recompensa ofrecida es menor. Tales autores proponen que las especies de baja recompensa, evolucionaron a partir de las especies de mayor recompensa. Las filogenias obtenidas en el presente estudio con marcadores nucleares apoyan parcialmente la propuesta anterior, es decir, en ambos casos se encuentra *A. collinsii* en la

base o cerca del nodo que da origen a las mirmecófilas, aunque *A. cornigera* se ubica en nodos más derivados (L, O en Fig. 3; V en Fig. 4). En lo que respecta a la filogenia obtenida con cloroplasto, no apoya la hipótesis mencionada, ya que *A. chiapensis* se localiza en la base del grupo mirmecófilo, en tanto que *A. collinsii* y *A. cornigera* se presentan en nodos más recientes (L y L' en Figs. 5, 6).

Por otra parte, las acacias mirmecófilas africanas, representadas sólo en las filogenias de PEPC (*A. drepanolobium* y *A. seyal*) y de cloroplasto (*A. drepanolobium*, *A. seyal* y *A. luederitzii*), no resultaron monofiléticas en ninguno de los dos casos, lo cual señala que esta característica surgió o se perdió por lo menos dos veces en el viejo continente. En el análisis con la región nuclear, *A. drepanolobium* comparte un nodo de 0.90 ± 0.61 Ma con la especie americana *A. constricta*, en tanto que *A. seyal* se sitúa como taxa hermano del clado anterior, con una edad de 1.36 ± 0.80 Ma (T, U en Fig. 4; Tabla 6). En la filogenia obtenida con marcadores de cloroplasto, *A. drepanolobium* y *A. luederitzii* se ubican en un nodo de 5.00 ± 2.44 Ma y *A. seyal* comparte un origen común con *A. karroo* hace 7.08 ± 3.11 Ma (E, F en Figs. 5, 6; Tabla 8).

Es importante hacer notar que en la filogenia obtenida con las regiones de cloroplasto (Figs. 5, 6) se puede apreciar que los gupos del Nuevo Mundo presentan una estructuración filogenética geográfica, esto es, que las relaciones filogenéticas reflejan la distribución geográfica de los taxa involucrados. En otras palabras, la estructura filogenética geográfica se refiere a que la proximidad geográfica predice las relaciones filogenéticas (Irwin, 2002, citado en Lavin *et al.*, 2004). Cabe señalar que ciertos linajes dentro de Leguminosae presentan también una considerable estructuración filogenética geográfica como el clado Dalbergioide; la tribu Robinieae; y los géneros *Dichrostachys*, *Leucaena*, *Indigofera*, *Strophostyles* y *Wajira* (citados en Lavin *et al.*, 2004). Los estudios realizados acerca de estructuración filogenética geográfica sugieren que ésta es más común en linajes que habitan bosques tropicales estacionalmente secos ("Bioma suculento" *sensu* Schrire *et al.*, 2005). En estos casos, las especies tienden a ser monofiléticas y sus edades de divergencia no son tan antiguas. La estructuración sugiere una dispersión histórica limitada, lo cual permite la acumulación de especies alopátricas, por lo que la estructuración es atribuible a eventos de vicarianza, más que al resultado de una historia tectónica ocurrida (Pennington *et al.*, 2009). En contraparte, los taxa que habitan bosques

tropicales húmedos, como *Clusia*, *Guatteria*, *Inga*, *Renealmis*, *Ruellia* y *Swartzia*, presentan poca evidencia de estructuración, indicando que la dispersión histórica a grandes distancias es de gran importancia (Pennington *et al.*, 2009).

- **Subgénero *Aculeiferum***

Este subgénero incluye 207 especies de distribución pantropical: 125 especies en América; 69 especies en África; 43 especies en Asia y 2 especies en Australia. Se ha señalado constantemente que este subgénero no es monofilético (Clarke *et al.*, 2000; Miller y Bayer, 2000, 2003; Robinson y Harris, 2000; Luckow *et al.*, 2003; Miller *et al.*, 2003; Seigler *et al.*, 2006), lo cual también fue comprobado en este estudio (Figs. 3-6). Luckow *et al.* (2003) sugieren la existencia de tres linajes evolutivos dentro de este subgénero, los cuales son: A. subgénero *Aculeiferum s. str.*, A. subgénero *Aculeiferum sec. Filicinae* y el grupo *Acacia coulteri*.

Las especies del linaje *Acacia* subgénero *Aculeiferum s. str.* ocupan diferentes posiciones en los tres análisis realizados. En el análisis con *ITS*, *A. feddeana* se ubica como taxa hermano de una especie de la tribu Ingeae, con una edad de 7.45 ± 3.66 Ma (D en Fig. 3; Tabla 3). En la filogenia obtenida con *PEPC*, *A. feddeana* y *A. reniformis* derivan del nodo J (Fig. 4), con una edad de divergencia de 3.92 ± 1.38 Ma, en tanto que *A. visco* se refleja como taxa hermano del resto de las especies incluidas, excepto *Prosopis laevigata* (B en Fig. 4). Por otra parte, en el análisis con cloroplasto, las especies del linaje A. subgénero *Aculeiferum s. str.* se encuentran distribuidas en diferentes clados, aunque la mayoría de ellos derivan de un nodo situado hace 8.06 ± 2.38 Ma (T en Figs. 5, 6; Tabla 8). El grupo de mayor edad incluye a *Acacia berlandieri*, *A. reniformis*, *A. gaumeri* y *A. picachensis*, con una edad correspondiente al Mioceno Medio (W: 5.64 ± 1.98 Ma; Figs. 5, 6; Tabla 8). Estas especies habitan sitios áridos y semejante a lo propuesto para el subgénero *Acacia*, esta condición sugiere que la diversificación del subgénero *Aculeiferum s. str.* en el Nuevo Mundo corresponde con los sitios áridos predominantes en el Mioceno Medio (O: 12.31 ± 2.29 Ma, T: 8.06 ± 2.38 Ma; Figs. 5, 6; Tabla 8).

• *Grupo Acacia coulteri = Mariosousa*

Las 13 especies del grupo *Acacia coulteri*, se distribuyen desde Arizona hasta Costa Rica. Seigler *et al.* (2006) consideran que morfológicamente son lo suficientemente distintas para ser consideradas como un nuevo género (*Mariosousa* Seigler y Ebinger). Se caracterizan por carecer de aguijones; nunca son lianas, sólo arbustivas o arborescentes; los arbustos son erectos y los árboles son pequeños con estípulas herbáceas persistentes; presentan glándulas peciolares relativamente no especializadas y las flores están dispuestas en inflorescencias en espiga. El desarrollo de las primeras hojas en las plántulas de estas especies sucede de la siguiente manera: pinnadas, pinnadas y bipinnadas; a diferencia del resto de las especies del subgénero *Aculeiferum*, en donde la secuencia es: bipinnada o pinnada seguido de dos hojas bipinnadas (Vassal, 1972). Asimismo, a diferencia de los taxa del subgénero *Acacia*, los ovarios son frecuentemente estipitados y las inflorescencias carecen de involucre. Estudios realizados con caracteres morfológicos como moleculares sugieren que estas especies representan un grupo monofilético (Jawad *et al.*, 2000; Seigler *et al.*, 2006). Cabe señalar que en el análisis realizado por Seigler *et al.* (2006), incluyen sólo seis de las 13 especies y el valor de apoyo asignado al nodo que las agrupa es relativamente bajo, del 68%. En el presente estudio, este grupo está representado por tres especies en los análisis de regiones nucleares y por cuatro especies en el análisis de cloroplasto; de ellos, sólo en la filogenia obtenida con *ITS* se reflejan como un grupo monofilético, con un valor de apoyo alto, de 97%. La edad obtenida para este nodo señala su origen en el Plioceno, de 4.71 ± 2.27 Ma (G en Fig. 3; Tabla 3). En la filogenia obtenida con *PEPC*, *Acacia dolichostachya* se ubica en un nodo de 4.14 ± 1.57 Ma, como taxa hermano de *A. mearnsii* (subgénero *Phyllodineae*), dentro del nodo general que incluye a la mayoría de las especies del subgénero *Acacia* (O: 6.92 ± 1.69 Ma; Fig. 4). En tanto que *A. centralis* y *A. willardiana* se encuentran en un clado de edad más reciente, situado en el Pleistoceno (N: 1.09 ± 0.70 Ma; Fig. 4) y el cual se encuentra a su vez dentro de un nodo que comparten con especies de la tribu Ingeae y de los subgéneros *Aculeiferum* y *Phyllodineae* (J: 3.92 ± 1.38 Ma). De manera semejante, en el análisis con cloroplasto, las cuatro especies del grupo *A. coulteri* se encuentran incluidas dentro de un nodo general que agrupa básicamente a todas las especies del subgénero *Aculeiferum* (T: 8.06 ± 2.38 Ma; Fig. 5).

• **Sección *Filicinae* = *Acaciella***

Respecto a la sección *Filicinae*, la cual incluye 15 especies neotropicales, ha sido restablecida como el género *Acaciella* Britton y Rose, por Rico-Arce y Bachman (2006). A diferencia de muchas especies del subgénero *Aculeiferum* sección *Aculeiferum*, nunca son lianas; los pedicelos son usualmente glabros y persisten después de que las flores han caído, como en las flores del género *Piptadenia* (Tribu Mimoseae). El cáliz y la corola son usualmente glabros; los estambres son siempre libres y numerosos, llegando a presentar más de 300 por flor. El ovario es usualmente glabro; estipitado y con un disco en la base del estipe. El estilo es usualmente más largo que los estambres o menos frecuentemente de la misma longitud. Los frutos son estipitados y semejantes a los del género *Piptadenia*. Las características que las diferencian notablemente del resto de las especies de *Acacia s. lat.* son la carencia de aguijones y espinas; la ausencia de nectarios extraflorales; y la presencia de políadas con ocho granos de polen (Rico-Arce y Bachman, 2006).

La evidencia morfológica y molecular señala al género *Acaciella* como monofilético (Clarke *et al.*, 2000; Robinson y Harris, 2000; Luckow *et al.*, 2003), sin embargo, este estudio no es concordante con esta propuesta, dado que sólo *Acaciella chamelensis* se localiza fuera del clado que incluye al resto de las especies de este género, en un grupo situado en el Mioceno, integrado por las especies de la tribu Ingeae y del subgénero *Phyllodineae* (R: 6.66 ± 2.07 Ma; Figs. 5, 6; Tabla 8). Las seis especies restantes de *Acaciella* se agrupan como monofiléticas, con una edad de divergencia correspondiente al Plioceno (Q: 4.67 ± 1.82 Ma; Figs. 5, 6; Tabla 8) y se relacionan filogenéticamente con *Calliandra houstoniana* var. *anomala* (P: 6.42 ± 1.85 Ma; Figs. 5, 6; Tabla 8). Cabe señalar que esta última especie pertenece a la serie *Racemosae*, cuyos integrantes son considerados como los taxa más derivados dentro del género *Calliandra*. Las especies de dicha serie carecen de nectarios extraflorales y sus políadas consisten de ocho granos de polen (Macqueen y Hernández, 1997), características que comparten con las especies del género *Acaciella*.

• **Subgénero *Phyllodineae***

El subgénero *Phyllodineae* incluye 1045 especies que se distribuyen principalmente en Australia, aunque 20 taxa se localizan fuera del continente, en la región del Pacífico, incluyendo Hawaii, en

Asia, Madagascar, las Islas Mascarenas, Papúa-Nueva Guinea y la costa este de África (Vassal, 1972; Maslin *et al.*, 2003; Miller y Bayer 2003; Lewis *et al.*, 2005). Estudios previos realizados con marcadores moleculares señalan que este subgénero es monofilético y se relaciona con la tribu Ingeae (Murphy *et al.*, 2000, 2003; Robinson y Harris, 2000; Miller y Bayer 2001; Miller *et al.*, 2003; Ariati *et al.*, 2006; Brown *et al.*, 2006). La monofilia de este grupo es reflejada en las filogenias obtenidas con *ITS* y cloroplasto. En el primer caso, las 32 especies incluidas se encuentran en un clado de 10.31 ± 2.66 Ma (P en Fig. 3; Tabla 3), en tanto que el nodo que agrupa a las 12 especies analizadas con cloroplasto presenta una edad más reciente, de 3.33 ± 1.32 Ma (S en Figs. 5, 6; Tabla 8). En el análisis con *PEPC* no resulta un grupo monofilético y las edades donde se encuentran son muy variables (C: 12.33 ± 1.45 Ma, K: 1.67 ± 0.88 Ma, Q: 2.95 ± 1.31 Ma; Fig. 4).

Estas acacias representan el género más numeroso de toda la flora australiana y se distribuyen en todas sus regiones áridas y semiáridas, que cubren cerca del 70% de ese continente (Maslin *et al.*, 2003). Las fechas obtenidas en este estudio señalan un origen que coincide (particularmente la estimada con *ITS*) con el período más crítico (10–7 Ma) en cuanto al establecimiento de la composición filogenética de la biota Australiana, mismo que se caracterizó por ser un período frío y seco, a diferencia de las condiciones anteriores y posteriores en las que el clima era caliente y húmedo (Bowman y Yeates, 2006). Estas acacias se distinguen por presentar filodios (pecíolos modificados en forma de hoja), los cuales son una adaptación para conservar agua, y en los cuales algunos insectos inducen la formación de agallas, estructuras que los proveen de alimento, hospedaje y un microclima estable (Atkin, 1998; Niklas, 1999; Doley, 2004; citados en McLeish *et al.*, 2007; Bowman y Yeates, 2006). La formación de filodios podría haberse originado como una respuesta a las condiciones de aridificación prevalecientes en el Mioceno Tardío. Asimismo, se menciona que los procesos constantes de aridez en el continente australiano han contribuido en gran medida a la diversificación de los géneros *Acacia*, *Eucalyptus* y *Santalum* (Bowman y Yeates, 2006). Cabe señalar que los suelos australianos son pobres en nutrientes, constituídos por parches arenosos y rocosos, lo que probablemente ha tenido influencia sobre el tipo de dispersión de la flora en ese continente, por ejemplo, las semillas de acacias así como de muchas otras plantas, son dispersadas por hormigas y aves, quienes las llevan a microhábitats en donde la disponibilidad de agua y nutrientes es mayor (Davidson y Morton, 1984).

6.4 Filogenia y tiempos de divergencia en el género *Pseudomyrmex*

La subfamilia Pseudomyrmecinae incluye al género paleotropical *Tetraoponera* (con ca. 100 especies) y los géneros neotropicales, *Myrcidris* (con dos especies que se distribuyen en unas cuantas localidades de Brasil y Guyana) y *Pseudomyrmex*, con 200 especies (Ward y Downie, 2005). Análisis morfológicos sugieren que *Myrcidris* es el grupo hermano de *Pseudomyrmex*+*Tetraoponera* (Ward, 1991), mientras que análisis moleculares proponen a *Tetraoponera* como el género hermano de *Myrcidris*+*Pseudomyrmex* (Ward y Downie, 2005). En el presente trabajo, las especies de *Tetraoponera* se ubican como grupo hermano del clado que incluye a *Myrcidris* y *Pseudomyrmex* (A, B en Figs. 7, 8), lo que apoya la propuesta de Ward y Downie (2005).

Ward y Downie (2005) mencionaron como un asunto de particular interés conocer la edad de divergencia entre el linaje paleotropical y el neotropical, pues en un estudio previo (Ward y Brady, 2003), en donde sólo se incluye una especie de *Pseudomyrmex* (*P. gracilis*) y una especie de *Tetraoponera* (*T. rufonigra*), la edad obtenida fue de 54 Ma, una edad muy joven para ser consistente con la ruptura de Gondwana. La edad promedio obtenida en el presente estudio para el nodo que separa al género paleotropical (*Tetraoponera*) de los géneros neotropicales (*Myrcidris*+*Pseudomyrmex*) fue de 95.80 ± 10.82 Ma (A' en Fig. 8), que corresponde al Cretácico Inferior. Este resultado es similar a la edad de divergencia (~100 Ma) entre los linajes africano y suramericano de las hormigas soldado (Brady, 2003), así como concordante con las edades propuestas por Goldblatt (1993; 84-106 Ma), McLoughlin (2001; 90-100 Ma) y en particular con la de Pitman *et al.* (1993; 95 Ma) para la separación entre África y Suramérica.

Cabe señalar que la subfamilia Pseudomyrmecinae es uno de los grupos más distintivos de hormigas que habitan el estrato arbóreo en las regiones tropicales y subtropicales. Muchas de ellas han desarrollado hábitos de anidación en ramas y tallos muertos en varias especies de plantas, de las cuales, poco más de 40 especies de hormigas son habitantes obligatorios de plantas mirmecófilas. Esta característica ha evolucionado al menos 10 veces dentro de la subfamilia y está presente en los tres géneros que la integran (Ward y Downie, 2005). Particularmente, dentro del género *Tetraoponera*, las especies del grupo *T. nigra* forman colonias

que ocupan ramas muertas de diversas plantas, aunque *T. tucurua* y *T. binghami* son habitantes obligatorios de plantas vivas como *Cupaniopsis* (Sapindaceae) y bambús (Poaceae) respectivamente, en donde además cultivan insectos escama (Coccoidea) (Ward, 1991; Klein *et al.* 1992). Asimismo, otras especies de *Tetraoponera* que presentan esta característica son *T. aethiops*, asociada a *Barteria fistulosa* (Passifloraceae) (Dejean *et al.*, 2008); *T. penzigi*, habitante obligatorio de *Acacia drepanolobium* (Young *et al.*, 1997); *T. tessmani*, reportada para *Vitex thyrsoiflora* (Lamiaceae) (Djleto-Lordon *et al.*, 2005) y *T. punctulata*, asociada a *Avicennia eucalyptifolia* (Acanthaceae), *Calophyllum inophyllum* (Clusiaceae), cinco especies de *Eucalyptus* (Myrtaceae), y *Rhizophora* sp. (Rhizophoraceae) (Ward, 2001). *Myrcidris epicharis* también es considerada como una hormiga que forma asociaciones con plantas, habitando en tallos huecos de *Myrcia* sp. (Myrtaceae) en el Amazonas (Ward, 1990).

Respecto a *Pseudomyrmex*, este género presenta el mayor número de especies que mantienen asociaciones muy estrechas con diversas plantas y sus integrantes han sido clasificados en nueve grupos morfológicos (Ward, 1989), de los cuales sólo siete (*P. ferrugineus*, *P. gracilis*, *P. oculatus*, *P. pallidus*, *P. sericeus*, *P. subtilissimus* y *P. tenuis*) han resultado monofiléticos en análisis con caracteres morfológicos y moleculares (Ward y Downie, 2005). El octavo grupo, *P. viduus* ha resultado monofilético sólo en análisis morfológicos (Ward, 1999), contrario a lo observado con caracteres moleculares (Ward y Downie, 2005). El noveno grupo, *P. pallens* no es monofilético, ni en análisis morfológicos ni moleculares (Ward y Downie, 2005). El presente estudio coincide con los resultados anteriores, en donde sólo los grupos *P. pallens* y *P. viduus* no son monofiléticos (G, K, L, Q, T en Figs. 7, 8).

Cabe resaltar que a diferencia del estudio realizado por Ward y Downie (2005), en el presente trabajo, aunque se incluye un menor número de especies, se establece el género *Pseudomyrmex* como un grupo monofilético con dos linajes fuertemente apoyados (D, F en Figs. 7, 8). El clado D, con un origen estimado en el Mioceno (12.48 ± 1.85 Ma) incluye a *P. filiformis*, especie aún no asignada a alguno de los grupos morfológicos, como taxa hermano del grupo *P. tenuis* (Figs. 7, 8). Este clado se distingue morfológicamente del resto de las especies de *Pseudomyrmex* porque en los machos, el lóbulo dorsoventral es marcadamente truncado, con forma alargada-subrectangular y de tres a seis veces más alto que largo (carácter 121 de Ward y Downie, 2005).

Aunque probablemente otro rasgo morfológico consista en que las reinas y trabajadoras presentan una conexión media débilmente esclerotizada y más bien membranosa (carácter 87 de Ward y Downie, 2005).

El otro linaje, situado también en el Mioceno (F: 17.18 ± 1.23 Ma) agrupa a la mayoría de los grupos reconocidos por Ward (1989), mismos que representan toda una combinación de hormigas generalistas así como a todas las especies mutualistas reportadas hasta el momento. Dentro de este clado principal, sólo los grupos *P. pallens* y *P. viduus* no son monofiléticos. Cabe señalar que los grupos con mayor número de especies mutualistas son *P. ferrugineus*, *P. oculatus* y *P. viduus*. El grupo monofilético *P. ferrugineus* es hermano de la especie *P. haytianus* (M: 6.68 ± 1.07 Ma; Figs. 7, 8). Esta última especie no se encuentra asignada a algún grupo morfológico y su relación con el grupo *P. ferrugineus*, reportada también con anterioridad (Kautz *et al.*, 2009), probablemente deba ser tomada en consideración para la futura delimitación del grupo. Es importante señalar que los machos del grupo *P. ferrugineus* y de *P. haytianus* son morfológicamente similares (Ward, 1993). Cabe resaltar la cercanía filogenética del grupo *P. ferrugineus* con la especie *P. haytianus*, endémica de Haití, lo cual refleja la unión histórica entre la mirmecofauna de las Antillas Mayores y Mesoamérica. Este patrón biogeográfico ha sido observado también en otros insectos caribeños (Liebherr, 1988).

El grupo *P. oculatus* incluye 11 especies y para ocho de ellas existen registros de anidación en ramas muertas de varias especies leñosas y arbóreas de la familia Leguminosae, entre las cuales se encuentran *Inga* sp., *Samanea saman* y *Prosopis juliflora*, entre muchas otras más (Ward, 1989). El grupo *P. viduus*, con 13 especies, representa un grupo interesante, debido a que cinco de éstas, entre las cuales figuran *P. viduus* y *P. dendroicus* (T: 1.68 ± 0.74 Ma; Figs. 7, 8), son habitantes obligatorios de *Triplaris* sp. (Polygonaceae), mientras que otras cinco, entre ellas *P. tachigaliae* y *P. concolor* (Q: 4.18 ± 1.05 Ma; Figs. 7, 8), son taxa restringidos a *Tachigalia* sp. (Leguminosae) (Ward, 1999). Por otra parte, es interesante resaltar la estrecha asociación entre los grupos *P. sericeus* y *P. gracilis* (I: 3.76 ± 0.97 Ma, J: 2.75 ± 0.67 Ma; Figs. 7, 8), de éste último grupo, las especies *P. gracilis* y *P. nigropilosus* han sido reportadas como parásitas del mutualismo neotropical (Kautz *et al.*, 2009).

6.5 Geología de México y Australia en el Mioceno

Como se mencionó anteriormente, los datos obtenidos en el presente trabajo sugieren que la diversificación de los tres subgéneros de *Acacia* (Tabla 11), así como del género *Pseudomyrmex* y los dos clados principales dentro de éste (C, D, F en Fig. 8; Tabla 10), sucedió en el Mioceno, periodo caracterizado por un aumento en la aridificación a consecuencia del calentamiento global (Zachos *et al.*, 2001). Los eventos ocurridos durante el Mioceno, como la formación del Océano sur y el enfriamiento de la Antártida, son parte de los procesos que podrían explicar el aumento global en la aridificación. A nivel mundial, el Mioceno es considerado como un periodo de gran importancia ya que es cuando, a consecuencia de las fluctuaciones de temperatura ocurridas, sucede un cambio en la línea de la vegetación tropical, la cual se desplaza desde de los 32° L.N. (en donde estaba situada en el Eoceno-Oligoceno), hasta los 23° L.N., con un ligero ascenso durante el Mioceno medio y superior, en donde alcanza los 26° L.N., y debido a lo anterior, la flora y fauna templadas invaden latitudes bajas (González-Medrano, 1998). Debido a que la mayoría de las especies de *Acacia* aquí incluidas habitan en nuestro país y considerando además que la mayor diversidad del género mencionado se encuentra en el continente australiano, se describe a grandes rasgos, la geología de México y de Australia.

El Mioceno es una etapa de gran importancia para la República Mexicana, ya que es cuando comienza el establecimiento de la fisiografía y modernización biológica, encontrando en aquellos tiempos condiciones semejantes a las actuales, lo que sugiere que la evolución geológica y biológica se ha desarrollado paralelamente. Si bien las principales cadenas montañosas en nuestro país se formaron básicamente a finales del Cretácico (~ 80 Ma), los eventos ecológicos ocurridos durante el Paleógeno (65-23.5 Ma) y particularmente en el Neógeno, periodo que incluye al Mioceno y al Plioceno (23.5-1.75 Ma), han sido relevantes. Esto es, las provincias que sufrieron cambios mayores en su configuración durante el Neógeno son el Golfo de California, la Sierra de La Giganta, la Faja Volcánica Transversal, la Sierra de Chiapas, la Llanura Costera del Golfo y la Península de Yucatán. Asimismo, durante este periodo, la Sierra Madre Oriental, la Sierra Madre Occidental y la Sierra Madre del Sur (cuya formaron corresponde al Paleógeno), experimentaron procesos graduales de levantamiento y erosión (Arroyo-Cabrales *et al.*, 2008).

Tales eventos se describen brevemente a continuación. El inicio de la formación del Golfo de California hace 22 Ma (Mioceno), fue debido a la interacción entre las placas del Pacífico y de Norteamérica, lo que ocasionó el hundimiento acelerado del Borde Continental y algunas áreas adyacentes, coincidente además con una elevación global del nivel del mar. La apertura del Golfo de California trajo como consecuencia el apilamiento de rocas volcánicas que conforman en parte a la Sierra de La Giganta. Esta sierra está constituida principalmente por rocas de arco magmático (andesitas) que se originaron a consecuencia del proceso de subducción de la placa Farallón hace aproximadamente 12 Ma (Mioceno) (Arroyo-Cabrales *et al.*, 2008). La formación de la Faja Volcánica Transmexicana o Cinturón Volcánico Transversal comienza hace aproximadamente 20 Ma (Mioceno), y la teoría más aceptada para su origen sugiere que su formación se debe a la asimilación de la Placa de Cocos por parte de la Placa Continental. Esta provincia fisiográfica está aún en proceso de emersión y ha tenido dos etapas principales de vulcanismo, que corresponden al Plioceno-Cuaternario y al Oligoceno-Mioceno, éste último asociado con la prolongación de la Sierra Madre Occidental (Aguayo y Trápaga, 1996). La Sierra Madre de Chiapas se forma a consecuencia de una intensa actividad tectónica a consecuencia del desplazamiento de la Plataforma de Yucatán en dirección noreste-sureste, durante el Mioceno (Aguayo y Trápaga, 1996), en otras palabras, los pliegues y fallas que conforman esta sierra representan una amplia faja de deformación inducida por el desplazamiento relativo de la Placa del Caribe respecto a la Norteamericana. La evolución de la Llanura Costera del Golfo de México y de la Península de Yucatán se han caracterizado por un retroceso general de la línea de costa, mismo que ha estado determinado por una tendencia general de descenso a escala global y a una relativa estabilidad tectónica de ambas regiones con un relleno abundante de sedimentos marinos. Este retroceso ha propiciado la emersión de al menos 50,000 km² en la zona del Pacífico (Arroyo-Cabrales *et al.*, 2008).

Las provincias mencionadas anteriormente conforman finalmente parte del marco geográfico y de la variada fisiografía de nuestro país. En resumen, conforme los mares se fueron retirando, se dio paso a la formación de cadenas montañosas, las cuales funcionan como barreras naturales que limitan el paso de corrientes de viento, humedad, lluvia, etcétera. En particular, el surgimiento de la Sierra Madre Oriental, tuvo principales consecuencias. En primer lugar, afectó el clima local, pues las montañas originan una sombra orográfica que provoca una aridez variable en las zonas que quedan a sotavento, favoreciendo el desarrollo de una biota más

xerófila; en contraste con la vertiente a barlovento en donde floreció una vegetación tropical en altitudes bajas. Otra de las consecuencias es el desarrollo de una zonación vertical de la vegetación, la cual puede apreciarse por ejemplo en Coatzacoalcos, Veracruz, en donde para mediados del Mioceno (*ca.* 16 Ma), la secuencia vertical de las comunidades era muy similar a la que actualmente se presenta en la mayor parte de la vertiente a barlovento de la Sierra Madre Oriental (González-Medrano, 1998).

