



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

BIOLOGÍA EVOLUTIVA

**DIVERSIFICACIÓN DEL GRUPO BOMBACOIDEAE (MALVACEAE, MALVALES) EN
RELACIÓN CON EL TIPO DE POLINIZADOR**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

REBECA HERNÁNDEZ GUTIÉRREZ

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: Dra. Susana Aurora Magallón Puebla. Instituto de Biología

**COMITÉ TUTOR: Dr. Alfonso Octavio Delgado Salinas. Instituto de Biología
Dr. Luis Enrique Eguiarte Fruns. Instituto de Ecología**

MÉXICO, D.F. NOVIEMBRE, 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

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

Me permito informar a usted que en la reunión del Subcomité por Campo de Conocimiento de Biología Evolutiva y Sistemática del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 25 de agosto de 2014, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna **HERNÁNDEZ GUTIÉRREZ REBECA** con número de cuenta **513014648** con la tesis titulada "**Diversificación del grupo Bombacoideae (Malvaceae, Malvales) en relación con el tipo de polinizador**", realizada bajo la dirección de la **DRA. SUSANA AURORA MAGALLÓN PUEBLA**:

Presidente: DR. GERARDO ADOLFO SALAZAR CHÁVEZ
Vocal: DR. JUAN PABLO JARAMILLO CORREA
Secretario: DR. ALFONSO OCTAVIO DELGADO SALINAS
Suplente: DRA. SONIA VÁZQUEZ SANTANA
Suplente: DRA. JENY SOLANGE SOTUYO VÁZQUEZ

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 9 de octubre de 2014.

M. del Coro Arizmendi
DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA

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

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM.

A CONACyT por otorgarme la beca para Maestría. No. De Registro: 288658.

Al PAPIIT No. de proyecto: IN202310.

Al Instituto de Biología.

Al herbario MEXU por permitirme obtener tejido para extracción de ADN.

Al laboratorio de Sistemática Molecular de Botánica, IB.

Al programa PAEP.

Al herbario Kew, Surrey, R.U., por facilitarnos una muestra de ADN vegetal.

Al herbario del Field Museum de Chicago, Chicago, E.U.A., por facilitarnos tejido del material de herbario.

A los miembros del jurado, Dr. Gerardo Salazar, Dr. Juan Pablo Jaramillo, Dr. Alfonso Delgado, Dra. Sonia Vázquez y Dra. Jeny Solange Sotuyo, por sus comentarios, correcciones y mejoras al escrito de la tesis.

Agradecimientos personales

A Susana, por su toda su disposición, por ser una gran maestra, por darme confianza para hacer un buen trabajo, porque ha sido una excelente tutora y guía.

Al Dr. Luis Eguiarte y al Dr. Alfonso Delgado, por todas sus sugerencias, comentarios y por su disposición para compartir su conocimiento.

A la Dra. Lidia Cabrera, por su gran ayuda en el laboratorio de Sistemática Molecular.

Al Biol. Pedro Tenorio, por su ayuda en la colecta e identificación de bombacoides.

A mis papás, Yuz y Memo, porque siempre están al pendiente de mi y por su apoyo en todas las decisiones que he ido tomando.

A Julia, no solo por obligarme a trabajar, sino por aconsejarme, animarme y estar al pendiente de mi trabajo y avances.

A mis roomies, por su apoyo moral, las risas y la armonía que tenemos en El Palomar.

A Brau por su apoyo en los últimos meses, interés y valoración de mi trabajo.

A mis amigas del laboratorio, Luna, Adriana y Sandra, por su ayuda, animos y comidas juntas.

A mis amigos de aquí y allá, les agradezco profundamente su motivación y cariño y, aún más, por estar al pendiente de lo que pasa con las bombacoides.

A todos, ¡muchísimas gracias!