Por otra parte, es bien conocido que Australia es un continente antiguo, así como uno de los más planos y áridos en el planeta. El promedio de elevación del continente es de sólo 330 m snm, con un máximo de relieve topográfico local de 1500 m. Dos terceras partes del continente son semiáridas y áridas (Quigley y Sandiford, 2010). En cuanto a la historia de este continente, el desarrollo del paisaje australiano que ahora conocemos empezó antes del rompimiento de Gondwana (Ollier, 1979). Los mapas paleogeográficos revelan que gran parte de Australia ha sido planicie desde tiempos del Cretácico, con periodos de rápida erosión que corresponder con una rápida sedimentación del material erosionado, así como periodos de lenta erosión y su correspondiente lenta sedimentación. En lo que respecta al nivel del mar, se mantuvo bajo desde el Paleoceno hasta el Eoceno inferior, con un posterior aumento a partir del Eoceno superior hasta el Mioceno temprano (Ollier, 1979). Australia ha migrado más de 3000 km NNE a una tasa de 6-7 cm/año sobre los últimos 45 Ma como parte de la placa Indo-Australiana, lo cual lo convierte en el continente de mayor movimiento desde el Eoceno (Sandiford, 2007; citado en Quigley y Sandiford, 2010).

La parte sur del continente, específicamente New South Wales, representa un área de tectonismo cuya planicie se formó durante el Cretácico, y sobre ésta se formó una nueva planicie a consecuencia de los depósitos pluviales en el Eoceno. Durante el Eoceno-Oligoceno, se presentó también una deposición volcánica, dando paso a la primer planicie post-basáltica, sobre la cual se formó una segunda planicie volcánica a consecuencia de una erupción ocurrida en el Mioceno. Lo anterior demuestra que las planicies en Australia son múltiples y antiguas (Ollier, 1979). El norte de Australia ha estado tectónicamente estable por grandes periodos de tiempo aunque los relieves presentes se deben en parte al levantamiento tectónico e incluso a periodos distintos de erosión (Quigley y Sandiford, 2010).

Australia ha sido considerado como un continente de relativa quietud tectónica, sin embargo, la actividad ocurrida desde el Neógeno (Mioceno-Plioceno) hasta el presente ha moldeado el paisaje (Quigley y Sandiford, 2010). Las cuencas sedimentarias del SE de Australia (e.g. Cuencas Gippsland y Otway) sufrieron levantamiento tectónico significativo acompañado de erosión ocurrida hace 8-6 Ma. En la parte centro-sur, las secuencias aluviales del Mioceno medio-tardío revelan cambios en la dirección de drenaje a partir del Este rumbo al Oeste, a consecuencia de un levantamiento tectónico. En el noroeste de Australia, comenzó una deformación transpresional y levantamiento de la plataforma hace 11-5 Ma, con distintos pulsos de deformación ocurridos hace 8-3 Ma.

Sandiford *et al.* (2004; citado en Quigley y Sandiford, 2010) atribuyen el inicio de la actividad tectónica hace 10-6 Ma (Mioceno) en el sureste de Australia al desarrollo sincrónico de la transgresión a lo largo de los límites de la placa IAP-Pacífico del sur de Nueva Zelanda, de la zanja Puyseguer y del puente Macquiarie. De cualquier forma, es incluso notable que el inicio de la deformación en el centro del Océano Índico alrededor de este tiempo ha sido atribuible al incremento en el nivel de tensión propagado por el sistema Himalayo-Tíbet. Estos resultados implican que las fuerzas ejercidas a partir de los cinturones orogénicos tienen consecuencias hasta algunos cientos de kilómetros al interior de las placas. El efecto combinado del hundimiento de la parte norte de la plataforma continental y la emergencia suroeste ha resultado en una inclinación de casi 300 metros sobre los últimos 15 Ma a una tasa de 10-20 m/Ma.

En cuanto a la vegetación australiana, a principios del Cenozoico, la evidencia fósil señala características afines con bosques lluviosos. Durante el Oligoceno tardío estuvo representado por bosques abiertos, cambiando nuevamente a bosques lluviosos en el Mioceno temprano y medio. El Mioceno tardío estuvo caracterizado por bosques abiertos, lo cual queda demostrado en la fauna de mamíferos de este periodo, misma que está representada por taxa que presentan adaptaciones para procesar vegetación característica de hábitats secos (Travouillon *et al.*, 2009).

6.6 Mutualismo neotropical

La relación entre las acacias mirmecófilas y sus hormigas asociadas ha sido una de las simbiosis mejor conocidas hasta el momento y es frecuentemente citada como ejemplo de coevolución desde Janzen (1966). La evolución de este mutualismo puede ser vista a nivel de especie y a nivel macroevolutivo. A nivel de especie, las adaptaciones recíprocas entre las acacias mirmecófilas y las hormigas del grupo *P. ferrugineus* refuerzan la propuesta de coevolución. Un ejemplo de ello es que las hormigas anidan de manera exclusiva en los domacios de estas acacias. Asimismo, evidencias recientes señalan que la composición química de las recompensas ofrecidas por estas plantas (cuerpos beltianos y néctar extrafloral) son también exclusivas para las hormigas residentes (Heil *et al.*, 2004, 2005). Los cuerpos beltianos proveen 10 aminoácidos considerados esenciales para los insectos, así como de ácidos grasos (ác. linoléico y ácido linolénico) necesarios como factores de crecimiento y para un desarrollo normal (Heil *et al.*, 2004). El néctar extrafloral carece de sacarosa, lo cual es favorable para las hormigas residentes, quienes, a diferencia del resto de las hormigas, carecen de invertasa en su sistema digestivo, enzima encargada de hidrolizar tal azúcar (Heil *et al.*, 2005).

A nivel macroevolutivo, las edades de divergencia obtenidas para los grupos de acacias mirmecófilas neotropicales (obtenida del análisis de cloroplasto) y *P. ferrugineus*, 5.44 ± 1.93 y 4.58 ± 0.82 Ma respectivamente, apoyan la propuesta de coevolución y sitúan el origen temporal de la relación mutualista *Acacia-Pseudomyrmex* a finales del Mioceno-principios del Plioceno (L en Fig. 5; N en Fig. 7). Tomando en consideración que los grupos involucrados en el mutualismo neotropical se encuentran relacionados cercanamente con los grupos caribeños, así como la geología presente en el Mioceno, en el presente trabajo se propone como el centro de origen de la relación mutualista *Acacia-Pseudomyrmex*, lo que actualmente es conocido como Mesoamérica, con una eventual diversificación de ambos grupos hacia el norte de México, principalmente a lo largo de las costas hasta el Trópico de Cáncer (Janzen, 1966). La mayor diversidad de especies de ambos grupos se encuentra en México, y en particular para las acacias mirmecófilas, esta distribución podría haber sido asistida por aves, quienes se alimentan de las semillas de estas plantas (Janzen, 1966, 1969).

Como se mencionó anteriormente, Janzen (1974; pág. 12) sugirió un origen polifilético para las acacias mirmecófilas neotropicales. Específicamente, propuso que el mutualismo pudo haber evolucionado más de una vez o que algunas especies no mirmecófilas pudieron adquirir esta característica por hibridación. En el presente estudio, la filogenia obtenida con marcadores de cloroplasto señala que todas las especies del grupo mirmecófilo forman un grupo monofilético, cuya edad de divergencia corresponde al Mioceno Tardío (L: 5.44 ± 1.93 Ma; Figs. 5, 6; Tabla 8).

Es importante mencionar que las acacias mirmecófilas neotropicales y el grupo *A. macracantha* se encuentran estrechamente relacionados por ancestría común hace 6.92 ± 2.49 Ma (J en Figs. 5, 6; Tabla 8). Clarke *et al.* (2000) señalaron que la radiación de las acacias mirmecófilas neotropicales podría haber sido a partir de un ancestro similar al grupo *Acacia macracantha*, debido a que ambos grupos presentan hojas grandes que emergen a partir de retoños largos, los cuales son producidos por plantas que habitan el bosque mésico. Cabe señalar que Janzen (1974) mencionó que la hibridación entre el grupo mirmecófilo y su grupo hermano (*A. macracantha*) parecía ser más común que entre mirmecófilas de distribución simpátrica. Al respecto, en este trabajo puede sugerirse el intercambio de flujo génico presente entre los grupos mirmecófilo y *A. macracantha*. Prueba de ello es *A. hirtipes*, la cual ha sido propuesta como el resultado de la hibridación entre la mirmecófila *A. hindsii* y la no-mirmecófila *A. pennatula*, y es considerada como el híbrido más común que involucra una acacia mirmecófila (Ebinger y Seigler, 1992).

Adicionalmente, es importante mencionar que *A. pennatula* (grupo *A. macracantha*) secreta néctar extrafloral sólo al final de la estación seca, tiempo al cual se encuentra asociada con hormigas *Brachymyrmex obscurior* (Formicidae), quienes obtienen alimento de los nectarios extraflorales, pero no ofrecen ninguna protección contra herbívoros (Moya-Raygoza, 2005). En este sentido, es importante recalcar que las especies del subgénero *Acacia* se caracterizan por presentar nectarios extraflorales, los cuales son considerados como preadaptaciones para el establecimiento de relaciones mutualistas (Davidson y McKey, 1993), por lo que no sería raro que estas plantas estén asociadas frecuentemente con hormigas. Por ejemplo, *A. constricta* (subgénero *Acacia*), ha sido relacionada principalmente con *Formica perpilosa*. Esta hormiga forma nidos permanentes en *Prosopis juliflora*, sin embargo, sus colonias se expanden después de las lluvias de verano hacia *A. constricta*, de donde obtienen néctar y sitios en los que pueden

cultivar orugas y homópteros (Nicklen y Wagner, 2006). Asimismo, en Arizona, se han encontrado individuos de *Myrmecocystus mimicus*, *Dorymyrmex* sp. (complejo *smithi*) y *Formica pruinosus* visitando comúnmente a *A. constricta* (Nicklen y Wagner, 2006).

Al igual que los nectarios, los domacios son estructuras de gran importancia en la evolución de relaciones mutualistas (Davidson y McKey, 1993), ejemplo de ello es *Acacia amentacea* (subgénero *Acacia*), especie que se distribuye desde la parte central de México hasta Texas, donde en algunas poblaciones como Atascoca (Texas), las espinas son anormalmente largas, de 8-9 cm y se encuentran habitadas por *Pseudomyrmex pallidus*. Las hormigas adultas hacen aberturas en las espinas jóvenes de las plantas y anidan dentro de ellas. No obstante, no proveen ninguna defensa a su hospedero, no son agresivas y sólo aguijonean cuando son molestadas (Seigler *et al.*, 1982).

6.7 Mutualismo paleotropical

Las acacias mirmecófilas africanas, *A. drepanolobium*, *A. luederitzii* y *A. seyal*, no forman un grupo monofilético, lo cual sugiere que la mirmecofilia derivó o se perdió al menos dos veces en el Viejo Mundo. Las edades de divergencia más antiguas para los grupos mirmecófilos paleotropicales y neotropicales son las obtenidas en el análisis con cloroplasto y corresponden a 7.08 ± 3.11 Ma y a 5.44 ± 1.93 Ma respectivamente (F y L en Figs. 5, 6; Tabla 8), lo que da cuenta de que la mirmecofilia ocurrió primero en África en comparación con el Neotrópico. Las especies africanas no presentan la gran diversidad y abundancia de nectarios extraflorales presentes en las neotropicales, sin embargo, *A. karroo* presenta una gran variación en las espinas estipulares, y en el interior de algunas de ellas se han encontrado nidos de hormigas de los géneros *Tetraoponera*, *Cataulacus* y *Leptothorax stramineus* (Lubertazzi, 2002).

Por otra parte, se consideraba que en el Viejo Mundo sólo había cuatro especies mirmecófilas pertenecientes al género *Acacia*, sin embargo, recientemente Kocheril y Krishnamurthy (2009) señalaron que semejante al mutualismo neotropical, cuatro especies de *Acacia* de la India mantienen una asociación mutualista con hormigas. Tales autores mencionan que *Camponotus leonardi* Emery (citada como *Colobopsis pubescens*), es específica a *Acacia horrida*. Asimismo

reportan que *A. eburnea* es habitada por *Tetraoponera allaborans* (Walter), (citada como *Sima allaborans*) y *Pheidole symthiesii*, en tanto que la hormiga *Pheidole indica* forma asociaciones temporales con *A. nilotica* y *A. leucopholea*. Los autores mencionan que tales hormigas patrullan las ramas con domacios; visitan frecuentemente las flores de estas acacias y al menor disturbio salen en grandes números y proveen de protección a sus hospederos. Asimismo refieren que los domacios que no son ocupados por hormigas son colonizados frecuentemente por hongos, caracoles (*Stylommatophora*), arañas, coleópteros y lepidópteros.

Tomando en consideración que las estípulas modificadas representan una preadaptación para el desarrollo de domacios y en consecuencia para el establecimiento de posibles relaciones mutualistas (Davidson y McKey, 1993) sería de gran importancia realizar observaciones en especies que las presentan, como por ejemplo en *Acacia latispina*, una especie descrita recientemente, endémica del norte de Mozambique, la cual se caracteriza por presentar estípulas aladas prominentemente grandes que se asemejan a las estípulas de *A. cochliacantha* (Burrows y Burrows, 2009), y para la cual se carece de registros de visitantes florales, de polinizadores, etcétera.

6.8 Tasas de diversificación

Las tasas de diversificación han sido utilizadas recientemente para tratar de explicar la diversidad biológica, permitiendo la identificación de grupos con tasas estimadas de diversificación excepcionalmente altas, como en *Kikihia* (Cicadaceae) (0.54 sp/Ma; Marshall *et al.*, 2008), las Aizoaceae africanas (0.77-1.75 sp/Ma; Klack *et al.*, 2004), las silversword hawaianas (0.56 ± 0.17 sp/Ma; Baldwin y Sanderson, 1998) y el género *Agave* (0.51 ± 0.06 sp/Ma; Good-Avila *et al.*, 2006). Malcomber (2002) sugiere que en el género *Gaertnera* (Rubiaceae) la alta tasa de diversificación presente (0.717-0.832 sp/Ma) está correlacionada con un cambio en la morfología de la corola. En los géneros neotropicales *Costus* (Costaceae) y *Lupinus* (Leguminosae) con 0.6-2.6 y 2.49-3.72 sp/Ma respectivamente, se ha propuesto que tales valores son el resultado de una radiación reciente (Kay *et al.*, 2005; Hughes y Eastwood, 2006). Semejante a esta propuesta, las tasas de diversificación altas presentes en los géneros *Inga* (0.5 sp/Ma, calculada a partir de los datos de Richardson *et al.*, 2001) y *Acaciella* (Tabla 4) podrían deberse a que ambos son taxa de origen reciente.

En contraste, la tasa de diversificación para todo el subgénero *Acacia* es menor a lo mencionado anteriormente (0.341 sp/Ma y $r_{0.0}=0.294$, $r_{0.9}=0.186$; Tabla 4). El valor obtenido para el linaje del Nuevo Mundo es similar al que presenta todo el subgénero (0.321 sp/Ma y $r_{0.0}=0.265$, $r_{0.9}=0.143$; Tabla 4), en tanto que para el linaje del Viejo Mundo incrementa un poco (0.395 sp/Ma y $r_{0.0}=0.331$, $r_{0.9}=0.189$; Tabla 4). Dentro de los grupos del Nuevo Mundo en el subgénero *Acacia*, las tasas de diversificación aumentan conforme la distribución de las especies se aproximan al ecuador, esto es, la menor tasa de diversificación corresponde al grupo *A. constricta* (0.201 sp/Ma y $r_{0.0}=0.115$, $r_{0.9}=0.035$; Tabla 4), el cual se distribuye principalmente en ambientes áridos. Para los grupos *A. farnesiana* (0.378 sp/Ma y $r_{0.0}=0.270$, $r_{0.9}=0.101$; Tabla 4) y *A. macracantha* (0.424 sp/Ma y $r_{0.0}=0.274$, $r_{0.9}=0.090$; Tabla 4), las tasas son ligeramente mayores y son similares a la del subgénero *Acacia* en el Viejo Mundo. Cabe señalar que para estos últimos dos grupos fue posible obtener las tasas de diversificación con base en la filogenia obtenida con *ITS*, y los valores son mucho mayores a los obtenidos con la filogenia de cloroplasto; esto es, de 0.731 sp/Ma y $r_{0.0}=0.519$, $r_{0.9}=0.194$ para el grupo *A. farnesiana*; y de 0.972 sp/Ma y $r_{0.0}=0.626$, $r_{0.9}=0.207$ para el grupo *A. macracantha* (Tabla 4). Estas diferencias se deben principalmente a las edades de divergencia obtenidas, mismas que indican un origen más reciente a partir de los datos de *ITS* (Tabla 4).

Las mayores tasas de diversificación de todo el subgénero *Acacia* en el Nuevo Mundo corresponden a los grupos *A. acuífera* (0.457 sp/Ma y $r_{0.0}=0.330$, $r_{0.9}=0.127$; Tabla 4) y mirmecófilo (0.496 sp/Ma y $r_{0.0}=0.370$, $r_{0.9}=0.151$; Tabla 4), cuyas especies se distribuyen principalmente en regiones tropicales húmedas, usualmente en latitudes bajas y son las únicas especies del género en el Nuevo Mundo, cuyas semillas están rodeadas de arilos esponjosos, los cuales son consumidos por aves. La tendencia a presentar mayores tasas de diversificación en el trópico húmedo ha sido reportada para angiospermas en general así como para aves paserinas y mariposas (Cardillo, 1999; Cardillo *et al.*, 2005; Janson y Davies, 2008). Para las acacias mirmecófilas neotropicales, el valor encontrado podría deberse a la relación mutualista con las hormigas del grupo *Pseudomyrmex ferrugineus*, quienes probablemente pudieron haber inducido características morfológicas tales como la proliferación de nectarios extraflorales altamente desarrollados en los pecíolos de las hojas y la presencia de cuerpos beltianos en la punta de los foliolos.

Respecto a las especies del subgénero *Phyllodineae*, se obtuvieron dos estimados de diversificación, de los cuales, el calculado a partir de los resultados obtenidos con ITS (0.674 sp/Ma y $r_{0.0}= 0.607$, $r_{0.9}=0.446$; Tabla 4) es tres veces menor al obtenido con los datos de cloroplasto (2.087 sp/Ma y $r_{0.0}= 1.879$, $r_{0.9}=1.383$; Tabla 4). Las diferencias entre tales valores se deben a las edades de divergencia, como se mencionó anteriormente para los grupos *A. farnesiana* y *A. mcracantha*, y no obstante, se encuentran entre las más altas reportadas hasta el momento para otros taxa (Baldwin y Sanderson, 1998; Malcomber, 2002; Klack *et al.*, 2004; Good-Avila *et al.*, 2006; Marshall *et al.*, 2008). En particular, para este subgénero, la tasa de diversificación alta podría ser reflejo de la presión que han ejercido las condiciones de aridez constante en el continente australiano desde hace aproximadamente 10 Ma (Bowman y Yeates, 2006).

Por otra parte, las tasas de diversificación en insectos varían de 0.048 a 0.060 sp/Ma en Coleoptera (Hunt *et al.*, 2007), hasta 4.17 sp/Ma en *Laupala* (Gryllidae), un género hawaiano de grillos que presenta el mayor valor registrado en artrópodos, y para el cual se ha propuesto que las diferencias en el comportamiento sexual han sido las fuerzas que conllevaron a la especiación. En particular, para taxa de hormigas, Moreau (2008) menciona que en *Pheidole* (Formicidae), género con el mayor número de especies en todo el mundo (1,100), y cuya edad de divergencia es de 58.4-61.2 Ma, la tasa de diversificación es de 0.108-0.103 sp/Ma.

La tasa de diversificación obtenida para el género neotropical *Pseudomyrmex* (0.264 sp/Ma y $r_{0.0}= 0.230$, $r_{0.9}=0.149$; Tabla 4) es mayor a la sugerida para *Pheidole*. De los siete grupos monofiléticos de *Pseudomyrmex*, sólo el grupo *P. tenuis* tiene una tasa de diversificación baja, incluso menor a la de todo el género (0.147 sp/Ma y $r_{0.0}= 0.073$, $r_{0.9}=0.021$; Tabla 4). En contraste, los grupos *P. gracilis* (0.913 sp/Ma y $r_{0.0}= 0.728$, $r_{0.9}=0.354$; Tabla 4), *P. oculatus* (0.911 sp/Ma y $r_{0.0}= 0.648$, $r_{0.9}=0.243$; Tabla 4), *P. pallidus* (1.136 sp/Ma y $r_{0.0}= 0.897$, $r_{0.9}=0.423$; Tabla 4) y *P. sericeus* (0.984 sp/Ma y $r_{0.0}= 0.732$, $r_{0.9}=0.299$ Tabla 4) tienen tasas de diversificación muy altas. Cabe señalar que las especies de estos grupos se asocian con una gran diversidad de plantas, principalmente leguminosas, aunque las especies del grupo *P. sericeus* se relacionan también con integrantes de las familias Boraginaceae, Lauraceae y Polygonaceae, lo cual podría estar ofreciendo nuevos hábitats para la colonización y en consecuencia, los valores altos de

diversificación obtenidos podrían ser el resultado de la asociación de estos grupos de hormigas con una mayor cantidad de plantas. Los grupos *P. subtilissimus* (0.410 sp/Ma y $r_{0.0}= 0.205$, $r_{0.9}=0.059$; Tabla 4) y *P. ferrugineus* (0.502 sp/Ma y $r_{0.0}= 0.351$, $r_{0.9}=0.128$; Tabla 4) presentan valores intermedios de diversificación. Este último grupo se asocia estrictamente con las acacias mirmecófilas neotropicales y probablemente este tipo de asociación ha tenido un efecto sobre su tasa de diversificación, de tal manera que podría considerarse que el mutualismo obligatorio ha tenido un mayor costo para el grupo *P. ferrugineus*, cuyas especies han tenido que desarrollar modificaciones fisiológicas (Kautz *et al.*, 2009).

6.9 Mosaico geográfico *Acacia-Pseudomyrmex*.

La relación entre las acacias mirmecófilas y sus hormigas asociadas es citada frecuentemente como ejemplo de *coevolución*, término que ha sido empleado para referirse al cambio recíproco de especies interactuantes, en donde cada especie actúa como un agente de selección natural con respecto de la otra (Thompson, 2003). Tradicionalmente, se ha considerado que la coevolución implica interacciones uno a uno en el sentido estricto, y en estos casos la selección recíproca resulta en filogenias congruentes (Weiblen y Bush, 2002; Johnson y Clayton, 2004), como en los sistemas hospedero-parásito *Yuca-Tegeticula* y *Ficus-Agaonide*. Sin embargo este tipo de relaciones constituyen el extremo ideal y podrían representar el límite de todas las posibles formas en las que puede ocurrir el proceso coevolutivo (Thompson, 2003).

No obstante, en la naturaleza es más común encontrar ejemplos en donde la unidad evolutiva de interacción incluye a más de un par de especies, es decir, las especies interactúan de distintas maneras en diferentes poblaciones, generando toda una gama de características que son el resultado de la selección natural, y para cuyos casos los cambios de hospedero son más probables debido a que los taxa involucrados comúnmente difieren con las especies que interactúan. Para este tipo de relaciones se han empleado los términos de *coevolución difusa*, *coevolución de gremio* o *coevolución multiespecífica*, conceptos que originalmente fueron aplicados a fin de considerar este tipo de interacciones como poco específicas (Thompson, 2003).

Ward (1993) propuso al mutualismo *Acacia-Pseudomyrmex* como un ejemplo de coevolución difusa debido a que las acacias pueden estar asociadas al mismo tiempo y espacio con más de una especie de hormiga. Asimismo las hormigas hospederas también pueden habitar diferentes especies de acacias mirmecófilas en tiempo y espacio. La comparación entre las filogenias de las acacias mirmecófilas y el grupo *P. ferrugineus* realizada en este estudio revela la ausencia de una congruencia filogenética, lo cual es reflejo del cambio constante de hospedero por parte de las hormigas, mismo que depende de la distribución geográfica de ambos grupos involucrados (Fig. 9). Este escenario es similar a lo que se ha encontrado para otros sistemas mutualistas hormiga-planta como en *Azteca-Cecropia* (Ayala *et al.*, 1996); *Crematogaster-Macaranga* (Feldhaar *et al.*, 2003; Quek *et al.*, 2004) y *Petalomyrmex-Leonardoxa* (Chenuil y McKey, 1996).

Por otra parte, al aplicar el término coevolución difusa se tiende a considerar que las relaciones entre los participantes son laxas y que por lo tanto no estarían ejerciendo una fuerte presión de selección hacia el otro participante, razón por la cual Thompson (2003) propone una alternativa que permite explicar de una manera más precisa lo que implica interactuar y evolucionar simultáneamente con más de una especie, llamada "Teoría del mosaico geográfico". En esta teoría propone básicamente que el proceso coevolutivo es altamente dinámico, por lo que las adaptaciones pueden aparecer o desaparecer debido a que algunas poblaciones se vuelven sumamente especializadas con respecto a un interactuante mientras que en otras tal interacción puede ser menos especializada. Asimismo, algunas de estas poblaciones podrían estar fuera del área de distribución geográfica de su especie interactuante, lo cual ocasionaría la probable pérdida de algunas de las adaptaciones que les permitan interactuar o el surgimiento de nuevas adaptaciones para establecer relaciones con otras especies; por lo tanto, el curso global de la coevolución entre dos o más especies está impulsada por este mosaico geográfico, siempre cambiante de interacciones.

Los sistemas mutualistas africano (*Acacia-Crematogaster-Tetraponera*) y neotropical (*Acacia-Pseudomyrmex*) ofrecen un buen ejemplo para aplicar esta teoría. Respecto a las mirmecófilas africanas, la especie más estudiada es *Acacia drepanolobium*, en la cual coexisten básicamente cuatro especies de hormigas (*Crematogaster mimosae*, *C. nigriceps*, *C. sjostedti* y *Tetraponera penzigi*). De ellas, *C. mimosae* es la residente más común y es la especie que defiende activamente

a su hospedero, especialmente las ramas jóvenes. *C. sjostedti*, a pesar de que no anida dentro de los domacios y prefiere para ello las ramas muertas localizadas en la base de tales acacias, defiende a su hospedero en contra de las otras tres especies que las habitan. *C. nigriceps* tiene un comportamiento peculiar, ya que poda todas las ramas con yemas florales, a fin de inducir en las plantas una mayor producción de hojas con domacios, por lo cual esteriliza a su hospedero. *T. penzigi* no responde activamente a los disturbios en el hospedero y se alimenta de los nectarios extraflorales. Estas dos últimas especies son más comunes en árboles pequeños (Palmer *et al.*, 2000).

Particularmente, en el mutualismo neotropical, las hormigas con mayor distribución como *P. ferrugineus* y *P. peperi*, anidan en un mayor número de acacias mirmecófilas. En contraparte, especies con menor distribución como *P. particeps* (restringida a Costa Rica), *P. satanicus* (restringida a Panamá) y *P. janzenii* (restringida al oeste de México), han sido observadas sólo en una especie de *Acacia*, lo cual probablemente pueda representar ejemplos de coevolución local por parte de estos interactuantes (Ward, 1993). El escenario puede ser aún más complicado, debido a que estas plantas pueden incluso estar habitadas simultáneamente por hormigas que no pertenecen al grupo *P. ferrugineus* o por otros géneros, como en *A. cedilloi*, en donde además de la hormiga mutualista *P. peperi*, se encontraron tres especies más (*Cephalotes* sp., *Crematogaster torosa* y *P. gracilis*). Asimismo, también en dos individuos de *A. cornigera* sobresale la coexistencia de *P. mixtecus* y *P. subtilissimus* con hormigas del género *Crematogaster* (Tabla 1), lo cual no había sido reportado con anterioridad y podría implicar una nueva asociación para acacias mirmecófilas neotropicales.

Raine *et al.* (2004) realizaron un estudio detallado en una población de *Acacia mayana*, donde encontraron que el 76.5% de 34 individuos estudiados estaba ocupado exclusivamente por *P. ferrugineus* (especie mutualista), en tanto que en el 23.5% restante se encontraba esta misma especie de hormiga coexistiendo con *Camponotus planatus*, la cual representa un parásito del mutualismo, puesto que no defiende a su hospedero. Cabe señalar que en los individuos que presentaban ambas especies de hormigas, la mutualista *P. ferrugineus* ocupa principalmente los domacios cercanos a las ramas nuevas que es donde se encuentran básicamente los cuerpos

beltianos, debido a que estas estructuras son utilizadas exclusivamente para alimentar a las pupas y una vez que son cortadas de la hojas, no son producidos nuevamente por las plantas.

En un estudio similar, Clement *et al.* (2008) estudiaron cuatro especies de acacias mirmecófilas neotropicales (*A. chiapensis*, *A. collinsii*, *A. cornigera* y *A. hindsii*), en las cuales encontraron como hormiga residente a la mutualista *P. ferrugineus*, coexistiendo con otras especies tanto del género *Pseudomyrmex* como de otros géneros. Respecto a su distribución espacial, observaron que plantas de menos de 1 metro de altura, podían estar ocupadas por más de una especie de hormiga, aunque en ramas separadas. El caso más extremo fue *A. hindsii*, en donde observaron tres especies del grupo obligatorio (*P. ferrugineus*, *P. mixtecus* y *P. peperii*) y dos especies no mutualistas (*P. gracilis* y *P. nigropilosus*). Al igual que en el trabajo reportado por Raine *et al.* (2004), las hormigas no mutualistas se encontraron habitando las partes bajas de las plantas, mismas que no son visitadas por las hormigas mutualistas residentes.

Finalmente, el mosaico de interacciones puede verse reflejado cuando se comparan las filogenias obtenidas para ambos grupos (Fig. 9). En dicha propuesta filogenética se encuentran todas las posibles relaciones reportadas hasta el momento, por lo menos para los grupos que integran el mutualismo obligatorio neotropical y en donde es posible comprobar que el proceso coevolutivo es mucho más dinámico de lo que se expresa en estudios de poblaciones individuales o de distribución. Dicha estructuración permite que la evolución general de una especie sea producto de la coevolución con varias especies, aunque las poblaciones individuales estén especializadas sólo hacia una o dos especies (Thompson, 2003).

7. Conclusiones

El muestreo realizado en el presente estudio es limitado, sin embargo, es posible apreciar que los tres subgéneros del género *Acacia* (*Acacia*, *Aculeiferum* y *Phyllodineae*) diversificaron en el Mioceno, probablemente en respuesta al incremento de aridez y estacionalidad que caracterizaron a ese periodo. En particular, en el Nuevo Mundo, las especies del subgénero *Acacia* diversificaron primeramente en latitudes norteñas (grupo *Acacia constricta*), invadiendo subsecuentemente latitudes hacia el sur, lo cual queda demostrado por la estructuración geográfica filogenética y las edades de divergencia obtenidas para los grupos de las especies americanas.

En el presente estudio queda clara la monofilia del género *Pseudomyrmex*, así como de los grupos *P. ferrugineus*, *P. gracilis*, *P. oculatus*, *P. pallidus*, *P. sericeus*, *P. subtilissimus* y *P. tenuis*. Sin embargo, para algunos de estos grupos hace falta una mayor representatividad, a fin de reforzar tanto las relaciones filogenéticas observadas en este estudio, como las edades de divergencia y en consecuencia las tasas de diversificación, ya que la baja representatividad puede conllevar a ambigüedades en las edades y en las tasas de diversificación estimadas.

Las edades estimadas para los grupos de acacias mirmecófilas neotropicales y sus hormigas mutualistas (*Pseudomyrmex ferrugineus*) muestran un origen reciente, e ilustran el posible papel del mutualismo acacia-hormiga en la divergencia y especiación en las acacias mirmecófilas. Al respecto, las asociaciones reportadas para acacias del grupo *A. macracantha* (taxa hermano de las acacias mirmecófilas neotropicales), como *Acacia pennatula* + *Brachymyrmex obscurior*, podrían dar indicios de cómo fue surgiendo el mutualismo neotropical; y estos análisis podrían complementarse con estudios de colonización e interacciones de todas las hormigas que habitan o visitan las plantas tanto mirmecófilas como de su grupo hermano.

Los mutualismos de *Acacia-Pseudomyrmex* y *Acacia-Crematogaster-Tetraoponera*, ofrecen una excelente oportunidad para realizar estudios de colonización e interacciones, pues los reportes conocidos a la fecha incluyen principalmente unas cuantas poblaciones de las especies con mayor distribución geográfica como *A. collinsii*, *A. cornigera* y *A. hindsii* en el Nuevo Mundo y *A. drepanolobium* en África. De tal forma que esta información representa en términos específicos

puntos dispersos, que aún cuando permiten tener una visión general de lo que está sucediendo en estos mutualismos, sería recomendable analizar en la medida de lo posible un mayor número de poblaciones a fin de tener una mejor comprensión de estos sistemas.

La comparación realizada entre las filogenias de los grupos involucrados en el mutualismo neotropical reflejan sólo de manera general las relaciones y características que han logrado fijarse a través del tiempo para todas las poblaciones de tales especies. No obstante, revela también que tanto la coevolución (observable además en las modificaciones fisiológicas de las hormigas; las adaptaciones morfológicas en las plantas; y las fechas estimadas de divergencia), como la colonización intragenérica han sido dos procesos de gran importancia que han tenido lugar durante la evolución de este mutualismo.

Finalmente, sería deseable complementar los resultados obtenidos en el presente estudio, con otro tipo de análisis, como el de la medición de tasas de sustitución, a fin de evaluar la tendencia de las tasas de sustitución en los diferentes grupos analizados, particularmente en los clados mirmecófilos, en donde probablemente podría presentarse un aumento. Asimismo, sería recomendable realizar estudios de variabilidad genética intraespecífica para los grupos que presentan estructuración filogenética geográfica (subgénero *Acacia*), a fin de corroborar si la variabilidad presente también está estructurada geográficamente, como lo sugerido para otros taxa.

8. Literatura citada

- Abouheif, E., Wray, G.A., 2002. Evolution of the gene network underlying wing polyphenism in ants. *Science* 297: 249-252.
- Aguayo, J.E., Trápaga, R., 1996. Geodinámica de México y minerales del mar. Fondo de Cultura Económica, México, D.F., 105 p.
- Althoff, D.M., Seagraves, K.A., Leebens-Mack, J., Pellmyr, O., 2006. Patterns of speciation in the Yucca moths: parallel species radiations within the *Tegeticula yuccasella* species complex. *Systematic Biology* 55: 398-410.
- Amador-Vargas, S., 2008. Spartan defense in the Thermopylase pass: Strategic defense by aggregations of *Pseudomyrmex spinicola* (Hymenoptera, Formicidae) on the trunk of *Acacia collinsii* (Mimosaceae). *Insectes Sociaux* 55: 241-245.
- Ariati, R.A., Murphy, D.J., Udovicic, F., Ladiges, P.Y., 2006. Molecular phylogeny of three groups of acacias (*Acacia* subgenus *Phyllodineae*) in arid Australia based on the internal and external spacer regions of nrDNA. *Systematics and Biodiversity* 4: 417-426.
- Arroyo-Cabrales, J., Carreño, A.L., Lozano-García, S., Montellano-Ballesteros, M., Cevallos-Ferriz, S., Corona, E., Espinosa-Arrubarrena, L., Guzmán, A.F., Magallón-Puebla, S., Morán-Zenteno, D.J., Naranjo-García, E., Olivera, M.T., Polaco, Ó.J., Sosa, N.S., Téllez-Duarte, M., Tovar-Liceaga, R.E., Vázquez-Selem, L., 2008. La diversidad en el pasado. In: Sarukhán, J. (Ed.) Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO, México pp 227-262.
- Ayala, F.J., Wetterer, J.K., Longino, J.T., Hartl, D.L., 1996. Molecular phylogeny of *Azteca* ants (Hymenoptera: Formicidae) and the colonization of *Cecropia* trees. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 5: 423-428.
- Bailey, N.T.J., 1964. Elements of stochastic processes with applications to the natural sciences. Wiley Eastern Ltd., New Delhi.
- Baldwin, B.G., Sanderson, M.J., 1998. Age and rate of diversification of the Hawaiian silversword alliance (Compositae). *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 95: 9402-9406.
- Baldwin, B.G., Sanderson, M.J., Porter, M.J., Wojciechowski, M.F., Campbell, C.S., Donoghue, M.J., 1995. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: A valuable source of evidence on Angiosperm phylogeny. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 82 (2): 247-277.
- Beattie, A.J., Turnbull, C., Knox, R.B., Williams, E.G., 1984. Ant inhibition of pollen function: a possible reason why ant pollination is rare. *American Journal of Botany* 71(3): 421-426.

- Bell, C.D., Donoghue, M.J., 2005. Dating the diversification of Dipsacales: comparing models, genes and evolutionary implications. *American Journal of Botany* 92: 284-296.
- Bessega, C., Vilardi, J.C., Saidman, B.O., 2006. Genetic Relationships among American Species of the Genus *Prosopis* (Mimosoideae-Leguminosae) Inferred from ITS Sequences: Evidence for Long-Distance Dispersal. *Journal of Biogeography* 33(11): 1905-1915.
- Bowman, D., Yeates, D., 2006. A remarkable moment in Australian biogeography. *New Phytologist* 170: 208-212.
- Brady, S.G., 2003. Evolution of the army ant syndrome: the origin and long-term evolutionary stasis of a complex of behavioural and reproductive adaptations. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 100: 6575-6579.
- Brower, A.V.Z., De Salle, R., 1998. Patterns of mitochondrial versus nuclear DNA sequence divergence among nymphalid butterflies: the utility of *wingless* as a source of characters for phylogenetic inference. *Insect Molecular Biology* 7 (1): 73-82.
- Brown, G.K., Ariati, R.A., Murphy, D.J., Miller, J.Y., Ladiges, P.Y., 2006. Bipinnate acacias (*Acacia* subgénero *Phyllodineae* sect. *Botrycephalae*) of eastern Australia are polyphyletic based on DNA sequence data. *Australian Systematic Botany* 19: 315-326.
- Brown, G.K., Murphy, D.J., Miller, J.T., Ladiges, P.Y., 2008. *Acacia* s.s. and its relationship among tropical legumes, tribe Ingeae (Leguminosae: Mimosoideae). *Systematic Botany* 33(4): 739-751.
- Burrows, J.E., Burrows, S.M., 2009. A new species of *Acacia* from Northern Mozambique. *Bothalia* 39 (2): 222-225.
- Cameron, S.A., Williams, P.H., 2003. Phylogeny of bumble bees in the New World subgenus *Fervidobombus* (Hymenoptera: Apidae): congruence of molecular and morphological data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 34: 321-331.
- Campbell, D.L., Brower, A.V.Z., Pierce, N.E., 2000. Molecular evolution of the *wingless* gene and its implications for the phylogenetic placement of butterfly family Riodinidae (Lepidoptera: Papilionidae). *Molecular Biology and Evolution* 17:684-696.
- Cardillo, M., 1999. Latitude and rates of diversification in birds and butterflies. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 266: 1221-1225.
- Cardillo, M., Orme, C.D.L., Owens, I.F.P., 2005. Testing for latitudinal bias in diversification rates: an example using new world birds. *Ecology* 86: 2278-2287.

- Chappill, J.A., Maslin, B.R., 1995. A phylogenetic assessment of tribe Acacieae. *In*: Crisp, M.D., Doyle, J.J. (Eds.), *Advances in Legume Systematics, part 7*. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 77-99.
- Chenuil, A., McKey, D., 1996. Molecular phylogenetic study of a myrmecophyte symbiosis: did *Leonardoxa*/ant associations diversify via cospeciation? *Molecular Phylogenetics and Evolution* 6: 270-286.
- Clarke, H.D., Downie, S.R., Seigler, D.S., 2000. Implications of chloroplast DNA restriction site variation for systematics of *Acacia* (Fabaceae: Mimosoideae). *Systematic Botany* 25: 618-632.
- Clarke, H.D., Seigler, S.D., 1991. The systematics of *Acacia* series *Gummiferae* in the Caribbean. *American Journal of Botany* 78: 173-174.
- Clarke, H.D., Seigler, D.S., Ebinger, J.E., 1989. *Acacia farnesiana* (Fabaceae: Mimosoideae) and related species from Mexico, the southwestern U.S. and the Caribbean. *Systematic Botany* 14: 549-564.
- Clarke, H.D., Seigler, D.S., Ebinger, J.E., 1990. *Acacia constricta* (Fabaceae: Mimosoideae) and related species from the southwestern U.S. and Mexico. *American Journal of Botany* 77(3): 305-315.
- Clarke, H.D., Seigler, D.S., Ebinger, J.E., 2009. Taxonomic revision of the *Vachellia acuífera* species group (Fabaceae: Mimosoideae) in the Caribbean. *Systematic Botany* 34: 84-101.
- Clement, L.W., Köppen, S.C., Brand, W.A., Heil, M., 2008. Strategies of a parasite of the ant-*Acacia* mutualism. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 26: 953-962.
- Cutler, D.J., 2000. Estimating divergence times in the presence of an overdispersed molecular clock. *Molecular Biology and Evolution* 17: 1647-1660.
- Davidson, D.W., McKey, D., 1993. The evolutionary ecology of symbiotic ant-plant relationships. *Journal of Hymenopteral Research* 2 (1): 13-83.
- Davidson, D.W., Morton, S.R., 1984. Dispersal adaptations of some *Acacia* species in the Australian arid zone. *Ecology* 65 (4): 1038-1051.
- Djleto-Lordon, C., Orivel, J., 2008. The plant ant *Tetraoponera aethiops* (Pseudomyrmecinae) protects its host myrmecophyte *Barteria fistulosa* (Passifloraceae) through aggressiveness and predation. *Biological Journal of the Linnean Society* 93(1): 63-69.
- Diniz-Filho, J.A.F., Rangel, T.F.L.V.B., Bini, L.M., Hawkins, B.A., 2007. Macroevolutionary dynamics in environmental space and the latitudinal diversity gradient in new world birds. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* 274: 43-52.

- Djileto-Lordon, C., Dejean, A., Ring, R.A., Nkongmeneck, B.A., Lauga, J., McKey, D., 2005. Ecology of an improbable association: The Pseudomyrmecine plant-ant *Tetraponera tessmanni* and the myrmecophytic liana *Vitex thyrsoflora* (Lamiaceae) in Cameroon. *Biotropica* 37 (3): 421-430.
- Dlussky, G.M., 1997. Genera of ants (Hymenoptera: Formicidae) from Baltic Amber. *Paleontological Journal* 31: 616-627.
- Doyle, J.A., Donoghue, M.J., 1993. Phylogenies and angiosperm diversification. *Paleobiology* 19: 141-167.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L., 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19: 11-15.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L., Ho, J.C., Nesbitt, T.C., 1998. Patterns of paralogy and concerted evolution in the leghemoglobine gene family of *Glycine* (Leguminosae). *American Journal of Botany* 85: S64-S65.
- Ebinger, J.E., Seigler, D.S., 1992. Ant-acacia hybrids of Mexico and Central America. *The Southwestern Naturalist* 37: 408-414.
- Feldhaar, H., Fiala, B., Gadau, J., Mohamed, M., Maschwitz, U., 2003. Molecular phylogeny of *Crematogaster* subgenus *Decacrema* ants (Hymenoptera: Formicidae) and the colonization of *Macaranga* (Euphorbiaceae) trees. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 27: 441-452.
- Fiala, B., Maschwitz, U., 1992a. Domatia as most important adaptations in the evolution of myrmecophytes in the paleotropical tree genus *Macaranga* (Euphorbiaceae). *Plant Systematics and Evolution* 180: 53-64.
- Fiala, B., Maschwitz, U., 1992b. Food bodies and their significance for obligate ant-association in the tree genus *Macaranga* (Euphorbiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 110: 61-75.
- Fiala, B., Jacob, A., Maschwitz, U., Linsenmair, K.E., 1999. Diversity, evolutionary specialization and geographic distribution of a mutualistic ant-plant complex *Macaranga* and *Crematogaster* in South East Asia. *Biological Journal of the Linnean Society* 66: 305-331.
- Figueroa-Castro, D.M., Castaño-Meneses, G., 2004. Hormigas (Hymenoptera: Formicidae) asociadas a *Acacia cedilloi* L. Rico (Mimosaceae) en la reserva ecológica "El Edén", Quintana Roo, México. *Entomología Mexicana* 3: 208-211.
- Fischer, R.C., Wanek, W., Ritcher, A., Mayer, V., 2003. Do ants feed plants? A ¹⁵N labeling study of nitrogen fluxes from ants to plants in the mutualism of *Pheidole* and *Piper*. *Journal of*

Ecology 91: 126-134.

- Fonseca, C.R., Ganade, G., 1996. Asymmetries, compartments and null interactions in an Amazonian ant-plant community. *Journal of Animal Ecology* 65: 339-347.
- Gadau, J., Heinze, J., Hölldobler, B., Schmid, M., 1996. Population and colony structure of the carpenter ant *Camponotus floridanus*. *Molecular Ecology* 6: 785-792.
- Ghazoul, J., 2001. Can floral repellents pre-empt potential ant-plant conflicts?. *Ecology Letters* 4: 295-299.
- Goldblatt, P., 1993. Biological relationships between Africa and South America. Yale University Press, New Haven, Connecticut. 630 p.
- González-Medrano, F., 1998. La vegetación de México y su historia. *Ciencias* 52: 58-65.
- Good-Avila, S.V., Souza, V., Gaut, B.S., Eguiarte, L.E., 2006. Timing and rate of speciation in *Agave* (Agavaceae). *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 103: 9124-9129.
- Graham, A., 1991. Studies in Neotropical Paleobotany. X. The Pliocene communities of Panama-Composition, numerical representations, and paleocommunity paleoenvironmental reconstructions. *Annals of Missouri Botanical Gardens* 78: 465-475.
- Guinet, P., Vassal, J., 1978. Hypotheses on the differentiation of the major groups in the genus *Acacia* (Leguminosae). *Kew Bulletin* 32: 509-527.
- Hall, T.A., 1997. BioEdit: A Biological Sequence Alignment Editor for Windows 95/98NT. Available from: <http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>.
- Hasewaga, M., Kishino, H., Yano, T., 1989. Estimation of branching dates among primates by molecular clocks of nuclear DNA which slowed down in Hominoidea. *Journal of Human Evolution* 18: 461-476.
- Heckroth, H.P., Fiala, B., Gullan, P.J., Idris, A.H., Maschwitz, U., 1998. The soft scale (Coccidae) associates of Malaysian ant-plants. *Journal of Tropical Ecology* 14: 427- 443.
- Hedges, S.B., Parker, P.H., Sibley, C.G., Kumar, S., 1996. Continental break up and the ordinal diversification of birds and mammals. *Nature* 391: 226-229.
- Heil, M., Baumann, B., Krügeer, R., Linsenmair, E., 2004. Main nutrient compounds in food bodies of Mexican *Acacia* ant-plants. *Chemoecology* 14: 45-52.
- Heil, M., González-Teuber, M., Clement, L.S., Kautz, S., Verhaagh, M., Silva Bueno, J.C., 2009. Divergent investment strategies of *Acacia* myrmecophytes and the coexistence of mutualists and exploiters. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 106: 18091-18096.

- Heil, M., Rattke, J., Bland, W., 2005. Post-secretory hydrolysis of nectar sucrose and specialization in ant-plant mutualism. *Science* 308: 560-563.
- Howart, F.G., James, S.A., McDowell, W., Preston, D.J., Imada, C.T., 2007. Identification of roots in lava tubes caves using molecular techniques: implications for conservation of cave arthropod faunas. *Journal of Insect Conservation* 11(3): 251-261.
- Hölldobler, B., Wilson, E.O., 1990. The ants. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg 732 p.
- Hsu, R., Briscoe, A.D., Chang, B.S.W., Pierce, N.E., 2001. Molecular evolution of a long wavelength opsin in mimetic *Heliconius* butterflies (Lepidoptera: Nymphalidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 72:435-449.
- Huelsenbeck, J.P., Ronquist, F.R., 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* 17, 754.
- Hughes, C.E., Bailey, C.D., Harris, S.A., 2002. Divergent and reticulate species relationships in *Leucaena* (Fabaceae) inferred from multiple data sources: insights into polyploidy origins and nrDNA polymorphism. *American Journal of Botany* 89 (7): 1057-1073.
- Hughes, C.E., Bailey, C.D., Krosnick, S., Luckow, M.A., 2003. Relationships among genera of the informal *Dichrostachys* and *Leucaena* groups (Mimosoideae) inferred from nuclear ribosomal ITS sequences. In: Klitgaard, B.B., Bruenau, A. (Eds.). *Advances in Legume Systematics*, part 10, Higher Level Systematics, pp. 221-238. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Hughes, C., Eastwood, R., 2006. Island radiation on a continental scale: exceptional rates of plant diversification after uplift of the Andes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103(27): 10334-10339.
- Hunt, T., Bergsten, J., Levkanicova, Z., Papadopoulou, A., John, O.St., Wild, R., Hammond, P.M., Ahrens, D., Balke, M., Caterino, M.S., Gómez-Zurita, J., Ribera, I., Barraclough, T.G., Bocakova, M., Bocak, L., Vogler, A.P., 2007. A comprehensive phylogeny of beetles reveals the evolutionary origins of a superradiation. *Science* 318: 1913-1916.
- Janson, R., Davies, T.J., 2008. Global variation in diversification rates of flowering plants: energy vs. climate change. *Ecology Letters* 11: 173-183.
- Janzen, D.H., 1966. Coevolution of mutualism between ants and acacias in Central America. *Evolution* 20(3): 249-275.
- Janzen, D.H., 1967. Interaction of the bulls-horn acacia (*Acacia cornigera* L.) with an ant inhabitant (*Pseudomyrmex ferruginea* F. Smith) in eastern Mexico. *Kansas University Science Bulletin* 47: 315-558.

- Janzen, D.H., 1969. Birds and the Ant x Acacia interaction in Central America, with notes on birds and other myrmecophytes. *Condor* 71: 240-256.
- Janzen, D.H., 1974. Swollen-thorn acacias of central america. *Smithsonian Contributions to Botany* 13: 1-131.
- Jawad, J.T., Seigler, D.S., Ebinger, J.E., 2000. A Systematic treatment of *Acacia coulteri* (Fabaceae, Mimosoideae) and similar species in the New World. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 87: 528-548.
- Johnson, K.P., Clayton, D.H., 2004. Untangling coevolutionary history. *Systematic Biology* 53(1): 92-94.
- Johnson, L.A., Soltis, D.E., 1994. *matK* DNA sequences and phylogenetic reconstruction of Saxifragaceae s. str. *Systematic Botany* 19: 143-156.
- Jolivet, P., 1998. Interrelationships between insects and plants. Boca Raton, Florida, CRC Press, USA, 309 p.
- Käss, E., Wink, M., 1996. Molecular evolution of the Leguminosae: phylogeny of the three subfamilies based in *rbcL*. *Biochemical Systematics and Ecology* 24: 365-378.
- Kautz, S., Thorsten Lumbsch, H., Ward, P.S., Heil, M., 2009. How to prevent cheating: a digestive specialization ties mutualistic plant-ants to their ant-plant partners. *Evolution* 63(4): 839-853.
- Kay, K.M., Reeves, P.A., Olmstead, R.G. Schemske, D.W., 2005. Rapid speciation and the evolution of hummingbird pollination in Neotropical *Costus* subgenus *Costus* (Costaceae): evidence from nrDNA ITS and ETS sequences. *American Journal of Botany* 92(11): 1899-1910.
- Kim, S., Soltis, D.E., Soltis, P.S., Zanis, M.J., Suh, Y., 2004. Phylogenetic relationships among early-diverging eudicots based on four genes: were the eudicots ancestrally woody? *Molecular Phylogenetics and Evolution* 31: 16-30.
- Kishino, H., Hasegawa, M., 1990. Converting distance to time: an application to human evolution. *Methods in Enzymology* 183: 550-570.
- Klack, C., Reeves, G., Hedderson, T., 2004. Unmatched tempo of evolution in southern African semi-desert ice plants. *Nature* 427: 63-65.
- Klein, R.W., Kovac, D., Schellerich, A., Maschwitz, U., 1992. Mealybug-carrying by swarming queens of a Southeast Asian bamboo-inhabiting ant. *Naturwissenschaften* 79: 422-423.
- Kocheril, J.T., Krishnamurthy, K.V., 2009. Ecology of domatium associated ants in some

species of *Acacia*. *Ecology and Noospherology* 20(1-2): 128-131.

- Kooistra, W.H.C., Medlin, L.K., 1996. Evolution of the diatoms (Bacillariophyta): IV. A reconstruction of their age from small subunit rRNA coding regions and the fossil record. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 6: 391-407.
- Latzko, E., Kelly, G.J., 1983. The many-faceted function of phosphoenol-pyruvate carboxylase in C₃ plants. *Physiologie Vegetale* 21: 805-815.
- Lavin, M., Herendeen, P.S., Wojciechowski, M.F., 2005. Evolutionary rates analysis of Leguminosae implicates a rapid diversification of lineages during the Tertiary. *Systematic Biology* 54(4): 575-594.
- Lavin, M., Schrire, B.P., Lewis, G., Pennington, R.T., Delgado-Salinas, A., Thulin, M., Hughes, C.E., Beyra Matos, A., Wojciechowski, M.F., 2004. Metacommunity process rather than continental tectonic history better explains geographically structured phylogenies in legumes. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B* 359: 1509-1522.
- Lee, Y.S., Seigler, S.D., Ebinger, J.E., 1989. *Acacia rigidula* (Fabaceae) and related species in Mexico and Texas. *Systematic Botany* 14: 91-100.
- Lewis, G.P., Schrire, B., Mackinder, B., Lock, M., 2005. Legumes of the World. Royal Botanic Gardens, Kew, 577p.
- Li, W.-H., Tanimura, M., 1987. The molecular clock runs more slowly in man than in apes and monkeys. *Nature* 326: 93-96.
- Liebherr, J.K., 1988. Zoogeography of Caribbean insects. Ithaca: Cornell University Press, 285 p.
- Longino, J.T., 2003. The *Crematogaster* (Hymenoptera, Formicidae, Myrmicinae) of Costa Rica. *Zootaxa* 151: 1-150.
- Lubertazzi, D., 2002. The ant (Formicidae) assemblage of South Africa's *Acacia karroo* thorns. Entomological Society of America, Ft. Lauderdale, Florida, November 2002. Poster presentation.
- Luckow, M., Miller, J.T., Murphy, D.J., Livshultz, T., 2003. A phylogenetic analysis of the Mimosoideae (Leguminosae) based on chloroplast DNA sequence data. In: Klitgaard, B.B., Bruneau, A. (Eds.), *Advances in Legume Systematics, part. 10*. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 197-220.
- Macqueen, D.J., Hernández, H.M., 1997. A revision of *Calliandra* series *Racemosae* (Leguminosae: Mimosoideae). *Kew Bulletin* 52(1): 1-50.