ÍNDICE

I. RESUMEN.....	6
II. ABSTRACT.....	8
III. INTRODUCCIÓN.....	10
IV. PREGUNTA QUE MOTIVA LA INVESTIGACIÓN.....	25
V. HIPÓTESIS.....	26
VI. OBJETIVOS.....	26
VII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
VIII. RESULTADOS.....	39
1. Muestreo.....	39
2. Extracción, amplificación y secuenciación.....	40
3. Reconstrucción filogenética.....	40
4. Tiempos de divergencia.....	47
5. Tasas de diversificación.....	50
6. Reconstrucción de estados ancestrales de polinización.....	52
7. Asociación entre tasas de diversificación y polinización.....	57
IX. DISCUSIÓN.....	59
Relaciones filogenéticas y sus implicaciones evolutivas.....	59
Tiempos de divergencia y evolución de la polinización.....	65
Diversificación y polinización por murciélagos.....	75
X. CONCLUSIONES.....	81
XI. LITERATURA CITADA.....	83
XII. APÉNDICE.....	98

I. RESUMEN

La gran diversidad de angiospermas en Mesoamérica puede ser entendida a través de los procesos que han promovido su diversificación. Uno de ellos puede ser la alta presión selectiva que ejerce la polinización sobre la evolución de las flores, que finalmente puede llegar a ser fundamental para la especiación. La subfamilia Bombacoideae (Malvaceae) es un clado reconocido en análisis filogenéticos que incluye a los miembros con hojas palmadas de la tradicional familia Bombacaceae. Es un grupo de árboles tropicales con una diversidad floral interesante ya que el androceo ha tenido modificaciones substanciales, y las distintivas modificaciones estructurales y morfológicas probablemente son una respuesta a los polinizadores. Dos tipos principales de organización del androceo se distinguen dentro de Bombacoideae, uno con anteras sésiles, alargadas, a veces convolutas, y el otro con anteras monotecas sobre filamentos libres que conforman una brocha en la mayoría de las bombacoides. La polinización por murciélagos es ampliamente conocida en Bombacoideae; sin embargo hay algunas especies polinizadas por aves, esfíngidos y mariposas. El objetivo de este trabajo es documentar la dinámica de diversificación dentro de Bombacoideae e investigar los efectos que los polinizadores pudieron tener sobre ésta. Se utilizaron secuencias de tres regiones plastídicas (*ndhF*, *trnK-matK* y *trnL-trnF*) y un marcador nuclear (ITS) para estimar las relaciones filogenéticas de Bombacoideae, incluyendo también representantes de Malvoideae y de las otras subfamilias de Malvaceae. Se obtuvo una matriz concatenada con los cuatro marcadores moleculares con longitud de alineamiento de 7,383 pb. Se analizaron 57 especies en total. Se obtuvieron hipótesis filogenéticas a partir de las cuales se estimaron tiempos de divergencia y se condujo un análisis de diversificación para identificar cambios importantes en las tasas. Para Bombacoideae y el grupo externo se obtuvo información sobre polinización de la literatura. Debido a que no existe información

para todas las especies incluidas, se hicieron tres categorías para dar al análisis un rango de error basándose en la certidumbre de la información, siendo (1) los estudios estrictos de polinización, (2) menciones de visitantes e (3) inferencias basadas en el síndrome floral. Posteriormente, se realizó una reconstrucción de estados ancestrales del tipo de polinizador utilizando métodos de máxima verosimilitud e inferencia bayesiana para evaluar si existe una correlación entre los cambios de polinizador y los cambios en la tasa de diversificación. Los resultados confirman que Bombacoideae es un grupo monofilético, caracterizado por las hojas palmaticompuestas. El estado ancestral de polinización en Bombacoideae fue probablemente por murciélagos. Sin embargo, la edad de divergencia estimada del grupo corona de Bombacoideae es de 47.38 Ma, que es más antigua que los estimados independientes que se han hecho para los murciélagos. Hubo una disminución en la tasa de diversificación neta ($r= 0.23$) detectada en el nodo de *Pachira-Eriotheca* que probablemente esté relacionado con la ecología de este grupo. Los resultados mostraron altas tasas de especiación asociada a la polinización por murciélagos.