- Madden, D., Young, T.P., 1992. Symbiotic ants as an alternative defense against giraffe herbivory in spinescent *Acacia drepanolobium*. *Oecologia* 91: 235–238.
- Magallón, S., 2004. Dating lineages: molecular and paleontological approaches to the temporal framework of clades. *International Journal of Plant Sciences* 165(4 Suppl.): S7-S24.
- Magallón, S., Sanderson, M.J., 2001. Absolute diversification rates in angiosperm clades. *Evolution* 55(9): 1762-1780.
- Malcomber, S.T., 2002. Phylogeny of *Gaertnera* Lam. (Rubiaceae) based on multiple data markers: evidence of a rapid radiation in a widespread, morphologically diverse genus. *Evolution* 56(1): 42-57.
- Mardulyn, P., Cameron, S.A., 1999. The major opsin in bees (Insecta: Hymenoptera): a promising nuclear gene for higher level phylogenetics. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 12: 168-176.
- Marshall, D.C., Slon, K., Cooley, J.R., Hill, K.B.R., Simon, C., 2008. Steady Plio-Pleistocene diversification and a 2-million-years sympatry threshold in a New Zealand cicada radiation. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 48: 1054-1066.
- Martins, D., 2010. Not all ants are equal: obligate acacia ants provide different levels of protection against mega-herbivores. *African Journal of Ecology* no.-no.
- Maslin, B.R., Miller, J.T., Seigler, D.S., 2003. Overview of the generic status of *Acacia* (Leguminosae: Mimosoideae). *Australian Systematic Botany* 16: 1-18.
- Maslin, B.R., Stirton, C.H., 1997. Generic and infra-generic classification in *Acacia* (Leguminosae: Mimosoideae): a list of critical species on which to build a comparative data set. *Bulletin of the International Group for the Study of Mimosoideae* 20: 22-44.
- McConway, K.J., Sims, H.J., 2004. A likelihood-based method for testing for non-stochastic variation of diversification rates in phylogenies. *Evolution* 58: 12-23.
- McKey, D., 1989. Interactions between plants and leguminous plants. In: Stirton, C.H., Zarucchi, J.L. (Eds.), *Advances in Legume Biology. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden* 29: 673-718.
- McKey, D., Davidson, D.W., 1993. Ant-plant symbioses in Africa and the Neotropics: History, biogeography and diversity. In: Goldblatt (Ed.), *Biological relationships between Africa and South America*. Yale University Press, New Haven, Connecticut, pp. 568-606.

- McLeish, M.J., Chapman, T.W., Schwarz, M.P. 2007. Host-driven diversification of gall-inducing *Acacia* thrips and the aridification of Australia. *BMC Biology* 5: 3.
- McLoughlin, S., 2001. The breakup history of Gondwana and its impact on pre-Cenozoic floristic provincialism. *Australian Journal of Botany* 49: 271-300.
- McPeck, M.A., Brown, J.M., 2007. Clade age and not diversification rate explains species richness among animal taxa. *The American Naturalist* 169(4): E97-E106.
- Meehan, C.J., Olson, E.J., Reudink M.W., Kyser, T.K., Curry, R.L., 2009. Herbivory in a spider through exploitation of an ant-plant mutualism. *Current Biology* 19 (19): R892-R893.
- Miller, J.T., Andrew, R., Bayer, R.J., 2003. Molecular phylogenetics of the Australian acacias of subgénero *Phyllodineae* (Fabaceae: Mimosoideae) based on the *trnK* intron. *Australian Journal of Botany* 51: 167-177.
- Miller, J.T., Bayer, R.J., 2000. Molecular systematics of the tribe Acacieae (Leguminosae: Mimosoideae). In: Herendeen, P.S., Bruneau, A. (Eds.), *Advances in Legume Systematics, part 9*. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 181-200.
- Miller, J.T., Bayer, R.J., 2001. Molecular phylogenetics of *Acacia* (Fabaceae: Mimosoideae) based on chloroplast *matK* coding sequence and flanking *trnK* intron spacer regions. *American Journal of Botany* 88: 698-706.
- Miller, J.T., Bayer, R.J., 2003. Molecular phylogenetics of *Acacia* subgenera *Acacia* and *Aculeiferum* (Fabaceae: Mimosoideae), based on the chloroplast *matK* coding sequence and flanking *trnK* intron spacer regions. *Australian Systematic Botany* 16: 27-33.
- Moreau, C.S., 2008. Unraveling the evolutionary history of the hyperdiverse ant genus *Pheidole* (Hymenoptera: Formicidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 48: 224-239.
- Moya-Raygoza, G., 2005. Relationships between the ant *Brachymyrmex obscurior* (Hymenoptera, Formicidae) and *Acacia pennatula* (Fabaceae). *Insectes Sociaux* 52(2): 105-107.
- Moyle, R.G., 2005. Phylogeny and biogeographical history of Trogoniformes, a pantropical bird order. *Biological Journal of the Linnean Society* 84(4): 725-738.
- Murphy, D.J., Miller, J.T., Bayer, R.J., Ladiges, P.Y. 2003. Molecular phylogeny of *Acacia* subgenus *Phyllodineae* (Mimosoideae: Leguminosae based on DNA sequences of the internal transcribed spacer region. *Australian Systematic Botany* 16: 19-26.
- Murphy, D.J., Udovicic, F., Ladiges, P.Y., 2000. Phylogenetic analysis of Australian *Acacia* (Leguminosae: Mimosoideae) by using sequence variations of an intron and two intergenic

spacers of chloroplast DNA. *Australian Systematic Botany* 13: 745-754.

- Nicklen, E.F., Wagner, D., 2006. Conflict resolution in an ant-plant interaction: *Acacia constricta* traits reduce ant cost to reproduction. *Oecologia* 148: 81-87.
- Ollier, C.D., 1979. Evolutionary geomorphology of Australia and Papua-New Guinea. *Transactions of the Institute of British Geographers* 4(4): 516-539.
- Olson, M.E., 2002. Combining data from DNA sequences and morphology for a phylogeny of Moringaceae (Brassicales). *Systematic Botany* 27(1): 55-73.
- Ortiz-Rivas, B., Moya, A., Martínez-Torres, D., 2003. Molecular systematics of aphids (Homoptera: Aphididae): new insights from the long-wavelength rhodopsin gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 30(1): 24-37.
- Page, R.D.M., 1994. Parallel phylogenies: reconstructing the history of host parasite assemblages. *Cladistics* 10: 155-173.
- Palmer, T.M., 2003. Spatial habit heterogeneity influences competition and coexistence in an African acacia ant guild. *Ecology* 84: 2843-2855.
- Palmer, T.M., Stanton, M.L., Young, T.P., 2003. Competition and coexistence: Exploring mechanisms that restrict and maintain diversity within mutualist guilds. *The American Naturalist* 162: S63-S79.
- Palmer, T.M., Young, T.P., Stanton, M.L., Wenk, E., 2000. Short-term dynamics of an acacia ant community in Laikipia, Kenya. *Oecologia* 123: 425-435.
- Panstruga, R., Seiler, A., Hirsh, H.-J., Kreuzaler, F., 1995. Genomic structure of a phosphoenolpyruvate carboxylase gene from potato (*Solanum tuberosum*). *Plant Physiology* 109: 1126.
- Pennington, R.T., Lavin, M., Oliveira-Filho, A., 2009. Woody plant diversity, evolution, and ecology in the tropics: perspectives from seasonally dry tropical forests. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 40: 437-457.
- Pitman, W.C.I., Cande, S., LaBreque, J., Pindell, J., 1993. Fragmentation of Gondwana: the separation of Africa from South America. In: Goldblatt, P. (Ed.), *Biological relationships between Africa and South America*. Yale University Press, New Haven, Connecticut, USA, pp. 202-213.

- Pitra, C., Fickel, J., Meijaard, E., Groves, P.C., 2004. Evolution and phylogeny of Old World deer. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 33: 880-895.
- Polhill, R.M., Raven, P.H., Stirton C.H., 1981. Evolution and Systematic of the Leguminosae. In: Polhill, R.M., Raven, P.H. (Eds.), *Advances in Legume Systematics, part 1*. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 1-26.
- Posada, D., Crandall, K.A., 1998. ModelTest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817-818.
- Quek, S-P., Davies, S.J., Itino, T., Pierce, N.E., 2004. Codiversification in an ant-plant mutualism: stem texture and the evolution of host use in *Crematogaster* (Formicidae: Myrmicinae) inhabitants of *Macaranga* (Euphorbiaceae). *Evolution* 58(3): 554-570.
- Quicke, D.L.J., Stanton, M., 2005. *Trigastrotheca laikipiensis* sp. nov. (Hymenoptera: Braconidae): A new species of brood parasitic wasp that attacks foundress queens of three coexisting acacia-ant species in Kenya. *Journal of Hymenopteral Research* 14(2): 182-190.
- Quigley, M., Clark, D., Sandiford, M., 2010, Tectonic geomorphology of Australia, Geological Society of London Special Publication 'Australian landscapes'
- Raine, N.E., Willmer, P., Stone, G., 2002. Spatial structuring and floral avoidance behaviour prevent ant-pollinator conflict in a Mexican ant-Acacia. *Ecology* 83: 3086-3096.
- Raine, N.E., Gammans, N., MacFadyen, I.J., Scrivner, G.K., Stone, G.N., 2004. Guards and thieves: antagonistic interactions between two ant species coexisting on the same ant-plant. *Ecological Entomology* 29: 345-352.
- Rehr, S.S., Feeny, P.P., Janzen, D.H., 1973. Chemical defense in Central American non-ant Acacias. *Journal of Animal Ecology* 42: 405-416.
- Richardson, J.E., Pennington, R.T., Pennington, T.D., Hollingsworth, P.H., 2001. Rapid diversification of a species-rich genus of Neotropical rain forest trees. *Science* 293: 2242-2245.
- Rico-Arce, M. de L., 1994. Nueva especie mirmecófila de *Acacia* (Leguminosae) de la Península de Yucatán. *Acta Botánica Mexicana* 26: 7-10.
- Rico-Arce, L., 2003. Geographical patterns in neotropical *Acacia* (Leguminosae: Mimosoideae). *Australian Systematic Botany* 16(1): 41-48.
- Rico-Arce, L., Bachman, S., 2006. A taxonomic revision of *Acaciella* (Leguminosae, Mimosoideae). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 63: 189-244.

- Robinson, J., Harris, S.A., 2000. A plastid DNA phylogeny of the genus *Acacia* Miller (Acacieae, Leguminosae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 132: 195-222.
- Rokas, A., Nylander, J.A.A., Ronquist, F., Stone, G.N., 2002. A maximum-likelihood analysis of eight phylogenetic markers in gallwasps (Hymenoptera: Cynipidae): Implications for insect phylogenetic studies. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 22(2): 206-219.
- Ross, J.H., 1979. A conspectus of the African *Acacia* species. *Memoirs of the Botanical Survey of South Africa* 44: 55-58.
- Russo, C.A.M., Takezaki, N., Nei M., 1995. Molecular phylogeny and divergence times of Drosophilid species. *Molecular Biology and Evolution* 12(3): 391-404.
- Sagers, C.L., Singer, S.M., Evans, R.D., 2000. Carbon and nitrogen isotopes trace nutrient exchange in an ant-plant mutualism. *Oecologia* 123: 582-586.
- Sanderson, M.J., 1997. A nonparametric approach to estimating divergence times in the absence of rate constancy. *Molecular Biology and Evolution* 14: 1218-1231.
- Sanderson, M.J., 2002. Estimating absolute rates of molecular evolution and divergence times: a penalized likelihood approach. *Molecular Biology and Evolution* 19: 101-109.
- Sanderson, M.J., 2003. r8s; inferring absolute rates of evolution and divergence times in the absence of a molecular clock. *Bioinformatics* 19: 301-302.
- Sanderson, M.J., Donoghue, M.J., 1994. Shifts in diversification rate with the origin of angiosperms. *Science* 264: 1590-1593.
- Sanderson, M.J., Donoghue, M.J., 1996. The relationship between homoplasy and confidence in phylogenetic trees. In: Sanderson, M.J., Hufford, L. (Eds.), *Homoplasy: the recurrence of similarity in evolution*. Academic Press, New York, pp. 67-89.
- Sanderson, M.J., Doyle, J.A., 2001. Sources of error and confidence intervals in estimating the age of angiosperms from *rbcL* and 18S rDNA data. *American Journal of Botany* 88: 1499-1516.
- Sanderson, M. J., Wojciechoswki, M.F. 1996. Diversification rates in a temperate legume clade: Are there "so many species" of *Astragalus*? *American Journal of Botany* 83: 1488-1502.
- Savage, H.M., 1983. The shape of evolution: 'systematic' tree topology. *Biological Journal of the Linnean Society* 20: 225-244.
- Schrire, B.D., Lavin, M., Lewis, G.P., 2005. Global distribution patterns of the Leguminosae: insights from recent phylogenies. *Biologiske Skrifter* 55: 375-422.

- Schupp, E.W., Feener, D.H., 1990. Phylogeny, life form and habitat dependence of ant-defended plants in a Panamian forest. *In: Huxley, C.R., Cutler, D.F., (Eds.), Ant-plant interactions*. Oxford Science Publications. New York, EEUU, pp. 250-259.
- Seehausen, O., Koetsier, E., Schneider, M.V., Chapman, L.J., Chapman, C.A., Knight, M.E., Turner, G.F., Van, A.J.J.M., Bills, R., 2003. Nuclear markers reveal unexpected genetic variation and a Congolese-Nilotic origin of the Lake Victoria cichlid species flock *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* 270: 129-137.
- Seigler, D.S., Ebinger, J.E., Miller, J.T., 2006. *Mariosousa*, a new segregate genus from *Acacia* s.l. (Fabaceae, Mimosoideae) from Central and North America. *Novon* 16: 413-420.
- Seigler, D.S., Ebinger, J.E., 1988. *Acacia macracantha*, *A. pennatula*, and *A. cochliacantha* (Fabaceae: Mimosoideae) species complexes in Mexico. *Systematic Botany* 13: 7-15.
- Seigler, D., Saupe, S.G., Young, D.A., Richardson, P.M., 1982. *Acacia rigidula* – a new ant-acacia. *The Southwestern Naturalist* 27(3): 364-365.
- Shaw, K.L., 2002. Conflict between Nuclear and Mitochondrial DNA Phylogenies of a Recent Species Radiation: What mtDNA Reveals and Conceals about Modes of Speciation in Hawaiian Crickets. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99: 16122-16127.
- Sidow, A., 1992. Diversification of the *Wnt* gene family on the ancestral lineage of vertebrates. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 89: 5098-5102.
- Smith, C.I., Pellmyr, O., Althoff, D.M., Balcázar-Lara, M., Leebens-Mack, J., Segraves, K.A., 2008. Pattern and timing of diversification in *Yucca* (Agavaceae): specialized pollination does not escalate rates of diversification. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* 275: 249-258.
- Smith, S.D., Ané, C., Baum, D.A., 2008. The role of pollinator shifts in the floral diversification of *Ipomoea* (Solanaceae). *Evolution* 62: 793-806.
- Stanley, G.L. 1979. *Macroevolution*. Freeman, San Francisco, California, USA.
- Stanton, M.L., Palmer, T.M., Young, T.P., 2005. Ecological barriers to early colony establishment in three coexisting acacia-ant species in Kenya. *Insectes Sociaux* 52: 393-401.
- Stanton, M.L., Palmer, T.M., Young, T.P., Evans, A., Turner, M.L., 1999. Sterilization and canopy modification of a swollen thorn acacia by a plant-ant. *Nature* 401: 578-580.

- Stapley, L., 1988. The interaction of thorns and symbiotic ants as an effective defence mechanism of swollen-thorn acacias. *Oecologia* 115: 401-405.
- Sun, Y., Skinner, D.Z., Liang, G.H., Hulbert, S.H., 1994. Phylogenetic analysis of *Sorghum* and related taxa using internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA. *Theoretical and Applied Genetics* 89: 26-32.
- Suyama, Y., Yoshimaru, H., Tsumara, Y., 2000. Molecular phylogenetic position of Japanese *Abies* (Pinaceae) based on chloroplast DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 16: 271-277.
- Taberlet, P., Gielly, L., Patou, G., Bouvet, J., 1991. Universal primers for amplification of three noncoding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology* 17: 1105-1109.
- Taiti, S.W., 1992. The vegetation of Laikipia District Kenya. Laikipia-Mount Kenya Papers, B-2, University of Bern; University of Nairobi.
- Takezaki, N., Rzhetsky, A., Nei, M., 1995. Phylogenetic test of the molecular clock and linearized trees. *Molecular Biology and Evolution* 12(5): 823-833.
- Thomas, R.H., Hunt, J.A., 1991. The molecular evolution of the alcohol dehydrogenase locus and the phylogeny of Hawaiian *Drosophila*. *Molecular Biology and Evolution* 8(5): 687-702.
- 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. *Nucleic Acids Research* 22: 4673-4680.
- Thompson, J.N., 2003. El Proceso Coevolutivo. México. 418 p.
- Travouillon, K.J., Legendre, S., Archer, M., Hand, S.J., 2009. Paleoecological analyses of Riversleigh's Oligo-Miocene sites: Implications for Oligo-Miocene climate change in Australia. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 276: 24-37.
- Vassal, J., 1972. Apport des recherches ontogéniques et séminologiques à l'étude morphologique, taxonomique et phylogénique du genre *Acacia*. *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de Toulouse* 108: 105-247.
- Ward, P.S., 1985. The Nearctic species of the genus *Pseudomyrmex* (Hymenoptera: Formicidae). *Quaestiones Entomologicae* 21: 209-246.
- Ward, P.S., 1989. Systematic studies on Pseudomyrmecine ants: revision of the *Pseudomyrmex oculatus* and *P. subtilissimus* species groups, with taxonomic comments on other species.

Quaestiones Entomologicae 25(4): 393-468.

- Ward, P.S., 1990. The ant subfamily Pseudomyrmecinae (Hymenoptera: Formicidae): generic revision and relationship to other formicids. *Systematic Entomology* 15: 449-489.
- Ward, P.S., 1991. Phylogenetic analysis of pseudomyrmecine ants associated with domatia-bearing plants. In: Huxley, C.R., Cutler, D.F., (Eds.), *Ant-Plant Interactions*. Oxford University Press, Oxford, pp. 335-352.
- Ward, P.S., 1992. Ants of the genus *Pseudomyrmex* (Hymenoptera: Formicidae) from Dominican amber, with a synopsis of the extant Antillean species. *Psyche* 99: 55-85.
- Ward, P.S., 1993. Systematic studies on *Pseudomyrmex* acacia-ants (Hymenoptera: Formicidae: Pseudomyrmecinae). *Journal of Hymenopteral Research* 2: 117-168.
- Ward, P.S., 1999. Systematics, biogeography and host plant associations of the *Pseudomyrmex viduus* group (Hymenoptera: Formicidae), *Triplaris*- and *Tachigali*-inhabit ants. *Zoological Journal of the Linnean Society* 126: 451-540.
- Ward, P.S., 2001. Taxonomy, phylogeny and biogeography of the ant genus *Tetraponera* (Hymenoptera: Formicidae) in the Oriental and Australian regions. *Invertebrate Taxonomy* 15: 589-665.
- Ward, P.S., Brady, S.G., 2003. Phylogeny and biogeography of the ant subfamily Myrmeciinae (Hymenoptera: Formicidae). *Invertebrate Systematics* 17: 361-386.
- Ward, P.S., Downie, D.A., 2005. The ant subfamily Pseudomyrmecinae (Hymenoptera: Formicidae): phylogeny and evolution of big-eyed arboreal ants. *Systematic Entomology* 30: 310-335.
- Way, M.J., 1963. Mutualism between ants and honeydew-producing Homoptera. *Annual Review of Entomology* 8: 307-344.
- Weiblen, G.D., Bush, G.L., 2002. Speciation in fig pollinators and parasites. *Molecular Ecology* 11: 1573-1578.
- Wendel, J.F., Schnabel, A., Seelanan, T., 1995. Bi-directional interlocus concerted evolution following allopolyploid speciation in cotton (*Gossypium*). *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 92: 280-284.
- Wendel, J.F., Doyle, J.J., 1998. Phylogenetic Incongruence: Window into Genome History and Molecular Evolution. In: Soltis, D.E., Soltis, P.S., Doyle, J.J. (Eds.), *Molecular Systematics of Plants II*. Kluwer Academic, Norwell, Mass., USA. pp. 265-296.
- Wheeler, W.M., 1942. Studies of Neotropical ant-plants and their ants. *Bulletin of the Museum of*

- Whittall, J.B., Hodges, S.A., 2007. Pollinator shifts drive increasingly long nectar spurs in columbine flowers. *Nature* 447: 706-709.
- Wiens, J., Graham, C.H., Moen, D.S., Smith, S.A., Reeder, T.W., 2006. Evolutionary and ecological causes of the latitudinal diversity gradient in hylid frogs: treefrog trees unearth the roots of high tropical diversity. *The American Naturalist* 168(5): 579-596.
- Willmer, P.G., Stone, G., 1997. Ant deterrence in Acacia flowers: how aggressive ant-guards assist seed-set. *Nature* 388: 165-167.
- Young, B.E., Kaspari, M., Martin, T.E., 1990. Species-specific nest site selection by birds in ant-acacia trees. *Biotropica* 22: 310-315.
- Young, T.P., Okello, B.D., Kinyua, D., Palmer, T.M., 1998. KLEE: a long-term multi-species herbivore exclusion experiment in Laikipia, Kenya. *African Journal of Range & Forage Science* 14: 94-102.
- Young, T.P., Stubblefield, C.H., Isbell, L., 1997. Ants on swollen-thorn acacias: species coexistence in a simple system. *Oecologia* 109: 98-107.
- Yule, G.U., 1925. A mathematical theory of evolution, based on the conclusions of Dr. J.C. Willis, F.R.S. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B* 213: 21-87.
- Zachos, J., Pagani, M., Sloan, L., Thomas, E., Billups, K., 2001. Trends, rhythms, and aberrations in global climate 65 Ma to Present. *Science* 292: 686-693.

9. Anexo



Neotropical mutualism between *Acacia* and *Pseudomyrmex*: Phylogeny and divergence times

Sandra Gómez-Acevedo^{a,*}, Lourdes Rico-Arce^b, Alfonso Delgado-Salinas^c, Susana Magallón^c, Luis E. Eguiarte^a

^aLaboratorio de Evolución Molecular y Experimental, Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, UNAM. Apartado Postal 70-275, 04510 México, D.F., Mexico

^bHLLA, Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, Surrey TW9 3AB, UK

^cDepartamento de Botánica, Instituto de Biología, UNAM. Apartado Postal 70-233, 04510 México, D.F., Mexico

ARTICLE INFO

Article history:

Received 19 November 2009

Revised 4 March 2010

Accepted 15 March 2010

Available online 20 March 2010

Keywords:

Acacia

Co-evolution

Diversification ages

Mutualism

Pseudomyrmex

ABSTRACT

The interaction between *Acacia* and *Pseudomyrmex* is a textbook example of mutualism between ants and plants, nevertheless aspects of its evolutionary biology have not been formally explored. In this paper we analyze primarily the phylogenies of both New World *Acacia* and of their associated species of ants, and the geographic origin of this mutualism. Until now, there has been no molecular analysis of this relationship in terms of its origin and age. We analyzed three chloroplast markers (*matK*, *psaB-rps14*, and *trnL-trnF*) on a total of 70 taxa of legumes from the subfamily Mimosoideae, and two nuclear regions (*long-wavelength rhodopsin* and *wingless*) on a total of 43 taxa of ants from subfamily Pseudomyrmecinae. The monophyly of subgenus *Acacia* and within the New World lineages that of the myrmecophilous *Acacia* group was established. In addition, our results supported the monophyly of the genus *Pseudomyrmex* and of the associated acacia–ants *P. ferrugineus* group. Using Bayesian methods and calibration data, the estimated divergence times for the groups involved in the mutualism are: 5.44 ± 1.93 My for the myrmecophilous acacias and 4.58 ± 0.82 My for their associated ant species, implying that their relationship originated in Mesoamerica between the late Miocene to the middle Pliocene, with eventual diversification of both groups in Mexico.

© 2010 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

Ecological interactions between species are of great evolutionary relevance, and may be one of the forces that have generated lineage diversification and speciation (Chenuil and McKey, 1996; Stebbins, 1981; Thompson, 1994). The ant–plant symbiotic association is a classic example of mutualism (Rico-Gray and Oliveira, 2007). A high degree of specialization in several of the myrmecophilous plants is manifested in modified housing structures (domatia), and food bodies for the resident ants. In exchange, the ants protect the plant against herbivores, pathogens and/or climbing plants that may obstruct the optimal growth of the plant (Davidson and McKey, 1993; Heil, 2008; Heil and McKey, 2003; Janzen, 1966). Also it has been suggested that there is also production of additional CO₂ and nutrients such as nitrogen as a result of the decomposition of debris produced by the ants (Fischer et al., 2003; Sagers et al., 2000).

Myrmecophilya has been described in at least 465 species (in 52 families) of vascular plants, including herbs, shrubs, trees and lianas

that maintain this symbiosis with at least 25 ant genera (Jolivet, 1998). This interaction seems to be most common in tropical regions (McKey and Davidson, 1993). It has been reported that in genera with a pantropical distribution, myrmecophilya is only present in either neotropics or palaeotropics, being the genus *Acacia* the exception (McKey and Davidson, 1993), as it includes four myrmecophilous species in Africa (Janzen, 1974) and 15 species in the American continent (Rico-Arce, 2003). The latter species are also called swollen-thorn acacias.

The Neotropical myrmecophilous *Acacia* species are distributed mainly along the coast and in central areas of Mexico southwards to northwestern Colombia. These species display morphological structures associated with a mutualist ant interaction, such as swollen hollow stipular thorns (domatia), leaflet tips bearing beltian bodies (as food for the ants), and one or more extrafloral nectaries on the leaves (Janzen, 1966). The beltian bodies are a source of food for the ant larvae and contain lipids (1–10% of dry weight), proteins and free amino acids (8–14% of dry weight), carbohydrates (3–11% of dry weight) and water (18–24%) (Heil et al., 2004). All Neotropical species maintain an obligate mutualism with the Neotropical *Pseudomyrmex ferrugineus* ant group which contains 10 species that have no interaction with any other

* Corresponding author. Fax: +52 55 56 22 89 95.

E-mail addresses: sanluza@correo.unam.mx, sanluza@gmail.com (S. Gómez-Acevedo).

vascular plant, all nesting exclusively in *Acacia domatia* (Ward, 1993). The *P. ferrugineus* group is distributed from eastern to western Mexico throughout Central America to northern Colombia, broadly following the distribution of the myrmecophilous *Acacia* plants; although there is not a single species that covers the whole range (Ward, 1993).

The African myrmecophilous *Acacia* present domatia and extra floral nectaries, but in contrast to the Neotropical myrmecophilous *Acacia* they lack beltian bodies (Stapley, 1998). Their domatia are occupied by only four ant species: three belong to *Crematogaster* and one to the genus *Tetraponera* (Young et al., 1997).

While ecological studies on mutualism are abundant in literature (Bronstein, 1994), the vast majority lack analysis of their evolutionary origins, patterns and diversification. In particular, we suggest that it is especially relevant to analyze the phylogeny of the groups involved in the interaction. Most published studies on mutualism cover the interaction between plant and pollinator, and some of them suggest that specialist pollination can promote rapid and simultaneous diversification in both the plants and the pollinators (Althoff et al., 2006; Brouat et al., 2004; Kato et al., 2003; Jousset et al., 2003; Pellmyr, 2003; Smith et al., 2008; Whittall and Hodges, 2007).