II. ABSTRACT

The great diversity of angiosperms in the tropics can be understood as the result of macroevolutionary processes that have promoted diversification. One of these processes is the selective pressure that pollinators impose on floral evolution, which may lead to speciation events. Subfamily Bombacoideae (Malvaceae) is a clade recognized by phylogenetic analyses which includes all the members with palmately compound leaves of the former family Bombacaceae. This is a group of tropical trees with an interesting floral diversity for which the androecium has undergone substantial modifications, and where the resulting distinctive structural and morphological attributes are probably a response to pollinators. Within Bombacoideae, two main types of androecium organization are distinguished: one with sessile, elongated, sometimes convoluted anthers; and the other with stalked, monothecate stamens that conform the brush-flower of most bombacoids. Bat pollination is well known in Bombacoideae, although there are also many species pollinated by birds, hawkmoths and butterflies. The aim of this work was to document the diversification dynamics within Bombacoideae, and to investigate the effects that pollinators may have had on it. We used sequence data from three plastid regions (*ndhF*, *trnK-matK* and *trnL-F*) and one nuclear marker (ITS) to estimate the phylogenetic relationships within Bombacoideae, including representatives of Malvoideae and all subfamilies of Malvaceae. With the four molecular markers we obtained a concatenated matrix with alignment length of 7,383 bp. We analyzed 57 species in sum. The phylogenetic hypothesis established in this study was used to estimate the divergence times and conducted a diversification analysis to identify major rate shifts. For Bombacoideae and outgroups, we obtained data of pollinators from the literature. Since there is no data for all the species included here, we made three categories to give our analyses a range of error based on the accuracy of the data: (1) strict pollination

studies, (2) studies that only mention the visitors and (3) inferences based on floral syndrome. We subsequently conducted ancestral state reconstructions of pollinator type implementing maximum likelihood and Bayesian frameworks to evaluate whether there is a correlation between shifts of pollinator and shifts in diversification rates. The results confirm that Bombacoideae is monophyletic, and characterized by palmately compound leaves. The ancestral pollination type for this group is likely to have been by bats. However, the divergence age that we estimated for the crown group of Bombacoideae is 47.38 MYA, which is older than independent divergence age estimates of bats. There was a decrease in net diversification rate ($r = 0.23$) detected in the node of *Pachira-Eriotheca* and this is probably due to the ecology of this genera. Our results show that high rates of speciation were associated to bat pollination.

III. INTRODUCCIÓN

Diversificación

Los patrones de diversidad de las especies han sido moldeados por procesos evolutivos a lo largo del tiempo. La extraordinaria riqueza y diversidad que se observa es el resultado de la dinámica de especiación y extinción que definen el proceso de diversificación de las especies. Específicamente, la diversificación está dada por la diferencia entre las tasas de especiación y extinción (Magallón y Sanderson, 2001). La diversificación de clados actualmente se estudia desde una perspectiva filogenética tomando en cuenta el tiempo de divergencia. Por esta razón, es necesario implementar métodos de reloj molecular (Bromham y Penny, 2003) y tener el estimado del tiempo de evolución con el que se evaluará la tasa a la que las especies se generan y se extinguen. Con esto, se pueden utilizar modelos de diversificación como el modelo de nacimiento-muerte, en el que se incluyen los parámetros de especiación y la extinción (Nee, 2006). De esta manera, se obtienen estimados de la tasa de diversificación que indica el número de especies generadas por unidad de tiempo (por ejemplo, millones de años).