In contrast, ant–plant relationships have been poorly studied (Bronstein, 1994; Dejean et al., 2009; Gibernau et al., 2008; Grangier et al., 2008; Szilágyi et al., 2009), although the *Acacia*–*Pseudomyrmex* interaction is one of the most studied symbioses to date. Janzen (1974: p. 12) suggested a polyphyletic origin for the American myrmecophilous *Acacia* species, where the mutualism might have evolved more than once, or that some non-myrmecophilous species became myrmecophilous by hybridization. In particular, the hypotheses of a rapid and simultaneous diversification have not been tested for the association between the swollen-thorn acacias and its associated ants.

The aim of this paper is to analyze the *Acacia*–*Pseudomyrmex* mutualism from a phylogenetic perspective in order to elucidate the evolutionary history of this relationship. The following questions were used to guide the study: (1) are both the myrmecophilous *Acacia* and their mutualists *Pseudomyrmex* monophyletic groups?; (2) which are the estimated ages of their lineages?; and (3) are the diversification rates correlated?, or are they dependent on the mutualist association? In addition, we discuss the evolution and systematics of the genus *Acacia* within the Leguminosae and *Pseudomyrmex* within Formicidae.

2. Material and methods

A broad sample of the species in both groups, plants and ants, was undertaken including selected outgroups. For the plants we included members of the tribes Acacieae, Ingeae and Mimoseae (Leguminosae: Mimosoideae). For the ants, we sampled different ant species of the genera *Myrcidris*, *Pseudomyrmex* and *Tetraponera* (Formicidae: Pseudomyrmecinae).

2.1. Mimosoids

2.1.1. Sampling

Leaf tissue was either obtained from fresh material (collected in natural populations or sampled from cultivated plants) or herbarium specimens (from the MEXU and USCG herbaria). DNA sequence analysis of *Acacia* taxa were sampled for each of the main five possible lineages suggested by Maslin et al. (2003) and Lewis et al. (2005). We decided to use *Acacia*, a genus with three subgenera for several reasons. Despite the numerous nomenclatural changes suggested for the species in the whole genus, there is still a controversial issue of which is the most adequate to used based

on its pantropical distribution (Walker and Simpson, 2003; Murray, 2004; Pedley, 2003, 2004; Maslin, 2008; Maslin et al., 2003; Orchard and Maslin, 2005; Luckow et al., 2005; Smith et al., 2006; Rijckevorsel, 2004, 2006; Moore, 2006, 2007, 2008). To date the possible retypification of the genus is still inconclusive and unresolved as the inclusion of *A. penninervis* in the printed international nomenclature code will be presented for ratification in the nomenclatural section in the next International Botanical Congress in Melbourne in 2011. Our phylogenetic work is related to the taxonomy more than to the nomenclature, and in view that nomenclatural issues are pending, we opted to follow the classification of *Acacia* as one genus with three subgenera. The final taxa selected included 22 species of subgenus *Acacia* from the New World (including 10 of the 15 species of the Neotropical swollen-thorn acacias); 5 species of subgenus *Acacia* from the Old World, three of them myrmecophilous; 13 species of subgenus *Aculeiferum* (including 4 species of the *A. coulteri* group also named *Mariosoussa*); 12 species of subgenus *Phyllodineae*; 7 species of the genus *Acaciella* (formerly *Aculeiferum* sect. *Filicinae*); 7 species of tribe Ingeae, and 4 species of tribe Mimoseae (Table 1). We used *Prosopis* as outgroup so we could have a more suitable Mimosoideae taxon as a calibration point, following the phylogeny proposed by Lavin et al. (2005).

2.1.2. DNA isolation and amplification

Total genomic DNA was isolated from leaves using CTAB protocol (Doyle and Doyle, 1987). Three cpDNA regions, *matK*, *psaB-rps14* and *trnL-trnF*, were amplified via the polymerase chain reaction (PCR). The *matK* gene was amplified using the trnK-3914 primer (5'-GGG GTT GCT AAC TCA ACG G-3'; Johnson and Soltis, 1994) and an *Acacia*-based primer Ac1707R (5'-TGC ACA CGG CTT TCC CTA TG-3'; Miller and Bayer, 2000), which amplified a 2.5 kb fragment. PCR reactions followed Miller and Bayer (2001). Sequences were generated with four *Acacia*-based internal sequencing primers from Miller and Bayer (2001), Ac283R (5'-CAC TGA CGG CAA GCC CCT CTG-3'), Ac12F (5'-GGT GCA (A/C)AA TCT AGG TTA TGA C-3'), Ac1290R (5'-AAT ACA AGA AAG CCG AAG-3') and Ac1104F (5'-CCT CTA ATT AGA TCA TTG GC-3').

The *psaB-rps14* spacer was amplified and sequenced using the primers *psaB-rps14* 1 (5'-GCA CGA TTA GTT GGA TTA GC-3') and *psaB-rps14* 2 (5'-CCA TCT CAC GGA GTA TGT GT-3') (Suyama et al., 2000). The PCR reaction mixture consisted of 3 µL of 10× reaction buffer, 1.5 µL of 30 mM/L magnesium chloride solution, 1.2 µL of a 1.25 mM/L dNTP solution in equimolar ratio, 0.25 mM for each primer, 10–50 ng of template DNA and 1 U of polymerase in a total volume of 30 µL. Amplification was carried out for an initial denaturation of 95 °C for 10 min followed by 40 PCR cycles consisting of 94 °C for 30 s, 55 °C for 1 min and 72 °C for 1 min, with a final extension period of 72 °C for 10 min.

The *trnL-trnF* region, which consists of the *trnL* intron, *trnL* 3' exon, and an intergenic spacer between *trnL* gene and the *trnF* gene was amplified and sequenced using primers C (5'-CGA AAT CGG TAG ACG CTA CG-3') and F (5'-ATT TGA ACT GGT GAC ACG AG-3') from Taberlet et al. (1991). PCR reactions followed Taberlet et al. (1991).

2.2. Ants

2.2.1. Sampling

Four species were collected of living plants, *P. ferrugineus*, *P. mixtecus*, *P. peperii* and *P. veneficus* and were stored in 70% ethanol. The ants were collected directly from the domatia of Neotropical swollen-thorn acacias. For the phylogenetic analysis we used a total of 39 species (35 from GenBank) of *Pseudomyrmex* – including 8 of the 10 species of the *P. ferrugineus* group, one species of *Myrcidris* and three species of *Tetraponera* (from GenBank).

Table 1

Mimosoid taxa analyzed in this study. Genbank numbers are given for all cpDNA sequences.

Species	matK	psaB-rps14	trnL-trnF
Subgenus Acacia			
Neotropical ant-acacias			
1 <i>A. cedilloi</i>	HM020708 ^c	HM020745 ^c	HM020798 ^c
2 <i>A. chiapensis</i>	HM020709 ^c	HM020746 ^c	HM020799 ^c
3 <i>A. collinsii</i>	HM020711 ^c	HM020748 ^c	HM020801 ^c
4 <i>A. cornigera</i>	HM020713 ^c	HM020750 ^c	HM020803 ^c
5 <i>A. gentlei</i>	HM020717 ^c	HM020754 ^c	HM020807 ^c
6 <i>A. globulifera</i>	HM020718 ^c	HM020755 ^c	HM020808 ^c
7 <i>A. hindsii</i>	HM020719 ^c	HM020756 ^c	HM020809 ^c
8 <i>A. hirtipes</i>	HM020720 ^c	HM020757 ^c	HM020810 ^c
9 <i>A. mayana</i>	HM020722 ^c	HM020760 ^c	HM020813 ^c
10 <i>A. sphaerocephala</i>	HM020729 ^c	HM020769 ^c	HM020821 ^c
African ant-acacias			
11 <i>A. drepanolobium</i>	HM020714 ^c	HM020751 ^c	HM020804 ^c
12 <i>A. seyal</i>	HM020728 ^c	HM020768 ^c	HM020820 ^c
13 <i>A. luederitzii</i>	AF523186 ^d	^b	^b
Non myrmecophilous			
New World			
14 <i>A. anegadensis</i>	HM020706 ^c	HM020743 ^c	HM020796 ^c
15 <i>A. caven</i>	AF274131 ^e	^b	AF522967 ^e
16 <i>A. cochliacantha</i>	HM020710 ^c	HM020747 ^c	HM020800 ^c
17 <i>A. constricta</i>	HM020712 ^c	HM020749 ^c	HM020802 ^c
18 <i>A. farnesiana</i>	HM020715 ^c	HM020752 ^c	HM020805 ^c
19 <i>A. macracantha</i>	HM020721 ^c	HM020759 ^c	HM020812 ^c
20 <i>A. neovermicoso</i>	AF523113 ^e	^b	AF522970 ^e
21 <i>A. pennatula</i>	HM020724 ^c	HM020762 ^c	HM020814 ^c
22 <i>A. roigii</i>	^a	HM020765 ^c	^a
23 <i>A. schaffneri</i>	AF274132 ^f	HM020767 ^c	HM020818 ^c
24 <i>A. schottii</i>	AF274136 ^e	^b	AF522971 ^e
25 <i>A. tortuosa</i>	HM020730 ^c	HM020771 ^c	HM020823 ^c
Non myrmecophilous			
Old World			
26 <i>A. karroo</i>	AF274137 ^f	HM020758 ^c	HM020811 ^c
27 <i>A. tortilis</i>	AF274140 ^f	HM020770 ^c	HM020822 ^c
Subgenus Aculeiferum			
28 <i>A. berlandieri</i>	HM020707 ^c	HM020744 ^c	HM020797 ^c
29 <i>A. centralis</i>	^a	HM020781 ^c	HM020832 ^c
30 <i>A. dolichostachya</i>	DQ371892 ^g	HM020782 ^c	DQ371873 ^g
31 <i>A. feddeana</i>	HM020716 ^c	HM020753 ^c	HM020806 ^c
32 <i>A. gaumeri</i>	DQ371895 ^g	^b	DQ371858 ^g
33 <i>A. picachensis</i>	EU812009 ^h	^b	EU439983 ^h
34 <i>A. reniformis</i>	HM020725 ^c	HM020763 ^c	HM020815 ^c
35 <i>A. riograndensis</i>	HM020726 ^c	HM020764 ^c	HM020816 ^c
36 <i>A. scleroxyla</i>	^a	^a	HM020819 ^c
37 <i>A. usumacintensis</i>	DQ371891 ^g	^b	DQ371864 ^g
38 <i>A. visco</i>	HM020731 ^c	HM020772 ^c	HM020824 ^c
39 <i>A. vogeliana</i>	HM020732 ^c	HM020773 ^c	^a
40 <i>A. willardiana</i>	HM020735 ^c	HM020783 ^c	HM020833 ^c
Subgenus Phyllodineae			
41 <i>A. adoxa</i>	AF523076 ^e	^b	AF195684 ^e
42 <i>A. ampliceps</i>	AF523074 ^e	^b	AF522983 ^e
43 <i>A. coleii</i>	AF274215 ^e	^b	AF522987 ^e
44 <i>A. elata</i>	AF274149 ^e	^b	AF195683 ^e
45 <i>A. mearnsii</i>	HM020723 ^c	HM020761 ^c	AF195694 ⁱ
46 <i>A. melanoxylon</i>	AF274166 ^e	^b	AF195680 ^e
47 <i>A. penninervis</i>	AF274159 ^f	^b	^b
48 <i>A. platycarpa</i>	AF274223 ^e	^b	AF522985 ^e
49 <i>A. saligna</i>	HM020727 ^c	HM020766 ^c	HM020817 ^c
50 <i>A. spinescens</i>	AF523082 ^e	^b	AF195687 ^e
51 <i>A. translucens</i>	AF274165 ^f	^b	AF522984 ^e
52 <i>A. tumida</i>	AF523111 ^e	^b	AF522986 ^e
Genus Acaciella			
53 <i>A. angustissima</i>	HM020733 ^c	HM020774 ^c	HM020825 ^c
54 <i>A. bicolor</i>	^a	HM020775 ^c	HM020826 ^c
55 <i>A. chamelensis</i>	HM020734 ^c	HM020776 ^c	HM020827 ^c
56 <i>A. painteri</i>	^a	HM020777 ^c	HM020828 ^c
57 <i>A. rosei</i>	^a	HM020778 ^c	HM020829 ^c
58 <i>A. sousae</i>	^a	HM020779 ^c	HM020830 ^c
59 <i>A. tequilana</i>	^a	HM020780 ^c	HM020831 ^c
Tribe Ingeae			
60 <i>Albizia kalkora</i>	AF523083 ^e	^b	AF522945 ^e

Table 1 (continued)

Species	matK	psaB-rps14	trnL-trnF
61 <i>Calliandra houstoniana</i> var. <i>anomala</i>	HM020736 ^c	HM020784 ^c	HM020834 ^c
62 <i>Faidherbia albida</i>	HM020737 ^c	HM020785 ^c	HM020835 ^c
63 <i>Havardia pallens</i>	AF274125 ^e	^b	AF522955 ^e
64 <i>Inga edulis</i>	HM020738 ^c	HM020786 ^c	HM020836 ^c
65 <i>Lysiloma divaricatum</i>	AF523088 ^e	HM020787 ^c	HM020837 ^c
66 <i>Pithecellobium dulce</i>	HM020740 ^c	HM020789 ^c	^a
Tribe Mimoseae			
67 <i>Mimosa similis</i>	HM020739 ^c	HM020788 ^c	HM020838 ^c
68 <i>Piptadenia viridiflora</i>	AF521856 ^e	^b	AF522963 ^e
69 <i>Prosopis juliflora</i>	HM020741 ^c	HM020790 ^c	HM020839 ^c
70 <i>Prosopis laevigata</i>	HM020742 ^c	HM020791 ^c	HM020840 ^c

^a Regions that could not be amplified nor sequenced.

^b No sequence found in GenBank.

^c Species sequenced in this study.

^d Species from Miller and Bayer (2003).

^e Species from Luckow et al. (2003).

^f Species from Miller and Bayer (2001).

^g Species from Seigler et al. (2006).

^h Species from J. Miller (unpublished).

ⁱ Species from Murphy et al. (2000).

Analyzed species of *Pseudomyrmex* belong to the nine morphological groups proposed by Ward (1989) (Table 2).

2.2.2. DNA isolation and amplification

Total genomic DNA was isolated from whole ants using phenol-chloroform protocol (Gadua et al., 1996). Two nuclear regions, *wingless* and *long-wavelength rhodopsin*, were amplified via polymerase chain reaction (PCR). The *wingless* region was amplified using Wg578F (5'-TGC ACN GTG AAR ACY TGC TGG ATG CG-3'; Ward and Downie, 2005) and Wg1032R (5'-ACY TCG CAG CAC CAR TGG AA-3'; Abouheif and Wray, 2002). The *long-wavelength rhodopsin* was amplified using Lr143F (5'-GAC AAA GTK CCA CCR GAR ATG CT-3') and Lr639ER (5'-YTT ACC GRT TCC ATC CRA ACA -3') from Ward and Downie (2005). For both *wingless* and *long-wavelength rhodopsin*, the PCR reaction mixture consisted of 3 µL of 10× reaction buffer, 1.5 µL of 30 mM/L magnesium chloride solution, 0.8 µL of a 1.25 mM/L dNTP solution in equimolar ratio, 0.25 mM of each primer, 10–50 ng of template DNA and 1 U of polymerase in a total volume of 30 µL. Amplification was carried out for an initial denaturation of 95 °C for 1 min followed by 40 PCR cycles consisting of 95 °C for 30 s, 52 °C for 1 min for *wingless*/50 °C for 1 min for *long-wavelength rhodopsin*, and 72 °C for 1.30 min, with a final extension period of 72 °C for 3 min.

2.2.3. Phylogenetic analyses

Sequences of both data sets, mimosoids and ants, were aligned using ClustalW (Thompson et al., 1994) as implemented in BioEdit 7.0.0 (Hall, 1997), and subsequently employed for phylogenetic analysis. The program Modeltest (Posada and Crandall, 1998) was utilized to find the best-fitting model for the data set for each DNA region of mimosoids and ants separately. Phylogenetic analyses were conducted implementing gene partitioned data, applying the best fit substitution model, and allowing unlinked parameter estimation among partitions using a Bayesian approach (MrBayes version 3.1.2; Huelsenbeck and Ronquist, 2001). Both groups of taxa were analyzed with 5,000,000 generations. Analyses included two paired runs, each with one cold chain and three heated chains (temp = 0.2) and a sample frequency of 200 generations. The phylogenies of both myrmecophilous group and their associated ants were compared using TreeMap (Page, 1994).

Table 2

Ants analyzed in this study. GenBank numbers are given for all nDNA sequences. LW Rh = long-wavelength rhodopsin. wg = wingless.

	Species	LW Rh	Wg
1	<i>Myrcidris epicharis</i> ^a	AY703785	AY703651
2	<i>Pseudomyrmex apache</i> ^a	AY703786	AY703652
3	<i>Pseudomyrmex boopis</i> ^a	AY703787	AY703653
4	<i>Pseudomyrmex concolor</i> ^a	AY703788	AY703654
5	<i>Pseudomyrmex cordiae</i> ^a	AY703789	AY703655
6	<i>Pseudomyrmex cubaensis</i> ^a	AY703790	AY703656
7	<i>Pseudomyrmex dendroicus</i> ^a	AY703791	AY703657
8	<i>Pseudomyrmex denticollis</i> ^a	AY703792	AY703658
9	<i>Pseudomyrmex elongatulus</i> ^a	AY703793	AY703659
10	<i>Pseudomyrmex ferrugineus</i> ^b	HM020792	HM020841
11	<i>Pseudomyrmex filiformis</i> ^a	AY703794	AY703660
12	<i>Pseudomyrmex flavicornis</i> ^a	AY703795	AY703661
13	<i>Pseudomyrmex godmani</i> ^a	AY703796	AY703662
14	<i>Pseudomyrmex gracilis</i> ^a	AY703797	AY703663
15	<i>Pseudomyrmex haytianus</i> ^a	AY703798	AY703664
16	<i>Pseudomyrmex holmgreni</i> ^a	AY703799	AY703665
17	<i>Pseudomyrmex ita</i> ^a	AY703800	AY703666
18	<i>Pseudomyrmex kuenckeli</i> ^a	AY703801	AY703667
19	<i>Pseudomyrmex mixtecus</i> ^b	HM020793	HM020842
20	<i>Pseudomyrmex nigrocinctus</i> ^a	AY703802	AY703668
21	<i>Pseudomyrmex nigropilosus</i> ^a	AY703803	AY703669
22	<i>Pseudomyrmex oculatus</i> ^a	AY703804	AY703670
23	<i>Pseudomyrmex oki</i> ^a	AY703805	AY703671
24	<i>Pseudomyrmex pallens</i> ^a	AY703807	AY703673
25	<i>Pseudomyrmex pallidus</i> ^a	AY703806	AY703672
26	<i>Pseudomyrmex pazosi</i> ^a	AY703808	AY703674
27	<i>Pseudomyrmex peperib</i> ^b	HM020794	HM020843
28	<i>Pseudomyrmex phyllophilus</i> ^a	AY703809	AY703675
29	<i>Pseudomyrmex satanicus</i> ^c	FJ436889	FJ436865
30	<i>Pseudomyrmex sericeus</i> ^a	AY703810	AY703676
31	<i>Pseudomyrmex simplex</i> ^a	AY703811	AY703677
32	<i>Pseudomyrmex spiculus</i> ^a	AY703812	AY703678
33	<i>Pseudomyrmex spinicola</i> ^c	FJ436890	FJ436866
34	<i>Pseudomyrmex subater</i> ^a	AY703813	AY703679
35	<i>Pseudomyrmex tachigaliae</i> ^a	AY703814	AY703680
36	<i>Pseudomyrmex tenuis</i> ^a	AY703815	AY703681
37	<i>Pseudomyrmex tenuissimus</i> ^a	AY703816	AY703682
38	<i>Pseudomyrmex termitarius</i> ^a	AY703817	AY703683
39	<i>Pseudomyrmex veneficus</i> ^b	HM020795	HM020844
40	<i>Pseudomyrmex viduus</i> ^a	AY703818	AY703684
41	<i>Tetraponera aethiops</i> ^a	AY703770	AY703636
42	<i>Tetraponera pilosa</i> ^a	AY703781	AY703647
43	<i>Tetraponera rufonigra</i> ^a	AY703783	AY703649

^a Species from Ward and Downie (2005).

^b Species sequenced in this study.

^c Species from Kautz et al. (2009).

2.2.4. Divergence times

Divergence times were estimated using penalized likelihood (Sanderson, 2002) implemented in r8s version 1.71 (Sanderson, 2003) using the consensus tree for mimosoids and the maximum a posteriori (MAP) tree for ants. Two calibration points were used in the analysis for both data sets. For the mimosoids, *Prosopis* with a range between 22.6 and 40.4 My was used, based on node 11 given by Lavin et al. (2005: p. 581) and a minimal age of 15.0 My for the clade that includes all the species here sampled except *Prosopis* sp. This latter node age is based on the node G of Lavin et al. (2005: p. 581). For the ants, an age of 44.10 My for genus *Tetraponera*, and an age constraint of 15.0–20.0 My for the genus *Pseudomyrmex* was used based on fossil records from Baltic Amber and Dominican Amber fossils, respectively (Dlussky, 1997; Ward, 1992). We obtained point estimates of age for each node in each of the 72 mimosoid trees topologically identical to the consensus tree and in 103 ant trees topologically identical to the maximum a posteriori (MAP) topology from among those sampled by the Bayesian MCMC's. From these, a mean and standard deviation of the age of each node were obtained (Tables 3 and 4). For mimosoids, we used the 72

identical trees to the consensus tree due that we only obtained three trees topologically identical to the MAP topology.

2.2.5. Diversification rates

Diversification rates were estimated only for the monophyletic groups of both mimosoids and ants, under a pure birth model using the formula $SR = (\ln n_1 - \ln n_0)/t$, where n_1 is the estimated number of extant species, n_0 is the initial diversity 1, and t is time in My (Yule, 1925). Species numbers (n_1) were based on a review of the literature. The Yule model is a continuous time, discrete-state, Markov process in which the number of splitting events along any path in a tree follows a Poisson distribution (Sanderson and Wojciechowski, 1996). It assumes an effectively constant rate of lineage diversification with no extinction. In spite of its simplicity, this method provides a good first approximation for diversification estimates (Sanderson and Donoghue, 1994).

Table 3

Age estimates (means and standard deviations) derived from 72 Bayesian trees sampled similar to the consensus tree for legumes. The letters correspond to those in Figs. 1 and 2. My = million years; SD = standard deviation.

Node	Mean age (My) ± SD	Minimum (My)	Maximum (My)
B	18.12 ± 0.41	17.46	19.37
C	14.88 ± 1.98	11.63	18.39
D	10.85 ± 2.97	5.87	17.22
E	5.00 ± 2.44	0.72	11.45
F	7.08 ± 3.11	2.10	14.66
G	12.34 ± 2.25	7.72	17.74
H	7.93 ± 2.77	3.83	17.32
I	6.31 ± 2.58	2.08	13.86
J	6.92 ± 2.49	3.10	13.81
K	4.57 ± 2.14	1.79	11.46
L	5.44 ± 1.93	1.83	11.55
L'	1.93 ± 1.09	0.35	5.80
M	5.42 ± 2.08	1.97	9.98
N	9.97 ± 3.02	4.56	16.16
O	12.31 ± 2.29	8.51	17.09
P	6.42 ± 1.85	3.00	10.96
Q	4.67 ± 1.82	1.48	10.37
R	6.66 ± 2.07	3.50	11.67
S	3.33 ± 1.32	1.08	8.36
T	8.06 ± 2.38	3.16	12.99
U	6.18 ± 2.17	2.56	11.19
V	2.75 ± 1.44	0.56	6.29
W	5.64 ± 1.98	2.30	10.76

Table 4

Age estimates (means and standard deviations) derived from 103 Bayesian trees sampled similar to the tree of major posterior probability for ants. The letters correspond to those in Figs. 3 and 4. My = million years; SD = standard deviation.

Node	Mean age (My) ± SD	Minimum (My)	Maximum (My)
A'	95.80 ± 10.82	76.45	139.8
B	40.78 ± 5.51	32.13	54.27
D	12.48 ± 1.85	9.16	17.35
E	9.38 ± 1.52	6.63	14.02
F	17.18 ± 1.23	14.24	19.95
G	4.69 ± 1.23	2.22	8.23
H	3.38 ± 1.14	1.27	7.29
I	3.76 ± 0.97	1.93	6.19
J	2.75 ± 0.67	1.6	4.27
K	9.58 ± 1.65	6.35	13.60
L	4.01 ± 1.19	1.34	6.99
M	6.68 ± 1.07	3.92	9.34
N	4.58 ± 0.82	2.52	7.31
O	4.02 ± 0.73	2.52	5.92
P	2.90 ± 0.63	1.54	4.65
Q	4.18 ± 1.05	1.89	6.90
R	9.57 ± 1.23	6.64	12.96
S	2.63 ± 0.64	1.44	4.33
T	1.68 ± 0.74	0.48	3.51

3. Results

3.1. Mimosoids

Amplification and sequencing of the three chloroplast regions was achieved relatively ease for all species, represented from either fresh or herbarium material. The only troublesome sequences were those samples obtained from herbarium specimens of *Acaciella*. In total we used a matrix of 70 taxa from which we amplified and sequenced 37 species for *matK*; 49 species for *psaB-rps14* and 45 species for *trnL-trnF*. The DNA sequences obtained from GenBank and used in these analyses are indicated in Table 1. The models with best fit to the sequences were GTR+I+G for *matK*, K81+uf+G for *psaB-rps14* and TIM+G for *trnL-trnF* the data sets of mimosoids.

3.1.1. Phylogeny and divergence times

Phylogenies estimated for the set of 70 taxa using the concatenated matrix of 3128 sites with a Bayesian approach, including branch lengths, are shown in Fig. 1. The dated phylogeny is shown in Fig. 2. In general, most groups are supported by high posterior probabilities (Fig. 1). All taxa analyzed were included in one of two major clades, one grouping all species of subgenus *Acacia*, and the other grouping species of subgenus *Aculeiferum*, subgenus *Phyllodineae*, the segregate genus *Acaciella*, and species of tribe Ingeae and species of tribe Mimoseae.

3.1.2. Subgenus *Acacia*

This subgenus was resolved as a monophyletic group with the origin of the crown group dated at Miocene (labeled as C in Figs. 1 and 2). New and Old World species grouped into two different clades, G and D, respectively (Figs. 1 and 2).

Acacia constricta, *A. neovernicosa* and *A. schottii* diverged before to the rest of the New World species in clade H (Figs. 1 and 2). The species *A. caven*, *A. farnesiana*, *A. schaffneri* and *A. tortuosa* are nested in clade I (Figs. 1 and 2). *A. cochliacantha*, *A. macracantha* and *A. pennatula* were found in clade K (Figs. 1 and 2). The Caribbean endemic species *A. anegadensis* and *A. roigii* were established in clade M (Figs. 1 and 2). The estimated ages for these groups are listed in Table 3.

The Neotropical swollen-thorn acacias are monophyletic (clade L, Figs. 1 and 2) and are closely related to the *A. macracantha* group (clade K, Figs. 1 and 2). Within this group it is possible to distinguish a small clade formed by *A. cedilloi*, *A. collinsii*, *A. globulifera*, *A. hindsii* and *A. hirtipes* (clade L' in Figs. 1 and 2). In contrast, the known African swollen-thorn acacias were not established as monophyletic but instead nested into two sub-clades of the clade D. The first includes *A. drepanolobium* and *A. luederitzii* (E in Figs. 1 and 2), sister to the non-myrmecophilous *A. tortilis*. A second sub-clade grouped the myrmecophilous *A. seyal* and the non-myrmecophilous *A. karroo* (F in Figs. 1 and 2). Estimated ages for these groups are listed in Table 3.

3.1.3. Subgenus *Aculeiferum*

The analyzed species of subgenus *Aculeiferum* were non-monophyletic, but all belong to a clade dated at Miocene (clade O in Figs. 1 and 2). Clade W contains *A. berlandieri*, *A. reniformis*, *A. gaurmeri* and *A. picachensis* (Figs. 1 and 2). Clade V includes two endemic species from Bolivia (*A. feddeana* and *A. riograndensis*) and one from the Dominican Republic (*A. scleroxyla*) (Figs. 1 and 2). These species are grouped with *A. vogeliana* and the four species belonging to the *A. coulteri* group (*A. centralis*, *A. dolichostachya*, *A. usumacintensis* and *A. willardiana*) within the clade U (Figs. 1 and 2). The *A. coulteri* group, recently proposed as the genus *Mariosoussa* (Seigler et al., 2006), was found to be non-monophyletic be-

cause *A. willardiana* diverged before node U. *A. visco* is the sister group of a clade that includes all sampled species of the subg. *Aculeiferum*, species of the subg. *Phyllodineae*, and those of the tribe Ingeae and genus *Acaciella*. The ages of these groups are listed in Table 3.

3.1.4. Subgenus *Phyllodineae*

Subgenus *Phyllodineae* was resolved as monophyletic, corresponding to clade S, although it was represented by only 12 species – a small sample size considering its estimated size of 1045 species (Miller and Bayer, 2003; Lewis et al., 2005). Its crown age was estimated as 3.33 ± 1.32 My (Figs. 1 and 2 and Table 3). These species are nested within clade R, including six species of the sampled Ingeae, and a single species of *Acaciella* (*A. chamelensis*). This clade has an estimated age of 6.66 ± 2.07 My (Figs. 1 and 2 and Table 3).

3.1.5. Genus *Acaciella*

The seven studied species of this genus belong to two clades. Six of them form a monophyletic group (clade Q) with *Calliandra houstoniana* var. *anomala* as their closest relative (clade P). These *Acaciella* species had an estimated age of 4.67 ± 1.82 My (Figs. 1 and 2 and Table 3). As mentioned above, *Acaciella chamelensis* nested separately with six of the seven species of Ingeae, including *Acacia* subgenus *Phyllodineae*; thus, *Acaciella* is established as paraphyletic.

3.1.6. Tribe Ingeae

Tribe Ingeae was represented by seven genera, which belonged to two clades. Six of them, *Albizia kalkora*, *Faidherbia albida*, *Havardia pallens*, *Inga edulis*, *Lysiloma divaricatum*, and *Pithecellobium dulce* clustered in clade R, including also *Acaciella chamelensis* and the 12 species of subgenus *Phyllodineae* (Figs. 1 and 2). The seventh species of Ingeae, *Calliandra houstoniana* var. *anomala* was nested together with six species of *Acaciella* (P in Figs. 1 and 2). The ages of these groups are listed in Table 3.

3.1.7. Tribe Mimoseae

Tribe Mimoseae was represented by four species, whereas *Prosopis juliflora* and *P. laevigata* were selected as outgroup taxa (clade A, Fig. 1). *Mimosa similis* and *Piptadenia viridiflora* were grouped together as a basally branching sub-clade of 9.97 ± 3.02 My (clade N, Figs. 1 and 2 and Table 3), as the sister group of this clade that includes species in the subgenera *Aculeiferum* (including the four species of the *A. coulteri* group, or *Mariosoussa*), *Phyllodineae*, tribe Ingeae as well as the species of the genus *Acaciella*.

3.1.8. Diversification rates in the mimosoids

In order to test the idea that the specialized mutualism between the ants and *Acacia* may have increased the diversification rates of both mutualistic species, as suggested for *Yucca* (see Smith et al., 2008), we estimated the diversification rates of monophyletic groups within the studied mimosoids, using estimates of the total number of extant species of groups.

The total rate for subgenus *Acacia* was 0.341 sp/My (considering a total of 161 species); 0.321 sp/My for all subgenus *Acacia* from the New World (53 species) and 0.395 sp/My for its sister group from the Old World (73 species). Considering the informal groups from the New World, the prediction of high diversification rate due to the specialized mutualism holds, as the highest rate was found in the myrmecophilous group, clade L, with a rate of 0.496 sp/My (15 species) in contrast to the 0.424 sp/My for its sister group, the *A. macracantha* group (7 species). The second highest rate was obtained by the *A. aculeifera* group, with a rate

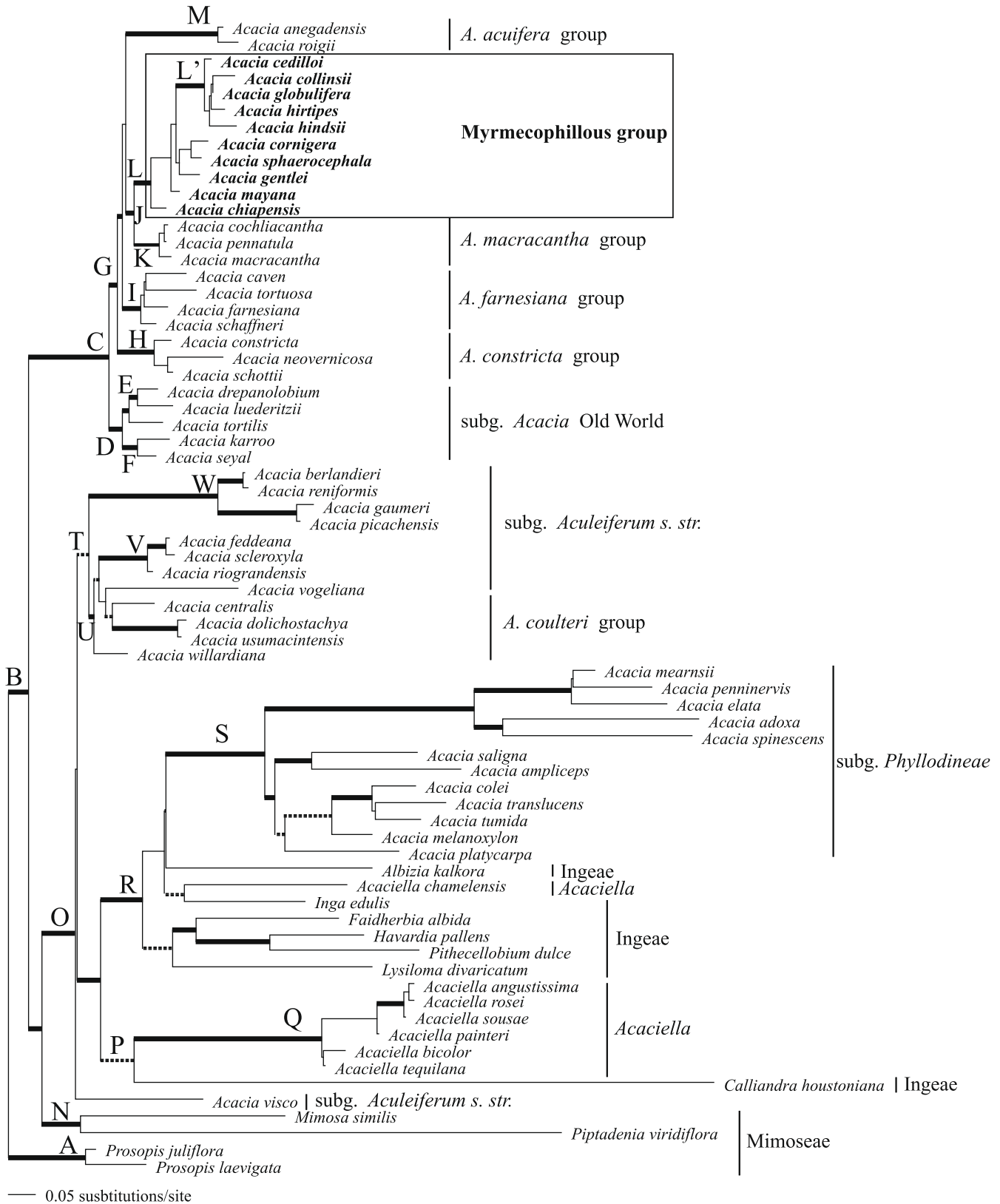


Fig. 1. Bayesian consensus tree of *Acacia* and selected relatives, inferred from the three chloroplast data (*matK*, *psaB-rps14* and *trnL-trnF*). The letters indicate the groups discussed in the text. Thicker horizontal lines represent branches supported by posterior probabilities of 0.90–1.00. Dashed lines represent branches supported by posterior probabilities of equal or above 0.50.

of 0.457 sp/My (12 species). The *A. constricta* group has the lowest rate among the groups of the New World, its rate is of 0.201 sp/

My (11 species) (Table 5). The diversification rate of the Neotropical myrmecophilous, *A. macracantha*, and *A. acuífera* groups are

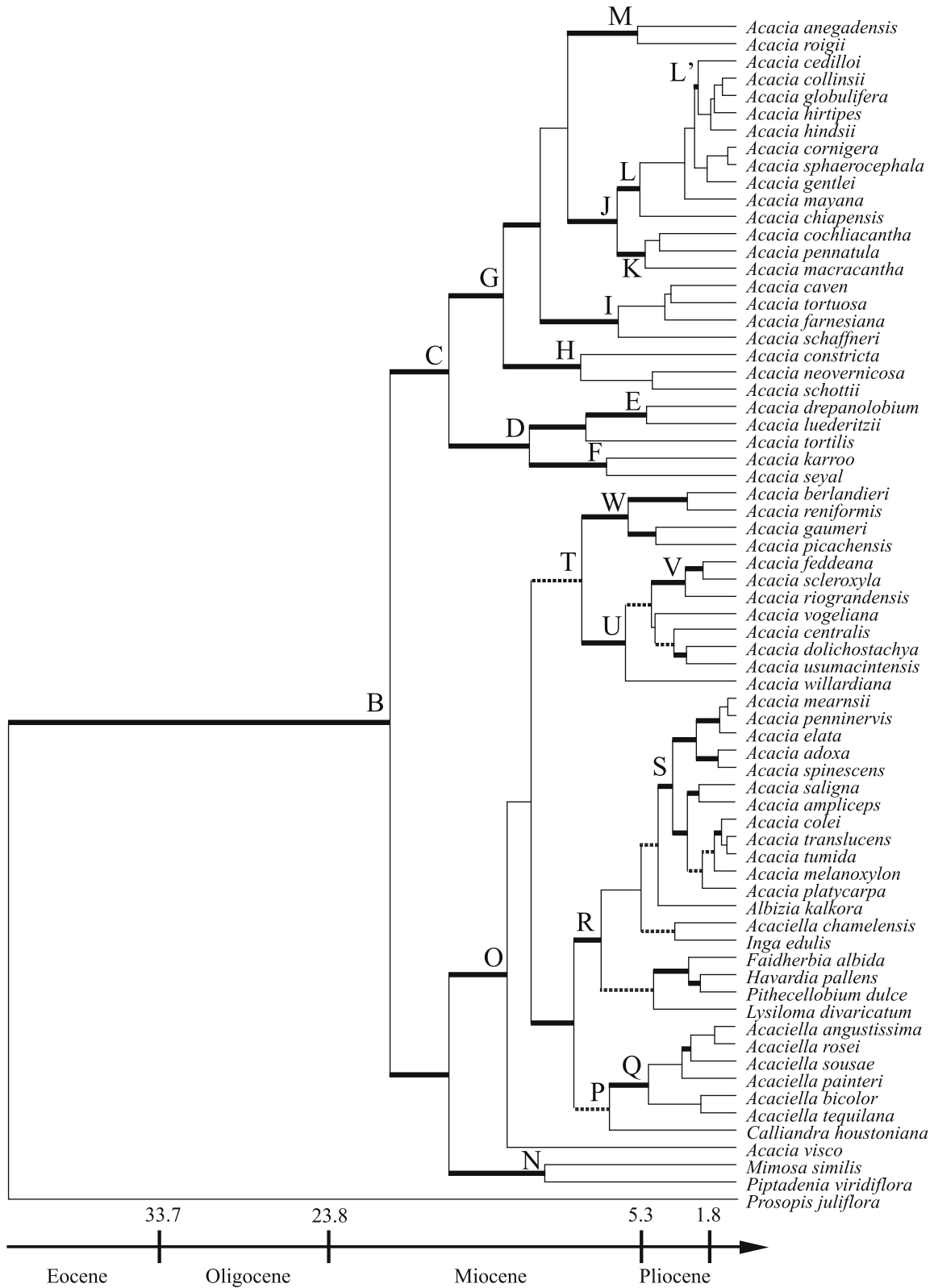


Fig. 2. Chronogram derived from the all-compatible Bayesian consensus tree of *Acacia* and selected relatives. The root was considered at range between 22.6 and 40.4 My, as derived from Lavin et al. (2005). The letters indicate the groups discussed in the text. Thicker horizontal lines represent branches supported by posterior probabilities of 0.90–1.00. Dashed lines represent branches supported by posterior probabilities of equal or above 0.50. No branches below 0.50 were resolved in the Bayesian consensus.

higher than the rates of the other New World groups ($F = 30.72$; $P_{(d.f. = 4, \alpha = 0.05)} = 0.0000$).

It is important to remark that subgenus *Phyllodineae* has the highest diversification rate of all sampled groups, 2.087 sp/My

Table 5

Diversification rates of groups of both mimosoids and ants. The number of species is the total for each group, and the second is the number of species included (in parenthesis).

Clade	Number of species	Diversification rates
Mimosoids		
C Subgenus <i>Acacia</i>	161 (27)	0.341
D Subgenus <i>Acacia</i> Old World	73 (5)	0.395
G Subgenus <i>Acacia</i> New World	53 (22)	0.321
H <i>Acacia constricta</i> group	5 (3)	0.201
I <i>Acacia farnesiana</i> group	11 (4)	0.378
K <i>Acacia macracantha</i> group	7 (3)	0.424
L Myrmecophilous group	15 (10)	0.496
M <i>Acacia acuífera</i> group	12 (2)	0.457
Q Genus <i>Acaciella</i>	14 ^a (6)	0.563
S Subgenus <i>Phyllodineae</i>	1045 (12)	2.087
Ants		
C Genus <i>Pseudomyrmex</i>	200 (39)	0.264
E <i>Pseudomyrmex tenuis</i> group	4 (4)	0.147
H <i>Pseudomyrmex subtilissimus</i> group	4 (2)	0.410
I <i>Pseudomyrmex gracilis</i> group	31 (3)	0.913
J <i>Pseudomyrmex sericeus</i> group	15 (3)	0.984
N <i>Pseudomyrmex ferrugineus</i> group	10 (8)	0.502
P <i>Pseudomyrmex pallidus</i> group	27 (4)	1.136
S <i>Pseudomyrmex oculatus</i> group	11 (2)	0.911

^a *Acaciella* comprises 15 species, but for the analysis only 14 species were considered, since it proved to be a non-monophyletic group (see Figs. 1 and 2) and thus, the diversification rate was obtained from the monophyletic clade of six species.

(1045 species), whereas the *Acaciella* genus, for which we consider only 14 species (since *A. chamelensis* grouped within the tribe Ingeae) has an intermediate rate of 0.563 sp/My (Table 5).

3.2. Ants

The four species of the *P. ferrugineus* group sampled were collected fresh, amplified and sequenced without any problem for two nuclear regions. We used a matrix of 43 taxa, 39 of them were obtained from GenBank (Table 2). The models with best fit to the data were K80+G for *wingless* and TVM+G for *long-wavelength rhodopsine*.

3.2.1. Phylogeny and divergence times

The phylogeny estimated for the set of 43 taxa, using a concatenated matrix of 980 sites and a Bayesian approach, including branch lengths is shown in Fig. 3. The tree with estimated ages is shown in Fig. 4. In general, posterior probabilities associated to clades are high, except for the node shared by the *P. ferrugineus*, *P. pallidus* and *P. viduus* (in part) groups and that of the *P. tenuis* group (Fig. 3).

3.2.2. *Pseudomyrmex*

The data resolved a monophyletic *Pseudomyrmex* (clade C) with an estimated age of 20.0 My (Figs. 3 and 4) and with two primary lineages (clades D, F; Figs. 3 and 4). Six major clades are nested in clade F with an estimated age of 17.18 ± 1.23 My (Figs. 3 and 4 and Table 4). From the nine morphological groups suggested by Ward (1989), the *Pseudomyrmex pallens* group (clades G, L) and *P. viduus* group (clades K, Q, T) were non-monophyletic. Conversely, the groups of *P. ferrugineus* (clade N), *P. gracilis* (clade I), *P. oculatus* (clade S), *P. pallidus* (clade P), *P. sericeus* (clade J), *P. subtilissimus* (clade H) and *P. tenuis* (clade E) were monophyletic (Figs. 3 and 4). The ages for these groups are listed in Table 4.

In particular, we analyzed eight of ten species of the *P. ferrugineus* group. As stated above, this is a monophyletic group supported by a high posterior probability of 0.90 and an estimated age of 4.58 ± 0.82 My (clade N, Figs. 3 and 4 and Table 4). The sister group of this clade is *P. haytianus*, a species endemic to Haiti. The time of

divergence between the *P. ferrugineus* group and *P. haytianus* is 6.68 ± 1.07 My (clade M, Figs. 3 and 4 and Table 4).

3.2.3. *Myrcidris* and *Tetraoponera*

Myrcidris epicharis was found to be an early diverging branch, which is sister to genus *Pseudomyrmex*. The age of this divergence is estimated as 40.78 ± 5.51 My (clade B, Figs. 3 and 4 and Table 4). *Tetraoponera*, represented by three species *T. aethiops*, *T. pilosa* and *T. rufonigra*, is monophyletic and is the sister lineage to *Myrcidris* plus *Pseudomyrmex* (clade A, Figs. 3 and 4 and Table 4). The divergence age for the New and Old World lineages was 95.80 ± 10.82 My (clade A', Fig. 4 and Table 4).

3.2.4. Diversification rates in *Pseudomyrmex*

The diversification rates for the sampled species was estimated as 0.264 sp/My (200 species). The diversification rates of the seven monophyletic groups are shown in Table 5. The highest rate was for the *P. pallidus* group with 1.136 sp/My (27 species), whereas the lowest rate was found for the *P. tenuis* group with 0.147 sp/My (4 species). The mutualistic swollen-thorn acacia ants of the *P. ferrugineus* group with a total of 10 species, had an intermediate diversification rate of 0.502 sp/My.

3.2.5. *Acacia* and *Pseudomyrmex* dates of origin

Subgenus *Acacia*, (clade C, Fig. 1) was originated 14.88 ± 1.98 My, and has an estimated diversification rate of 0.341 sp/My. Particularly, the New World species belonging to this subgenus (clade G, Fig. 1) have an age of 12.34 ± 2.25 My and a diversification rate of 0.321 sp/My. The *Pseudomyrmex* genus with a similar age, in general has a slightly lower diversification rate, 0.264 sp/My. Conversely, the origin of the myrmecophilous specialized *Acacia* (clade L, Fig. 1) was 5.44 ± 1.93 My, while our estimate for the clade of the associated ants (N, Fig. 3) is similar, 4.58 ± 0.82 My. Also, the diversification rates are similar, 0.496 sp/My for the ant–acacias, and 0.502 sp/My for the acacia–ants. Whereas the diversification rate of myrmecophilous *Acacia* is the highest within subgenus *Acacia*, the diversification rate of ants associated with the *Acacia* is moderate compared to the rest of the *Pseudomyrmex* genus (Table 5).

Nevertheless, there is not a one to one pattern of specialization, as we show in Fig. 5, derived from our data and data from the literature. It is clear that each ant species could be associated to several *Acacia* species, and that each species of *Acacia* could be exploited by several *Pseudomyrmex* ants. In this sense, it is important to note that swollen-thorn acacias with major geographical distributions such as *A. collinsii*, *A. cornigera* and *A. hindsii* are inhabited by a large number of *P. ferrugineus* group ants. Also, the acacia–ants that have a greater distribution are associated to many swollen-thorn acacias, such as *P. ferrugineus* and *P. peperi*. On the contrary, species with restricted distributions in both taxa have fewer associate species. These patterns correspond in general terms to a “highly nested matrix” of mutualistic networks (*sensu* Bascompte et al., 2003), in which the specialist species (either of acacia or ants) mainly interact with a proper subset of those species interacting with the more generalist species.

4. Discussion

4.1. *Acacia*–*Pseudomyrmex* mutualism

The *Acacia*–*Pseudomyrmex* symbiosis has been often cited as an example of a co-evolutionary relationship since Janzen (1966). The reciprocal adaptations between myrmecophilous acacias and its mutualistic ants reinforce the co-evolutionary proposal, due to the fact that these ants nest exclusively in the domatia of myrmecophilous acacias. Likewise, the chemical composition of the beltian bodies and extra floral nectar are specific for the resident ants (Heil et al., 2004, 2005). The beltian bodies contain 10 amino-

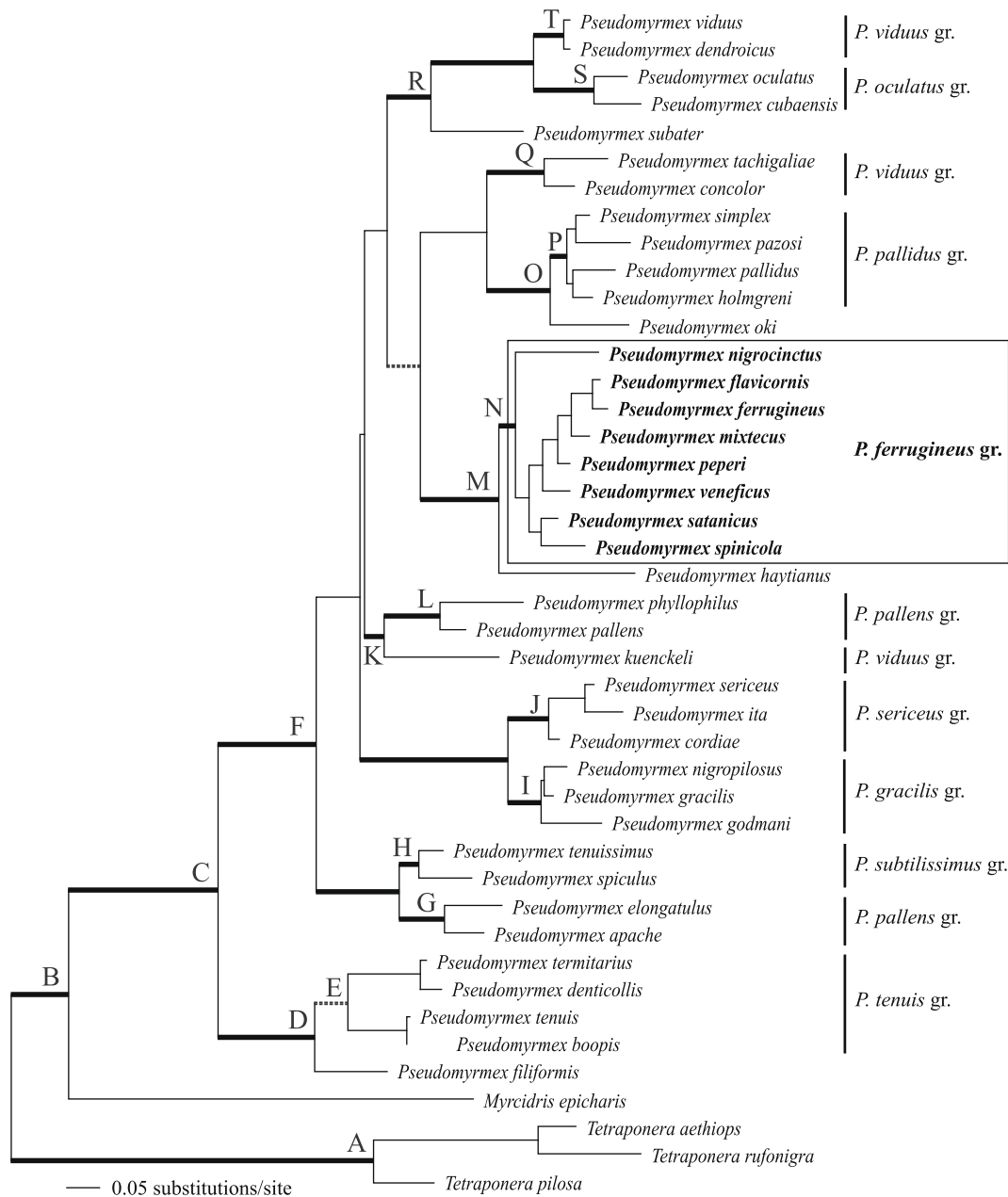


Fig. 3. Bayesian tree of maximum a posteriori (MAP) topology of Pseudomyrmecinae ants inferred from the two nuclear data (*long-wavelength rhodopsine* and *wingless*). The letters indicate the groups discussed in the text. *Pseudomyrmex subater*, *P. oki*, *P. haytianus* and *P. filiformis* have not currently been assigned to any informal group. Thicker lines represent branches supported by posterior probabilities of 0.90–1.00. Dashed lines represent branches supported by posterior probabilities of equal or above 0.60.

acids and oily acids, like linoleic and linoleic acids, which are essential for the growth and normal development of insects in general (Heil et al., 2004). Also, the lack of sucrose in extrafloral nectar confers an advantage to the resident ants which lack invertase, the enzyme responsible of sucrose hydrolysis (Heil et al., 2004; Kautz et al., 2009).

At the macroevolution level, the ages of divergence obtained here for both the Neotropical myrmecophilous acacias (5.44 ± 1.93 My) and the *P. ferrugineus* group (4.58 ± 0.82 My) support this co-evolution proposal and provide an estimate of the time of origin of the mutualistic relationship among *Acacia* and *Pseudomyrmex*. This mutualistic relationship could be situated between the late Miocene and the early Pliocene (clade L in Fig. 2; clade N in Fig. 4). The phylogenetic relationship between the *P. ferrugineus* group and *P. haytianus*, an endemic species from Haiti, suggests a historical connection between the Greater Antilles and Mesoamerica. This bioge-

ographical pattern has been previously reported for some Caribbean insects (Liebherr, 1988). Based on this evidence, as well as on the presence of *Pseudomyrmex* in Dominican amber (the result of a radiation from Mesoamerica to the Antilles, Ward, 1992), our results suggest that Mesoamerica is the centre of diversification of the mutualistic association between *Pseudomyrmex* and *Acacia*, with an eventual diversification northwards into Mexico, mostly along both coasts up to the Tropic of Cancer (Janzen, 1966; Rico-Arce, 2007). The highest diversity of species in both *P. ferrugineus* group as well as the myrmecophilous *Acacia* resides in Mexico. This expansion was perhaps assisted by bird dispersal (Janzen, 1966, 1969).