La diversificación de las angiospermas ha estado sujeta a cambios evolutivos moldeados por posibilidades y limitantes genéticas, estructurales, funcionales y ecológicas (Endress, 2011). Para explorar la dinámica de diversificación en angiospermas ha sido necesario juntar la información del registro fósil con la información de árboles filogenéticos basados en secuencias moleculares, teniendo así estudios acerca de los tiempos de divergencia y diversificación de las angiospermas o de clados particulares (por ejemplo, Magallón y Sanderson, 2001; Magallón y Castillo, 2009; Antonelli y Sanmartin, 2011; Escudero et al., 2012; Xi et al., 2012; Hernández-Hernández et al., 2014). Los resultados principales de estos estudios apuntan a que la diversificación de los linajes de angiospermas

está ligada a diferentes factores, caracteres, aspectos ecológicos, distribución geográfica, que pueden aumentar la diversificación o disminuir la extinción (Wilson, 2014). Teniendo en cuenta la información sobre la biología, ecología y geografía de los linajes, junto con las hipótesis filogenéticas y tiempos de divergencia, se pueden conocer las causas del surgimiento de eventos de especiación (Barracough y Nee, 2001). En los últimos años se han desarrollado modelos, métodos y herramientas para esclarecer los patrones macroevolutivos que han originado la diversidad de especies a lo largo del tiempo y del espacio para contestar preguntas asociadas a la evolución de caracteres, la correlación entre ellos, la colonización de nuevos territorios, los cambios geológicos y climáticos, o los efectos de interacciones y procesos ecológicos (O'Meara, 2012).

Sobre la diversificación de las angiospermas, se ha observado que no hay una tasa homogénea de diversificación, sino que en varios clados existen cambios en dicha tasa, cambios que podrían estar relacionados una gran variedad de adaptaciones diferentes han sido sugeridos como conductores de diversificación o correlacionados con alta riqueza de especies (Magallón y Castillo, 2009). Por ejemplo, la polinización biótica, la forma de vida herbácea (Eriksson y Bremer, 1992), la simetría floral (Sargent, 2004) y la colonización de nuevos hábitats (Moore y Donoghue, 2007).

Bawa (1992) propone que los sistemas reproductivos y de polinización son promotores importantes en el surgimiento de eventos de especiación. Los estudios en los que se ha rastreado la evolución de caracteres florales usando filogenias de grupos particulares sugieren que los cambios a diferentes polinizadores han sido importantes para aumentar la diversificación (Johnson y Anderson, 2010). Por ejemplo, la orquídea africana *Disa draconis* ha evolucionado debido a cambios de polinizadores (Johnson y Steiner, 1997), al igual que las especies de *Gladiolus* (Iridaceae) (Valente et al., 2012).

Polinización

Para los sistemas reproductivos de angiospermas, un factor determinante es la polinización por vectores bióticos, debido a que promueven la polinización cruzada (polinización entre diferentes organismos) (Sargent, 2004). Dicho sistema de fertilización favorece el movimiento de genes, con lo cual se determina la diversidad genética dentro y entre poblaciones y finalmente, la dinámica evolutiva de los grupos de angiospermas que se reproducen de esta manera (Barret, 2003). El resultado de la necesidad de las angiospermas de asegurar el éxito reproductivo, ha dado lugar a numerosas adaptaciones florales asociadas a diferentes tipos de agentes polinizadores para la dispersión de polen entre plantas (Barret, 2003).

Se entiende al polinizador como el agente de selección natural que puede promover la diversidad de formas florales y así finalmente la diversificación (Stebbins, 1970; Fenster et al., 2004). Existen diferentes tipos de polinizadores, cada uno con una manera particular de polinizar las plantas y de obtener el recurso que las flores ofrecen. Por lo tanto, polinizadores similares compartidos por especies de plantas diferentes pueden conducir a la convergencia de los caracteres florales (Fenster et al., 2004). Estas convergencias han hecho que se reconozcan los síndromes de polinización, que son la integración de caracteres asociados a un tipo de polinizador particular (Faegri y van der Pijl, 1979). Entre los caracteres que se pueden incluir en el síndrome de polinización, está el tamaño de la flor, el color del perianto y órganos reproductivos, el olor, la forma y la orientación de la flor, así como los recursos que ofrecen, por ejemplo, polen y/o néctar. La antésis y la fenología también determinan el síndrome de polinización, ya que los diferentes tipos de polinizadores tienen tiempos de actividad de forrajeo particulares (Faegri y van der Pijl, 1979). Los grupos funcionales de polinización están formados por organismos del mismo tipo, por ejemplo, las abejas forman un grupo funcional porque todos los tipos de abejas, generalmente, polinizan flores con