Janzen (1974: p. 12) as mentioned above suggested a polyphyletic origin of the American myrmecophilous *Acacia* species. Specifically, he suggested that mutualism might have evolved more than once, or that some non-myrmecophilous species became myrmecophilous by hybridization. In contrast, the present study finds

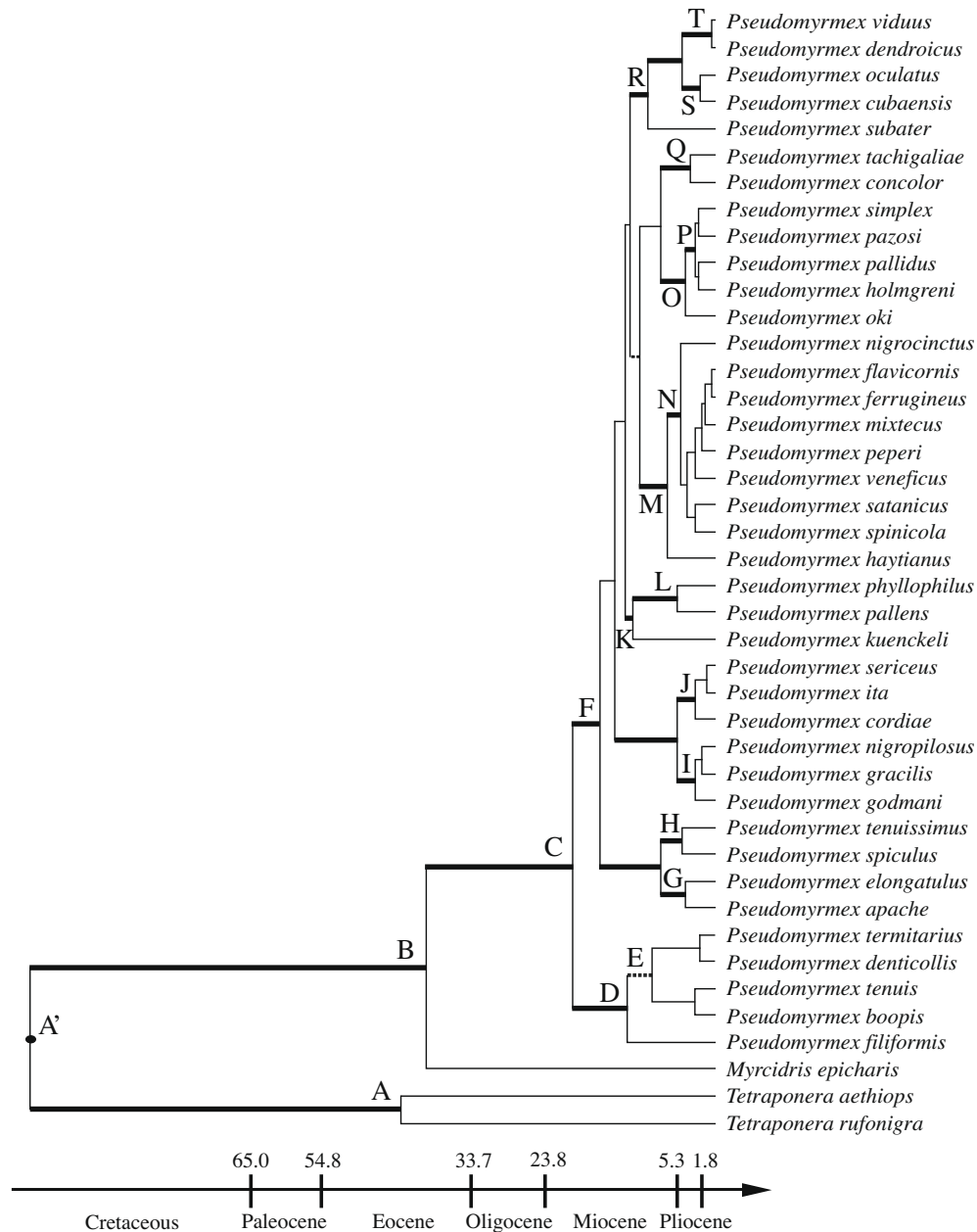


Fig. 4. Chronogram derived from the all-compatible maximum a posteriori (MAP) tree of Pseudomyrmecinae ants. The root was fixed at 44.1 My, as derived from *Blussky* (1997). The letters indicate the groups discussed in the text. *Pseudomyrmex subater*, *P. oki*, *P. haytianus* and *P. filiformis* have not currently been assigned to any informal group. Thicker lines represent branches supported by posterior probabilities of 0.90–1.00, whereas dashed lines represent branches by posterior probabilities of 0.60–0.80.

all sampled Neotropical myrmecophilous species forming a monophyletic group, with a diversification age corresponding to the late Miocene (L in Figs. 1 and 2 and Table 3). The clade includes a subclade formed by *A. cedilloi*, *A. collinsii*, *A. globulifera*, *A. hindsii* and *A. hirtipes* (L' in Figs. 1 and 2 and Table 3), which lack any distinct morphological synapomorphies, and the species share no habitat preference. Of the ten analyzed Neotropical myrmecophilous species, *A. chiapensis* and *A. globulifera* have globose capitate inflorescences, while the rest have spicate inflorescences. Their preferred habitat is mesic forests, although *A. chiapensis*, *A. collinsii*, *A. hindsii* and *A. sphaerocephala* grow also in seasonally dry forests, with *A. hindsii* being the most widely distributed species of the group (*Rico-Arce*, 2003).

It is worth mentioning that the Neotropical myrmecophilous acacias and the *A. macracantha* groups are closely related by common ancestry dated at 6.92 ± 2.49 My (J in Figs. 1 and 2 and

Table 3). As suggested by *Clarke et al.* (2000), this is supported by the presence of large leaves that emerge from long shoots; which are produced by plants inhabiting mesic forests. In our opinion, this may be related more with the diversification and presence of numerous types of extrafloral nectaries shared by all myrmecophilous species. Another possible morphological synapomorphy are the modified floral bracts which are peltate in the American myrmecophilous group. Additionally, it is important to note that *A. pennatula* (*A. macracantha* group) secretes extrafloral nectar only at the end of the dry season. At this time, the acacias are associated with the *Brachymyrmex obscurior* (Formicidae). However, in this case the ants obtained their food from the extrafloral nectar but they did not protect the plants from the herbivorous (*Moya-Raygoza*, 2005).

With regard to the relationships of the African myrmecophilous species, *A. drepanolobium*, *A. luederitzii* and *A. seyal* were not estab-

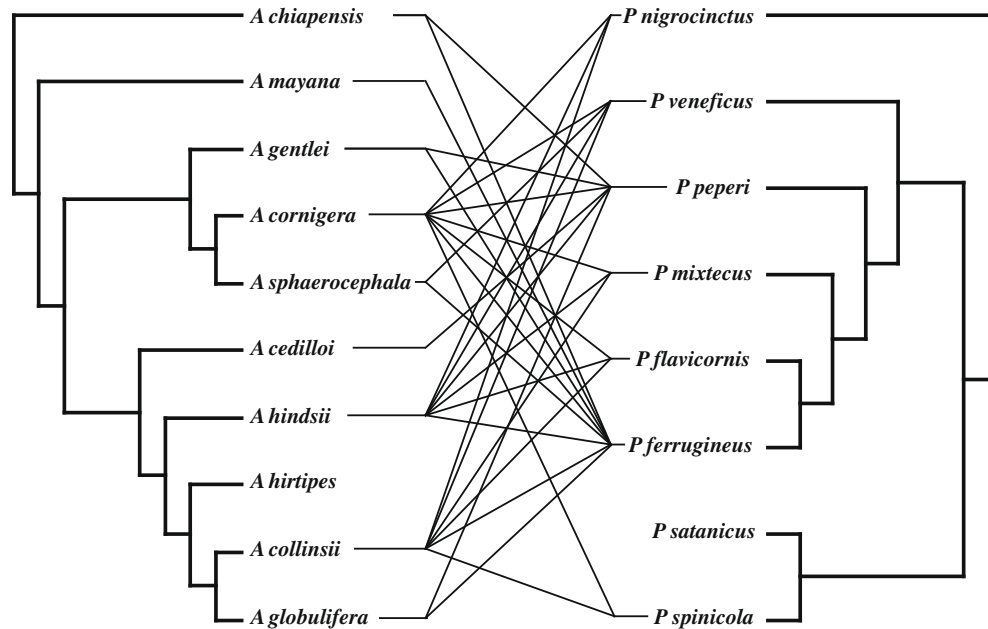


Fig. 5. Tanglegram showing relationships between the swollen-thorn acacias and the *Pseudomyrmex ferrugineus* group, based on their Bayesian trees. The lines between trees indicate the associations reported until now in literature. For *Acacia hirtipes* there is no information of associated mutualist ants. *Pseudomyrmex satanicus* is considered the only inhabitant of *Acacia melanoceras* (Neotropical ant–acacias group), but it was not sampled in this study.

lished as sister species, suggesting that myrmecophyly was derived or lost at least twice in the Old World. The divergence ages for the nodes in which these species were nested are 5.00 ± 2.44 and 7.08 ± 3.11 My, respectively, which suggests that myrmecophyly in Africa occurred slightly earlier than in the Neotropics (E, F in Figs. 1 and 2 and Table 3). The African species do not have the great diversity and abundance of extrafloral nectaries as found in the Neotropical species. However, floral peltate bracts are present both in *A. seyal* myrmecophyllous and in the non-myrmecophyllous *A. karroo*. Could it be that the latter species represents the ancestral radiation of myrmecophyly in Africa? *A. karroo* has great variation on stipular thorns, and recently groups of ants have been observed on their thorns (Lubertazzi, 2002). A better understanding concerning the latter is still pending.

On the other hand, it is generally accepted that reciprocal selection results in congruent phylogenies between insects and plants (Johnson and Clayton, 2004; Weiblen and Bush, 2002), but in particular for mutualistic systems, host changes are more probable than cospeciation because they involved species that commonly differ with the species which with they interact (Brouat et al., 2004; Davidson and McKey, 1993). The comparison of the phylogenies obtained for the Neotropical myrmecophilous acacias and its mutualistic ants reveals the absence of a phylogenetic congruence, which is probably the consequence of a recurrent change of ant hosts, depending on its geographic availability (Fig. 5). This scenario is similar to that found for other ant–plant mutualisms like in *Azteca* (Formicidae)–*Ceropia* (Urticaceae) (Ayala et al., 1996); *Crematogaster* (Myrmicinae)–*Macaranga* (Euphorbiaceae) (Feldhaar et al., 2003; Quek et al., 2004) and *Petalomyrmex* (Formicinae)–*Leonardoxa* (Leguminosae) (Chenuil and McKey, 1996). Nevertheless, the co-evolution of these systems probably follows a geographical mosaic in which the populations differ in their characteristics and specializations with respect to the species with which they interact (Thompson, 2005).

4.2. Diversification rates

Rates of diversification have been recently used to understand the evolution of biological diversity, allowing the identification of

groups with exceptional high diversification rates, for example, the Cicadaceae genus *Kikihia* (0.54 sp/My; Marshall et al., 2008), the South African Aizoaceae (0.77–1.75 sp/My; Klack et al., 2004), the Hawaiian silversword (Asteraceae) (0.56 ± 0.17 sp/My; Baldwin and Sanderson, 1998) and the essentially Mexican genus *Agave* (Agavaceae) (0.51 ± 0.06 sp/My; Good-Avila et al., 2006). Malcomber (2002) suggested that in the genus *Gaertnera* (Rubiaceae) the high diversification rate (0.717–0.832 sp/My) is correlated with a change in corolla morphology. Likewise, for the Neotropical genera *Costus* (Costaceae) and *Lupinus* (Leguminosae) with values of diversification rates, 0.6–2.6 and 2.49–3.72 sp/My, respectively, are the result of recent radiations (Hughes and Eastwood, 2006; Kay et al., 2005). Congruent with these, the diversification rate obtained here for the genus *Acaciella* is high (0.563 sp/My; Table 5) and similar to the one of the genus *Inga* (Leguminosae) (0.5 sp/My, calculated from data in Richardson et al., 2001a), both Neotropical genera of recent origin. In contrast, the diversification rate for the whole subgenus *Acacia* is relatively low (0.341 sp/My; Table 5), as well as for the New World clade (0.321 sp/My; Table 5); whereas in the clade of the Old World species the rate of diversification increases (0.395 sp/My; Table 5).

Within the groups in subgenus *Acacia*, we found that the diversification rates increase as the distribution of the species approaches to the wet tropics, that is, the lowest diversification rate corresponds to the *A. constricta* group (0.201 sp/My; Table 5) which is distributed mainly in dry environments. For the *A. farnesiana* and *A. macracantha* groups diversification rates are slightly higher (0.378 sp/My and 0.424 sp/My, respectively; Table 5) which are similar to those obtained for species of the Old World. In contrast, the highest diversification rates correspond to the *A. acuífera* (0.457 sp/My; Table 5), and the Neotropical myrmecophilous groups (0.496 sp/My; Table 5), both comprising species distributed mainly in wet tropical regions, usually at low altitude. The trend of finding the highest diversification rates in the wet tropics has also been reported for Angiosperms in general as well as for animals such as the passerine birds and butterflies (Cardillo, 1999; Cardillo et al., 2005; Janson and Davies, 2008). For the Neotropical myrmecophilous acacias, its high value might be also due to the mutualistic association with the ants of the *P. ferrugineus* group, which

may have induce adaptative morphological features such as proliferation of extrafloral nectaries on the leaves and the unique presence of high-energetic beltian bodies at the tip of leaflets. Moreover, physiological adaptations such as the secretion of nectar without sucrose by these nectaries have been suggested as an adaptation that prevents not useful mutualistic visitors to the plant (Heil et al., 2005).

Subgenus *Phyllodineae* presents the highest diversification rate found in this study, being 2.087 sp/My (Table 5). This subgenus comprises 1045 species distributed mainly in Australia and it has been suggested that this high species number could be the outcome of aridification occurring in that continent 10–7 My (Bowman and Yeates, 2006). Following this proposal, its highest diversification rate could be the result of speciation in response to aridification. Similarly to the diversification rates of *Agave* (Agavaceae) with 0.51 ± 0.06 sp/My (Good-Avila et al., 2006), *Ehrharta* (Poaceae) with 0.87–4.18 sp/My (Verboom et al., 2003), *Phylla* (Rhamnaceae) with 0.626 sp/My (calculated from data in Richardson et al., 2001b), and *Yucca* (Agavaceae) with 0.33 ± 0.06 sp/My (Smith et al., 2008), all correlated with this aridification process.

Conversely, the diversification rates of insects vary from 0.048 to 0.068 sp/My in Coleoptera (Hunt et al., 2007) to 4.17 sp/My in *Laupala* (Gryllidae), a Hawaiian cricket genus which has the highest rate recorded for the arthropods, where differences in sexual behavior has been suggested as the forces that driven speciation (Mendelson and Shaw, 2005). Remarkably, for *Pheidole* (Formicidae), the most speciose ant genus (1100 species), Moreau (2008) assessed a divergence age of 58.4–61.2 My, with a diversification rate of 0.108–0.103 sp/My.

In our study, the overall diversification rates obtained for the Neotropical genus *Pseudomyrmex* is 0.264 p/My (Table 5), higher than the one reported for *Pheidole*. Of the seven morphological groups of *Pseudomyrmex*, only the *P. tenuis* group (0.147 sp/My; Table 5) has a low diversification rate, the lowest found so far for this genus. In contrast, *P. gracilis* group (0.913 sp/My; Table 5), *P. oculatus* group (0.911 sp/My; Table 5), *P. pallidus* group (1.136 sp/My; Table 5) and the *P. sericeus* group (0.984 sp/My; Table 5) have very high diversification rates. The *P. subtilissimus* and *P. ferrugineus* groups have lower diversification rates than the latter groups, corresponding to 0.410 sp/My and 0.502 sp/My, respectively (Table 5). Conceivably this lower diversification rate in the *P. ferrugineus* group is in part due to its obligatory mutualism with the Neotropical myrmecophilous acacias. Based on this, we consider that the obligatory Neotropical mutualism *Acacia*–*Pseudomyrmex* has had a major cost on the *P. ferrugineus* group which has a lower diversification rate and whose species have to developed physiological modifications (Kautz et al., 2009). Nevertheless, overall, the *Pseudomyrmex* genus is characterized by arboreal ants, in which many species nest in branches or dead leaves among different plant families, principally in plants of Leguminosae, although the species of the *P. sericeus* group have been related with plants of other families such as Boraginaceae, Lauraceae and Polygonaceae. These have offer new habitats for colonization, and in consequence, the highest diversification rates obtained in this study might be due to the association of these groups of ants with a broader number of plant species.

4.3. Systematics and phylogeny of *Acacia*

The tribes Acacieae, Ingeae and Mimoseae belong to the subfamily Mimosoideae (Lewis et al., 2005). *Acacia sensu lato* flowers have numerous free stamens; whereas members of the tribe Ingeae are traditionally defined by its flowers with numerous stamens united into a tube, contrasting with those taxa of tribe Mimoseae which present ten or less free stamens per flower. A generally accepted hypothesis considers that Acacieae and Ingeae

were derived with respect to the Mimoseae, and phylogenetic analyses have shown that the tribe Ingeae is paraphyletic with respect to the Acacieae (Brown et al., 2008; Chappill and Maslin, 1995; Luckow et al., 2003; Miller and Bayer, 2000, 2001; Robinson and Harris, 2000). Our results confirm that tribes Acacieae and Ingeae as traditionally circumscribed are not monophyletic (Figs. 1 and 2).

In this study, we consider *Acacia* as a single genus comprising three subgenera, subg. *Acacia*, subg. *Aculeiferum*, and subg. *Phyllodineae*. Subgenus *Acacia* comprises 161 species with pantropical distribution; previous molecular studies have shown that this subgenus is monophyletic (Brown et al., 2008; Luckow et al., 2003; Miller and Bayer, 2000, 2001, 2003; Robinson and Harris, 2000). Our analyses supports the monophyly of subgenus *Acacia* and suggest a time of origin at 14.88 ± 1.98 My (clade C, Figs. 1 and 2 and Table 3). The monophyly of this subgenus is supported by the following morphological features: stipular spines, but not scattered prickles; pollen grains grouped into 16–32-grained polyads with a columellate exine, and the presence of extrafloral nectaries in their leaves. It seems likely that all these characters were probably acquired only once during the evolution of this taxon. It has been suggested that the New World species of subgenus *Acacia* resulted from a separate radiation from that of Old World species (Guinet and Vassal, 1978; Miller and Bayer, 2003). Our results support this hypothesis and establish two well resolved clades: one containing the New World species and the other the Old World species, with estimated ages of 10.85 ± 2.97 and 12.34 ± 2.25 My, respectively (clades D, G, Figs. 1 and 2 and Table 3). Several authors have attempted to classify species from both lineages into different morphological groups. Although groupings of Old World species have not been convincing (Ross, 1979), species in the New World lineage have been placed into seven different informal groups, all supported by small morphological differences: *A. aculeifera* (Clarke and Seigler, 1991; Clarke et al., 2009); *A. constricta* (Clarke et al., 1990); *A. choriophylla* (Clarke et al., 1989); *A. farnesiana* (Clarke et al., 1989); *A. macracantha* (Seigler and Ebinger, 1988); *A. rigidula* (Lee et al., 1989), and the myrmecophilous *Acacia* species (Janzen, 1974). In the present analysis species of five of these seven informal groups were studied (*A. aculeifera*, *A. constricta*, *A. farnesiana*, *A. macracantha* and myrmecophilous species), and all were supported as monophyletic (Figs. 1 and 2).

The *A. constricta* group was resolved as the basally branching lineage within the American clade (H in Figs. 1 and 2 and Table 3). This is congruent with Miller and Bayer (2001, 2003). Four species representing the *A. farnesiana* group are monophyletic (clade I, Figs. 1 and 2 and Table 3). This group traditionally comprises 11 species, in earlier analyses its members have been also resolved as monophyletic (Clarke et al., 2000; Luckow et al., 2003; Miller and Bayer, 2001). Although more recent analyses in which African species were included and nuclear markers were used, the *A. farnesiana* group has proved to be non-monophyletic (Brown et al., 2008; Miller and Bayer, 2003).

The phylogenetic position of the *A. constricta* and *A. farnesiana* groups suggest that the origin of the subgenus *Acacia* in the New World was in the drylands, which are the predilect habitats of these groups of species. Congruent with this, both groups originated in the Miocene (clades H, I, Figs. 1 and 2 and Table 3). This is supported by the existence of related fossils dated from the middle Miocene to the Pliocene (Graham, 1991), a period in which arid environments increased as a result of global warming (Zachos et al., 2001). Also consistent with the increase in arid environments is the divergence age of the *A. aculeifera* clade (M in Figs. 1 and 2 and Table 3) which includes 12 species, all inhabitants of arid regions in the Caribbean region (Clarke and Seigler, 1991; Clarke et al., 2009). However, only two species of the *A. aculeifera* group were analyzed in this study (*A. anegadensis* and *A. roigii*).

With respect to the *A. macracantha* group, only two species were analyzed by Miller and Bayer (2001, 2003) and three in our study, in both the *A. macracantha* group was resolved as monophyletic. In contrast, Clarke et al. (2000), who included four species of this group, found this group to be non-monophyletic. The resulting divergence age placed the origin of this group in the Pliocene (clade K, Figs. 1 and 2 and Table 3). The habitat preference of all species in the *A. macracantha* group is mesic forests, oak forests, seasonally dry forests, and dry scrub.

The subgenus *Aculeiferum* is pantropical, including 207 species. This group has been found to be non-monophyletic (Clarke et al., 2000; Luckow et al., 2003; Miller and Bayer, 2000, 2003; Miller et al., 2003; Robinson and Harris, 2000; Seigler et al., 2006). The present study is congruent with these findings, where *A. visco* was established as not related to the rest of the species of this subgenus (clades O, T, Figs. 1 and 2 and Table 3). Luckow et al. (2003) proposed three evolutionary lineages within subgenus *Aculeiferum*: *Acacia* subg. *Aculeiferum* s. str., *A.* subg. *Aculeiferum* sect. *Filicinae*, and the *Acacia coulteri* group. Our results resolved that different species of *A.* subg. *Aculeiferum* s. str. lineage positioned in different sub-clades, although the majority of them derived from a node situated at 8.06 ± 2.38 My (clade T, Figs. 1 and 2 and Table 3). The oldest lineage includes *A. berlandieri*, *A. reniformis*, *A. gaumeri*, and *A. picachensis* with an estimated age in the Miocene (clade W, Figs. 1 and 2 and Table 3). These species are inhabitants of dry and seasonally dry forests, similar habitats to those are preferred by the subgenus *Acacia*. This suggests that diversification of *Aculeiferum* s. str. in the New World could correspond with the Middle Miocene drylands of Mexico and Central America (clades O, T, Figs. 1 and 2 and Table 3).

Moreover Seigler et al. (2006) have considered that species of the *A. coulteri* group (13 species) are sufficiently distinct to be formalized into a new genus, *Mariosousa* Seigler and Ebinger. These species are characterized by having spicate inflorescences, lack of prickles and different eophyll sequence during seedling development within the rest of the subgenus *Aculeiferum*. Based on morphological characters, the group was considered as monophyletic by Jawad et al. (2000). In the current study, four of the 13 species were included and these were resolved as paraphyletic (clade U, Figs. 1 and 2 and Table 3).

The section *Filicinae*, which recently was reinstated as *Acaciella* Britton and Rose (1928) by Rico-Arce and Bachman (2006), comprises 15 Neotropical species. This genus has been supported by molecular and morphological analyses. Morphological synapomorphies of *Acaciella* are lack of prickles and spines, lack of extrafloral nectaries, and 8-grained polyads with a particular characteristic tectum (Rico-Arce and Bachman, 2006). The monophyly of *Acaciella* is congruent with earlier studies (Clarke et al., 2000; Luckow et al., 2003; Robinson and Harris, 2000). However in the present study *A. chamelensis*, a species not previously included in any previous molecular analyses, remarkably does not grouped with the other species of the genus *Acaciella*. This species is nested within the clade representing the tribe Ingeae including the subgenus *Phyllodineae* (clade R, Figs. 1 and 2 and Table 3). The other six species of *Acaciella* were found to be monophyletic, with a divergence age in the Pliocene (clade Q, Figs. 1 and 2 and Table 3). *C. houstoniana* var. *anomala* is sister to these six species (clade P, Figs. 1 and 2 and Table 3). Predominantly *Acaciella* species inhabit *Quercus-Pinus* forests and to a lesser extent seasonally dry forests.

The subgenus *Phyllodineae* with c. 1045 species is largely confined to Australia, with fewer than 20 species outside this continent, mainly with a Pacific islands distribution (Lewis et al., 2005; Miller and Bayer, 2003; Vassal, 1972). Previous molecular studies showed that *Phyllodineae* is a monophyletic subgenus, closely related to tribe Ingeae (Ariati et al., 2006; Brown et al., 2006; Miller and Bayer, 2001; Miller et al., 2003; Murphy et al., 2000,

2003; Robinson and Harris, 2000). Our study included 12 species that grouped together and show a close relationship with species of the tribe Ingeae as well as with *Acaciella chamelensis* (clade S, Figs. 1 and 2 and Table 3).

4.4. Systematics and phylogeny of *Pseudomyrmex*

The subfamily Pseudomyrmecinae includes the Paleotropical genus *Tetraponera* with c. 100 species and two Neotropical genera: *Myrcidris* (2 species with scattered distributions in Brazil and Guyana) and *Pseudomyrmex* with ca. 200 species (Ward and Downie, 2005). On previous morphological analysis, *Myrcidris* established sister to the clade formed by *Pseudomyrmex* + *Tetraponera* (Ward, 1991). In contrast, molecular evidence have placed *Tetraponera* as a sister group of *Myrcidris* + *Pseudomyrmex* (Ward and Downie, 2005). This latter hypothesis is congruent with the present study, placing *Tetraponera* species sister group to a clade grouping *Myrcidris* and *Pseudomyrmex* species (Figs. 3 and 4).

Ward and Downie (2005) have emphasized the importance of establishing the divergence age between the Paleotropical and Neotropical lineages of Pseudomyrmecinae. In an earlier study (Ward and Brady, 2003), considering only one species of *Pseudomyrmex* (*P. gracilis*) and one species of *Tetraponera* (*T. rufonigra*) an age of 54 My was estimated for this divergence. This estimated age does not support a role of a Gondwana vicariance. Contrastingly in our analysis, the estimated age of the node representing the separation of the Paleotropical (*Tetraponera*) from the Neotropical genera (*Myrcidris* + *Pseudomyrmex*) is of 95.80 ± 10.82 Ma (clade A', Fig. 4), corresponding to the lower Cretaceous. This age is similar to the divergence age (~100 My) given by Brady (2003) for African and South American soldier ants, and is consistent with the ages proposed by Goldblatt (1993; 84–106 My), McLoughlin (2001; 90–100 My) and particularly by Pitman et al. (1993; 95 My) for the separation of South America from Africa.

Regarding to the nine morphological groups of *Pseudomyrmex* proposed by Ward (1989), seven of them (*P. ferrugineus*, *P. gracilis*, *P. oculatus*, *P. pallidus*, *P. sericeus*, *P. tenuissimus* and *P. tenuis*) were supported by phylogenetic analyses based on morphological and molecular data (Ward and Downie, 2005). However, the *P. viduus* group that was monophyletic on a previous morphological analysis (Ward, 1999) was not so on a more recent molecular analysis (Ward and Downie, 2005). In addition, the *P. pallens* group was unresolved (Ward and Downie, 2005). In contrast to Ward and Downie's (2005) study, in our study the 39 sampled species of c. 200 species of *Pseudomyrmex* established as a monophyletic group (clade C; Figs. 3 and 4), with two basal and well-supported lineages (clades D, F), albeit based on a smaller number of species: clade D comprising a still unassigned species, *P. filiformis* sister to species of the *P. tenuis* group and clade F representing a combination of ant generalists and all ant-plant mutualists, with most of the recognized species groups by Ward (1989; Figs. 3 and 4). Our study did not include morphological characters which could account for the differences between these two lineages. Character 121 from Ward and Downie's study (2005) was argued by these authors to be shared only by species of this basal group of *Pseudomyrmex* (clade D), and we should argue than character 87 based on Ward and Downie (2005) should also need to be examined as a possible synapomorphy. In clade F, only the *P. pallens* and the *P. viduus* groups are found to be non-monophyletic. Within clade F, the *P. ferrugineus* group was found to be monophyletic, and sister to one of the still unassigned species, *P. haytianus* (clade L; Figs. 3 and 4). This relationship was also found by Kautz et al. (2009), and possibly should be taken into consideration in the future delimitation of this group. It is worth mention that Ward (1993) pointed out that males of the *P. ferrugineus* group and *P. haytianus* present similar diagnostic combination of character states. Other

unassigned species in Ward's (1989) informal groups classification such as *P. oki*, here sister taxon of the *P. pallidus* group should be worth of investigating. In addition, interesting to notice is the close relationship among the *P. sericeus* and *P. gracilis* groups (clades I, J; Figs. 3 and 4). *P. gracilis* and *P. nigropilosus* of the latter group have been reported as presenting a parasitic association with Neotropical swollen-thorn acacias (Kautz et al., 2009).