características similares. Otros grupos funcionales son los murciélagos, esfíngidos, mariposas, aves (Fenster et al., 2004).

La polinización por diferentes tipos de abejas está muy extendida en las angiospermas, tanto que se han reportado correlaciones entre las edades de clados de abejas y los de algunos grupos de angiospermas (Cardinal y Danforth, 2013). Existe un amplio rango de tipos de flores visitadas por abejas, las cuales se alimentan de néctar y polen. Algunas flores especializadas tienen como recompensa aceites y resinas que son colectados por algunos grupos de abeja (Endress, 1994). En general, las abejas tienden a visitar flores de color amarillo, azul, púpura o ultravioleta, en forma tubular o campanulada, pero también flores zigomórficas (Endress, 1994; Proctor et al., 1999). Algunas flores visitadas sólo por abejas tienen como recompensa únicamente el polen. Existen también, flores con polinización por vibración (*buzz pollination*), que es una adaptación para la polinización por abeja que vibran (Proctor et al., 1996). La antésis de las “flores de abeja” es diurna, temprano en la mañana (Endress, 1994).

En contraste, la polinización por esfíngidos es nocturna y se alimentan de néctar en la fase de adultos. Las flores que polinizan usualmente son alargadas, formadas por un perianto tubular, de color claro y, usualmente, producen fragancias en la antésis, y las anteras y estilo se proyectan hacia el exterior de la corola (Proctor, et al., 1999) o están organizados en forma de brocha (Oliveira et al., 2004). Esta conformación de la flor es similar a la de las “flores de murciélago”; sin embargo, tienen diferencias interesantes. Por ejemplo, las flores polinizadas por esfíngidos duran alrededor de tres días; mientras que las flores polinizadas por murciélagos generalmente duran una sola noche (MacFarlane et al., 2003).

La polinización por aves es muy característica, pues se presenta generalmente en flores con antésis diurna, forma de tubo con coloración rojiza (aunque también puede ser en

forma de brocha o inflorescencia en capítulo), que no tienen olor y cuya posición es horizontal, por ejemplo en la polinización por colibrí, que se revolotean durante el forrajeo, o hay perchas que conducen a las inflorescencias (Proctor et al., 1999; Cronk y Ojeda, 2008). Los estambres suelen ser rígidos o estar unidos y el ovario está protegido (Proctor et al., 1999). En particular, las flores polinizadas por aves percheras tienden a producir grandes cantidades de néctar con bajas concentraciones de azúcares (Rocca y Sazima, 2008).

En cambio, las características clásicas de las flores que son polinizadas por murciélagos son la antesis nocturna, la coloración verde o blanca, el olor rancio, las flores localizadas en las ramas, caulifloras, o suspendidas en largos tallos; con forma tubular o como embudo; frecuentemente con el androceo en forma de cepillo o brocha, que produce grandes cantidades de néctar rico en glucosa y sucrosa (Fleming y Muchhala, 2008). Además de néctar, los murciélagos se alimentan del polen y partes florales, como brácteas y estambres (Proctor et al., 1999). Usualmente, las plantas polinizadas por murciélagos son árboles, pero algunas veces son arbustos o hieras trepadoras, y este tipo de polinización es exclusivamente tropical (Endress, 1994).