Even though that the sampling in several of the groups analyzed was limited, it is clear the monophyly of subgenus *Acacia* and within the New World that of the myrmecophilous *Acacia* group. In addition, to the monophyly of the genus *Pseudomyrmex* and of the associated acacia–ants *P. ferrugineus* group. The estimated ages of both groups show their fairly recent formation and specialization, and illustrates the possible role of ant–plant mutualism in the divergence and speciation in the obligate–myrmecophilous or swollen-thorn acacias.

Acknowledgments

The authors would like to thank Adriana Otero, Álvaro Campos, Juan Carlos Guajardo, Julio Morales (Herbarium USCG), Laura Trejo, Julieta Rossell, Mark Olson and Nuria Flores for supplying *Acacia* and ant samples. Also to Gabriela Castaño for the ant identifications; Amanda Castillo for computational advice and support of the calibration analyses. We are grateful to Juan Núñez-Farfán for his continuous advice and G.P. Lewis for comments to an early draft of this paper, which is the core of the Doctoral thesis of the first author. The first author thanks the Posgrado en Ciencias Biológicas (Universidad Nacional Autónoma de México) and CONACyT (Grant No. 167194) for financing support. Furthermore we thank funding from the project SEMARNAT–CONACyT (Grant No. 46475).

References

- Abouheif, E., Wray, G.A., 2002. Evolution of the gene network underlying wing polyphenism in ants. *Science* 297, 249–252.
- Althoff, D.M., Segraves, K.A., Leebens-Mack, J., Pellmyr, O., 2006. Patterns of speciation in the *Yucca* moths: parallel species radiations within the *Tegeticula yuccasella* species complex. *Systematic Biology* 55, 398–410.
- Ariati, R.A., Murphy, D.J., Udovicic, F., Ladiges, P.Y., 2006. Molecular phylogeny of three groups of acacias (*Acacia* subgenus *Phyllodineae*) in arid Australia based on the internal and external spacer regions of nrDNA. *Systematics and Biodiversity* 4, 417–426.
- Ayala, F.J., Wetterer, J.K., Longino, J.T., Hartl, D.L., 1996. Molecular phylogeny of *Azteca* ants (Hymenoptera: Formicidae) and the colonization of *Cecropia* trees. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 5, 423–428.
- Baldwin, B.G., Sanderson, M.J., 1998. Age and rate of diversification of the Hawaiian silversword alliance (Compositae). *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 95, 9402–9406.
- Bascompte, J., Jordano, P., Melián, C.J., Olesen, J.M., 2003. The nested assembly of plant–animal mutualistic networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 100, 9383–9387.
- Bowman, D., Yeates, D., 2006. A remarkable moment in Australian biogeography. *New Phytologist* 170, 208–212.
- Brady, S.G., 2003. Evolution of the army ant syndrome: the origin and long-term evolutionary stasis of a complex of behavioural and reproductive adaptations. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 100, 6575–6579.
- Bronstein, J.L., 1994. Our current understanding of mutualism. *Quarterly Review of Biology* 69, 31–51.
- Brouat, C., McKey, D., Douzery, E.J.P., 2004. Differentiation in a geographical mosaic of plants coevolving with ants: phylogeny of the *Leonardoxa africana* complex (Fabaceae: Caesalpinioideae) using amplified fragment length polymorphism markers. *Molecular Ecology* 13, 1157–1171.
- Brown, G.K., Ariati, R.A., Murphy, D.J., Miller, J.Y., Ladiges, P.Y., 2006. Bipinnate acacias (*Acacia* subg. *Phyllodineae* sect. *Botrycephalae*) of eastern Australia are polyphyletic based on DNA sequence data. *Australian Systematic Botany* 19, 315–326.
- Brown, G.K., Murphy, D.J., Miller, J.T., Ladiges, P.Y., 2008. *Acacia* s.s. and its relationship among tropical legumes, tribe Ingeae (Leguminosae: Mimosoideae). *Systematic Botany* 33 (4), 739–751.
- Cardillo, M., 1999. Latitude and rates of diversification in birds and butterflies. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 266, 1221–1225.
- Cardillo, M., Orme, C.D.L., Owens, I.F.P., 2005. Testing for latitudinal bias in diversification rates: an example using new world birds. *Ecology* 86, 2278–2287.
- Chappill, J.A., Maslin, B.R., 1995. A phylogenetic assessment of tribe Acaciae. In: Crisp, M.D., Doyle, J.J. (Eds.), *Advances in Legume Systematics, Part 7*. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 77–99.
- Chenuil, A., McKey, D.B., 1996. Molecular phylogenetic study of a myrmecophyte symbiosis: did *Leonardoxa*/ant associations diversify via cospeciation? *Molecular Phylogenetics and Evolution* 6 (2), 270–286.
- Clarke, H.D., Downie, S.R., Seigler, D.S., 2000. Implications of chloroplast DNA restriction site variation for systematics of *Acacia* (Fabaceae: Mimosoideae). *Systematic Botany* 25, 618–632.
- Clarke, H.D., Seigler, S.D., 1991. The systematics of *Acacia* series *Gummiferae* in the Caribbean. *American Journal of Botany* 78, 173–174.
- Clarke, H.D., Seigler, D.S., Ebinger, J.E., 1989. *Acacia farnesiana* (Fabaceae: Mimosoideae) and related species from Mexico, the southwestern U.S. and the Caribbean. *Systematic Botany* 14, 549–564.
- Clarke, H.D., Seigler, D.S., Ebinger, J.E., 1990. *Acacia constricta* (Fabaceae: Mimosoideae) and related species from the southwestern U.S. and Mexico. *American Journal of Botany* 77 (3), 305–315.
- Clarke, H.D., Seigler, D.S., Ebinger, J.E., 2009. Taxonomic revision of the *Vachellia acutifera* species group (Fabaceae: Mimosoideae) in the Caribbean. *Systematic Botany* 34, 84–101.
- Davidson, D.W., McKey, D., 1993. The evolutionary ecology of symbiotic ant–plant relationships. *Journal of Hymenopteral Research* 2, 18–83.
- Dejean, A., Grangier, J., Leroy, C., Orivel, J., 2009. Predation and aggressiveness in host plant protection: a generalization using ants from the genus *Azteca*. *Naturwissenschaften* 96, 57–63.
- Dlussky, G.M., 1997. Genera of ants (Hymenoptera: Formicidae) from Baltic Amber. *Paleontological Journal* 31, 616–627.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L., 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19, 11–15.
- Feldhaar, H., Fiala, B., Gadau, J., Mohamed, M., Maschwitz, U., 2003. Molecular phylogeny of *Crematogaster* subgenus *Decacrema* ants (Hymenoptera: Formicidae) and the colonization of *Macaranga* (Euphorbiaceae) trees. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 27, 441–452.
- Fischer, R.C., Wanek, W., Ritcher, A., Mayer, V., 2003. Do ants feed plants? A ¹⁵N labeling study of nitrogen fluxes from ants in the mutualism *Pheidole* and *Piper*. *Journal of Ecology* 91, 126–134.
- Gadau, J., Heinze, J., Hölldobler, B., Schmid, M., 1996. Population and colony structure of the carpenter ant *Camponotus floridanus*. *Molecular Ecology* 6, 785–792.
- Gibernau, M., Orivel, J., Dejean, A., Delabie, J., Barabé, D., 2008. Flowering as a key factor in ant–*Philodendron* interactions. *Journal of Tropical Ecology* 24, 689–692.
- Goldblatt, P., 1993. *Biological Relationships Between Africa and South America*. Yale University Press, New Haven, Connecticut. 630 p.
- Good-Avila, S.V., Souza, V., Gaut, B.S., Eguiarte, L.E., 2006. Timing and rate of speciation in *Agave* (Agavaceae). *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 103, 9124–9129.
- Graham, A., 1991. *Studies in Neotropical paleobotany. X. The Pliocene communities of Panama-Composition, numerical representations, and paleocommunity paleoenvironmental reconstructions*. *Annals of Missouri Botanical Gardens* 78, 465–475.
- Grangier, J., Dejean, A., Malé, P.-J.G., Orivel, J., 2008. Indirect defense in a highly specific ant–plant mutualism. *Naturwissenschaften* 95, 909–916.
- Guinet, P., Vassal, J., 1978. Hypotheses on the differentiation of the major groups in the genus *Acacia* (Leguminosae). *Kew Bulletin* 32, 509–527.
- Hall, T.A., 1997. BioEdit: A Biological Sequence Alignment Editor for Windows 95/98/NT. Available from: <<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>>.
- Heil, M., 2008. Indirect defence via tritrophic interactions. *New Phytologist* 178, 41–61.
- Heil, M., McKey, D., 2003. Protective ant–plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 34, 425–453.
- Heil, M., Baumann, B., Krüger, R., Linsenmair, K.E., 2004. Main nutrient compounds in food bodies of Mexican *Acacia* ant–plants. *Chemoecology* 14, 45–52.
- Heil, M., Rattke, J., Boland, W., 2005. Post-secretory hydrolysis of nectar sucrose and specialization in ant–plant mutualism. *Science* 308, 560–563.
- Huelsenbeck, J.P., Ronquist, F.R., 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* 17, 754.
- Hughes, C.E., Eastwood, R., 2006. Island radiation on a continental scale: exceptional rates of plant diversification after uplift of the Andes. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 103, 10334–10339.
- Hunt, T., Bergsten, J., Levkanicova, Z., Papadopoulou, A., John, O.St., Wild, R., Hammond, P.M., Ahrens, D., Balke, M., Caterino, M.S., Gómez-Zurita, J., Ribera, I., Barraclough, T.G., Bocakova, M., Bocak, L., Vogler, A.P., 2007. A comprehensive phylogeny of beetles reveals the evolutionary origins of a super radiation. *Science* 318, 1913–1916.
- Janson, R., Davies, T.J., 2008. Global variation in diversification rates of flowering plants: energy vs. climate change. *Ecology Letters* 11, 173–183.
- Janzen, D.H., 1966. Coevolution of mutualism between ants and acacias in Central America. *Evolution* 20, 249–275.
- Janzen, D.H., 1969. Birds and the Ant × *Acacia* interaction in Central America, with notes on birds and other myrmecophytes. *Condor* 71, 240–256.
- Janzen, D.H., 1974. Swollen-thorn acacias of Central America. *Smithsonian Contributions to Botany* 13, 1–131.
- Jawad, J.T., Seigler, D.S., Ebinger, J.E., 2000. A systematic treatment of *Acacia coulteri* (Fabaceae, Mimosoideae) and similar species in the New World. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 87, 528–548.

- Johnson, K.P., Clayton, D.H., 2004. Untangling coevolutionary history. *Systematic Biology* 53 (1), 92–94.
- Johnson, L.A., Soltis, D.E., 1994. *MatK* DNA sequences and phylogenetic reconstruction of Saxifragaceae s. Str. *Systematic Botany* 19, 143–156.
- Jolivet, P., 1998. Interrelationships Between Insects and Plants. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 309 p.
- Jousselin, E., Rasplus, J.-Y., Kjellberg, F., 2003. Convergence and coevolution in a mutualism: evidence from a molecular phylogeny of *Ficus*. *Evolution* 57, 1255–1269.
- Kato, M., Takimura, A., Kawakita, A., 2003. An obligate pollination mutualism and reciprocal diversification in the tree genus *Glochidion* (Euphorbiaceae). *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 100, 5264–5267.
- Kautz, S., Thorsten Lumbsch, H., Ward, P.S., Heil, M., 2009. How to prevent cheating: a digestive specialization ties mutualistic plant–ants to their ant–plant partners. *Evolution* 63 (4), 839–853.
- Kay, K.M., Reeves, P.A., Olmstead, R.G., Schemske, D.W., 2005. Rapid speciation and the evolution of hummingbird pollination in Neotropical *Costus* subgenus *Costus* (Costaceae): evidence from nrDNA ITS and ETS sequences. *American Journal of Botany* 92 (11), 1899–1910.
- Klacker, C., Reeves, G., Hedderson, T., 2004. Unmatched tempo of evolution in southern African semi-desert ice plants. *Nature* 427, 63–65.
- Lavin, M., Herendeen, P.S., Wojciechowski, M.F., 2005. Evolutionary rates analysis of Leguminosae implicates a rapid diversification of lineages during the Tertiary. *Systematic Biology* 54 (4), 575–594.
- Lee, Y.S., Seigler, S.D., Ebinger, J.E., 1989. *Acacia rigidula* (Fabaceae) and related species in Mexico and Texas. *Systematic Botany* 14, 91–100.
- Lewis, G.P., Schrire, B., Mackinder, B., Lock, M., 2005. Legumes of the World. Royal Botanic Gardens, Kew, 577 p.
- Liebherr, J.K., 1988. Zoogeography of Caribbean Insects. Cornell University Press, Ithaca, 285 p.
- Lubertazzi, D., 2002. The ant (Formicidae) Assemblage of South Africa's *Acacia karroo* Thorns. Entomological Society of America, Ft. Lauderdale, Florida, November 2002. Poster presentation.
- Luckow, M., Miller, J.T., Murphy, D.J., Livshultz, T., 2003. A phylogenetic analysis of the Mimosoideae (Leguminosae) based on chloroplast DNA sequence data. In: Klitgaard, B.B., Bruneau, A. (Eds.), *Advances in Legume Systematics*, Part 10. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 197–200.
- Luckow, M., Hughes, C., Schrire, B., Winter, P., Fagg, C., Fortunato, R., Hurter, J., Rico, L., Breteler, F.J., Bruneau, A., Caccavari, M., Craven, L., Crisp, M., Delgado, S.A., Demissew, S., Doyle, J.J., Grether, R., Harris, S., Herendeen, P.S., Hernández, H.M., Hirsch, A.M., Jobson, R., Klitgaard, B.B., Labat, J.-N., Lock, M., MacKinder, B., Pfeil, B., Simpson, B.B., Smith, G.F., Sousa, M., Timberlake, J., van der Maesen, J.G., Van Wyk, A.E., Vorster, P., Willis, C.K., Wieringa, J.J., Wojciechowski, M.F., 2005. *Acacia*: the case against moving the type to Australia. *Taxon* 54, 513–519.
- Malcomber, S.T., 2002. Phylogeny of *Gaertnera* Lam. (Rubiaceae) based on multiple data markers: evidence of a rapid radiation in a widespread, morphologically diverse genus. *Evolution* 56 (1), 42–57.
- Marshall, D.C., Slon, K., Cooley, J.R., Hill, K.B.R., Simon, C., 2008. Steady Pliocene diversification and a 2-million-years sympatry threshold in a New Zealand cicada radiation. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 48, 1054–1066.
- Maslin, B.R., 2008. Generic and subgeneric names in *Acacia* following retypification of the genus. *Muelleria* 26, 7–9.
- Maslin, B.R., Miller, J.T., Seigler, D.S., 2003. Overview of the generic status of *Acacia* (Leguminosae: Mimosoideae). *Australian Systematic Botany* 16, 1–18.
- McKey, D., Davidson, D.W., 1993. Ant–plant symbioses in Africa and the Neotropics: history, biogeography and diversity. In: Goldblatt, P. (Ed.), *Biological Relationships Between Africa and South America*. Yale University Press, New Haven, Connecticut, USA, pp. 568–606.
- McLoughlin, S., 2001. The breakup history of Gondwana and its impact on pre-Cenozoic provincialism. *Australian Journal of Botany* 49, 271–300.
- Mendelson, T.C., Shaw, K.L., 2005. Rapid speciation in an arthropod. *Nature* 433, 375–376.
- Miller, J.T., Bayer, R.J., 2000. Molecular systematics of the tribe Acaciaeae (Leguminosae: Mimosoideae). In: Herendeen, P.S., Bruneau, A. (Eds.), *Advances in Legume Systematics*, Part 9. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 181–200.
- Miller, J.T., Bayer, R.J., 2001. Molecular phylogenetics of *Acacia* (Fabaceae: Mimosoideae) based on chloroplast *matK* coding sequence and flanking *trnK* intron spacer regions. *American Journal of Botany* 88, 698–706.
- Miller, J.T., Bayer, R.J., 2003. Molecular phylogenetics of *Acacia* subgenera *Acacia* and *Aculeiferum* (Fabaceae: Mimosoideae), based on the chloroplast *matK* coding sequence and flanking *trnK* intron spacer regions. *Australian Systematic Botany* 16, 27–33.
- Miller, J.T., Andrew, R., Bayer, R.J., 2003. Molecular phylogenetics of the Australian acacias of subg. *Phyllodineae* (Fabaceae: Mimosoideae) based on the *trnK* intron. *Australian Journal of Botany* 51, 167–177.
- Moore, A., 2006. Re-typing *Acacia*. *Veld and Flora* 92, 72–73.
- Moore, G., 2007. The handling of the proposal to conserve the name *Acacia* at the 17th International Botanical Congress – an attempt at minority rule. *Bothalia* 37, 109–118.
- Moore, G., 2008. Action on the proposal to conserve the name *Acacia* at the Nomenclature Section of the XVII International Botanical Congress in Vienna: did the eyes have it. *The Linnean* 24 (2), 16–120.
- Moreau, C.S., 2008. Unraveling the evolutionary history of the hyperdiverse ant genus *Pheidole* (Hymenoptera: Formicidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 48, 224–239.
- Moya-Raygoza, G., 2005. Relationships between the ant *Brachymyrmex obscurior* (Hymenoptera, Formicidae) and *Acacia pennatula* (Fabaceae). *Insectes Sociaux* 52 (2), 105–107.
- Murphy, D.J., Miller, J.T., Bayer, R.J., Ladiges, P.Y., 2003. Molecular phylogeny of *Acacia* subgenus *Phyllodineae* (Mimosoideae: Leguminosae) based on DNA sequences of the internal transcribed spacer region. *Australian Systematic Botany* 16, 19–26.
- Murphy, D.J., Udovicic, F., Ladiges, P.Y., 2000. Phylogenetic analysis of Australian *Acacia* (Leguminosae: Mimosoideae) by using sequence variations of an intron and two intergenic spacers of chloroplast DNA. *Australian Systematic Botany* 13, 745–754.
- Murray, D.R., 2004. On the genus *Acacia*. *Australian Systematic Botany Society Newsletter* 119, 6–7.
- Orchard, A.E., Maslin, B.R., 2005. The case for conserving *Acacia* with a new type. *Taxon* 54, 509–512.
- Page, R.D.M., 1994. Parallel phylogenies: reconstructing the history of host parasite assemblages. *Cladistics* 10, 155–173.
- Pedley, L., 2003. A synopsis of *Racosperma* C. Mart. (Leguminosae-Mimosoideae). *Austrobaileya* 6, 445–496.
- Pedley, L., 2004. Another view of *Racosperma*. *Acacia* group. *Newsletter* 90, 3–5.
- Pellmyr, O., 2003. Yuccas, yucca moths and coevolution: a review. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 90, 35–55.
- Pitman, W.C.I., Cande, S., LaBrecque, J., Pindell, J., 1993. Fragmentation of Gondwana: the separation of Africa from South America. In: Goldblatt, P. (Ed.), *Biological Relationships Between Africa and South America*. Yale University Press, New Haven, Connecticut, USA, pp. 202–213.
- Posada, D., Crandall, K.A., 1998. ModelTest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14, 817–818.
- Quek, S.-P., Davies, S.J., Itino, T., Pierce, N.E., 2004. Codiversification in an ant–plant mutualism: stem texture and the evolution of host use in *Crematogaster* (Formicidae: Myrmicinae) inhabitants of *Macaranga* (Euphorbiaceae). *Evolution* 58 (3), 554–570.
- Richardson, J.E., Pennington, R.T., Pennington, T.D., Hollingsworth, P.H., 2001a. Rapid diversification of a species-rich genus of Neotropical rain forest trees. *Science* 293, 2242–2245.
- Richardson, J.E., Weitz, F.M., Fayl, M.F., Cronck, Q.B.C., Linder, H.P., Reeves, G., Chase, M.W., 2001b. Rapid and recent origin of species richness in the Cape flora of South Africa. *Nature* 412, 181–183.
- Rico-Arce, L., 2003. Geographical patterns in Neotropical *Acacia* (Leguminosae: Mimosoideae). *Australian Systematic Botany* 16, 41–48.
- Rico-Arce, M. de L., 2007. A Checklist and Synopsis of American Species of *Acacia* (Leguminosae: Mimosoideae). CONABIO, México, 207 p.
- Rico-Arce, L., Bachman, S., 2006. A taxonomic revision of *Acaciella* (Leguminosae, Mimosoideae). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 63, 189–244.
- Rico-Gray, V., Oliveira, P.S., 2007. *The Ecology and Evolution of Ant–Plant Interactions*. Chicago Press, USA, 320 p.
- Rijkvevorse, P. van, 2004. Duizend *Acacia*-soorten gered. *Bionieuws* 14 (17), 4.
- Rijkvevorse, P. van, 2006. *Acacia*: what did happen at Vienna? *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 63, 107–110.
- Robinson, J., Harris, S.A., 2000. A plastid DNA phylogeny of the genus *Acacia* Miller (Acaciaeae, Leguminosae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 132, 195–222.
- Ross, J.H., 1979. A conspectus of the African *Acacia* species. *Memoirs of the Botanical Survey of South Africa* 44, 55–58.
- Sagers, C.L., Ginger, S.M., Evans, R.D., 2000. Carbon and nitrogen isotopes trace nutrient exchange in an ant–plant mutualism. *Oecologia* 123, 582–586.
- Sanderson, M.J., 2002. Estimating absolute rates of molecular evolution and divergence times: a penalized likelihood approach. *Molecular Biology and Evolution* 19, 101–109.
- Sanderson, M.J., 2003. r8s: inferring absolute rates of evolution and divergence times in the absence of a molecular clock. *Bioinformatics* 19, 301–302.
- Sanderson, M.J., Donoghue, M.J., 1994. Shifts in diversification rate with the origin of angiosperms. *Science* 264, 1590–1593.
- Sanderson, M.J., Wojciechowski, M.F., 1996. Diversification rates in a temperate legume clade: are there “so many species” of *Astragalus* (Fabaceae)? *American Journal of Botany* 83, 1488–1502.
- Seigler, D.S., Ebinger, J.E., 1988. *Acacia macracantha*, *A. pennatula*, and *A. cochliacantha* (Fabaceae: Mimosoideae) species complexes in Mexico. *Systematic Botany* 13, 7–15.
- Seigler, D.S., Ebinger, J.E., Miller, J.T., 2006. *Mariosousa*, a new segregate genus from *Acacia s.l.* (Fabaceae, Mimosoideae) from Central and North America. *Novon* 16, 413–420.
- Smith, G.F., Van Wyk, A.E., Luckow, M., Schrire, B., 2006. Conserving *Acacia* Mill. with a conserved type. What happened in Vienna? *Taxon* 55, 223–225.
- Smith, C.I., Pellmyr, O., Althoff, D.M., Balcázar-Lara, M., Leebens-Mack, J., Segraves, K.A., 2008. Pattern and timing of diversification in *Yucca* (Agavaceae): specialized pollination does not escalate rates of diversification. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 275, 249–258.
- Stapley, L., 1998. The interaction of thorns and symbiotic ants as an effective defence mechanism of swollen-thorn acacias. *Oecologia* 115, 401–405.
- Stebbins, G.L., 1981. Why are there so many species of flowering plants? *BioScience* 31, 573–577.

- Suyama, Y., Yoshimaru, H., Tsumara, Y., 2000. Molecular phylogenetic position of Japanese *Abies* (Pinaceae) based on chloroplast DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 16, 271–277.
- Szilágyi, A., Scheuring, I., Edwards, D.P., Orivel, J., Yu, D.W., 2009. The evolution of intermediate castration virulence and ant coexistence in a spatially structures environment. *Ecology Letters* 12, 1306–1316.
- Taberlet, P., Gielly, L., Patou, G., Bouvet, J., 1991. Universal primers for amplification of three noncoding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology* 17, 1105–1109.
- 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. *Nucleic Acids Research* 22, 4673–4680.
- Thompson, J.N., 1994. *The Coevolutionary Process*. University of Chicago Press, Chicago. p. 387.
- Thompson, J.N., 2005. *The Geographic Mosaic of Coevolution*. University of Chicago Press, Chicago. p. 443.
- Vassal, J., 1972. Apport des recherches ontogéniques et séminologiques a l'étude morphologique, taxonomique et phylogénique du genre *Acacia*. *Bulletin de la Société D'Histoire Naturelle de Toulouse* 108, 125–247.
- Verboom, G.A., Linder, H.P., Stock, W.D., 2003. Phylogenetics of the grass genus *Ehrharta*: evidence for radiation in the summer-arid zone of the South African Cape. *Evolution* 57 (5), 1008–1021.
- Walker, J., Simpson, J., 2003. An alternative view to ICBN Proposal 1584 to conserve the name *Acacia* (Leguminosae: Mimosoideae) with a conserved type. *Newsletter Australian Systematic Botany Society* 117, 17–21.
- Ward, P.S., 1989. Systematic studies on Pseudomyrmecine ants: revision of the *Pseudomyrmex oculatus* and *P. subtilissimus* species groups, with taxonomic comments on other species. *Quaestiones Entomologicae* 25 (4), 393–468.
- Ward, P.S., 1991. Phylogenetic analysis of pseudomyrmecine ants associated with domatia-bearing plants. In: Huxley, C.R., Cutler, D.F. (Eds.), *Ant-Plant Interactions*. Oxford University Press, Oxford, pp. 335–352.
- Ward, P.S., 1992. Ants of the genus *Pseudomyrmex* (Hymenoptera: Formicidae) from Dominican amber, with a synopsis of the extant Antillean species. *Psyche* 99, 55–85.
- Ward, P.S., 1993. Systematic studies on *Pseudomyrmex* acacia-ants (Hymenoptera: Formicidae: Pseudomyrmecinae). *Journal of Hymenopteral Research* 2, 117–168.
- Ward, P.S., 1999. Systematics, biogeography and host plant associations of the *Pseudomyrmex viduus* group (Hymenoptera: Formicidae), *Triplaris*- and *Tachigali*-inhabit ants. *Zoological Journal of the Linnean Society* 126, 451–540.
- Ward, P.S., Brady, S.G., 2003. Phylogeny and biogeography of the ant subfamily Myrmeciinae (Hymenoptera: Formicidae). *Invertebrate Systematics* 17, 361–386.
- Ward, P.S., Downie, D.A., 2005. The ant subfamily Pseudomyrmecinae (Hymenoptera: Formicidae): phylogeny and evolution of big-eyed arboreal ants. *Systematic Entomology* 30, 310–335.
- Weiblen, G.D., Bush, G.L., 2002. Speciation in fig pollinators and parasites. *Molecular Ecology* 11, 1573–1578.
- Whittall, J.B., Hodges, S.A., 2007. Pollinator shifts drive increasingly long nectar spurs in columbine flowers. *Nature* 447, 706–709.
- Young, T.P., Stubblefield, C.H., Isbell, L.A., 1997. Ants on swollen-thorn acacias: species coexistence in a simple system. *Oecologia* 109 (1), 98–107.
- Yule, G.U., 1925. A mathematical theory of evolution, based on the conclusions of Dr. J.C. Willis, F.R.S. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B* 213, 21–87.
- Zachos, J., Pagani, M., Sloan, L., Thomas, E., Billups, K., 2001. Trends, rhythms, and aberrations in global climate 65 Ma to present. *Science* 292, 686–693.