Existen, además, casos de polinización por mamíferos no voladores, por ejemplo, marsupiales, roedores, monos o lemures. Se ha mencionado que un posible síndrome floral para las plantas polinizadas por estos mamíferos reúne flores o inflorescencias grandes, con estructuras florales firmes, pedicelos robustos, colores claros, néctar abundante y concentrado, rico en sucrosa y olor parecido al de las “flores de murciélago” (Proctor et al., 1999; Endress, 1994).

En general, se pueden reconocer los mencionados síndromes de polinización en las angiospermas, pero existen muchas especies que combinan características correspondientes

a diferentes síndromes, lo cual se presenta, regularmente, en las especies generalistas (polinizadas por más de un grupo funcional de polinizador) (Fenster et al., 2004).

La hipótesis de que la polinización dirige a la especiación consiste en que la especialización floral para diferentes polinizadores crea una barrera reproductiva entre las poblaciones y, por consiguiente, aumenta directamente la especiación (Grant, 1994). Sin embargo, se han evaluado los modelos en los que la polinización puede afectar a la diversificación a partir de la especialización a un tipo particular de polinizador; esto es, la combinación de caracteres que incrementen la eficiencia de un polinizador (Armbruster et al., 2014). En algunos de esos modelos, la especialización puede contribuir a la riqueza de especies. Uno de ellos es en el que se crea un aislamiento reproductivo por la especialización a un tipo particular de polinizador y por lo tanto hay especiación. Otro modelo es en el que haya un alto grado de especialización a un polinizador, de manera que se reduzcan las poblaciones e incluso puede llevar a la extinción de ese linaje debido a fluctuaciones en la abundancia del polinizador. El último modelo es en el que ocurre un desplazamiento de caracteres. En este escenario, ocurre especiación derivada de la variación de caracteres relacionados con la especialización mediante la competencia de varias especies por el polinizador, y donde dicha variación en caracteres o características puede contribuir al aislamiento reproductivo (por ejemplo, floración escalonada). Este último modelo parece estar relacionado con especies con grados bajos de especialización (Armbruster y Muchhala, 2009).

Bombacoideae

La familia Malvaceae *sensu lato* es un clado que incluye cuatro familias anteriormente tratadas independientemente: Sterculiaceae, Tiliaceae, Bombacaceae y Malvaceae (Judd y

Manchester, 1997). La componen alrededor de 4,300 especies distribuidas en 243 géneros (Kubitzki y Bayer, 2003). Si se considera a toda la familia, no se han detectado patrones de distribución o ecológicos claros. Malvaceae está presente en todos los continentes y predomina en las regiones más cálidas. Sus especies representan varias formas de vida terrestre, desde altos árboles selváticos hasta malezas anuales (Bayer y Kubitzki, 2003). Se han distinguido tres caracteres presentes en la mayoría de las especies de Malvaceae s.l.: la especialización en las inflorescencias de unidades bicolor (Bayer, 1999), las células en arreglo de teja (*tile cells*) en el xilema (Alverson et al., 1999), y los nectarios florales formados por tricomas glandulares acomodados a manera de cojinetes en los sépalos (Vogel, 2000); este último atributo es el carácter sinapomórfico de Malvaceae s.l. Estudios taxonómicos de Malvaceae a partir de trabajos morfológicos y moleculares (Judd y Manchester, 1997; Alverson et al., 1998, 1999; Bayer, 1999; Baum et al., 2004; Nyffeler y Baum, 2000; Nyffeler et al., 2005) han aclarado las relaciones de la familia, coincidiendo en que la tradicional familia Bombacaceae no tiene caracteres que apoyen su circunscripción como familia separada de las demás, sino como parte de Malvaceae s. l. También se observó la misma situación para Sterculiaceae y Tiliaceae. Judd y Manchester (1997) mencionan que en la mayoría de las clasificaciones realizadas de Malvales, siempre hay un complejo de familias que forman el grupo medular del orden, llamado *Core Malvales*; dichas familias son Malvaceae, Bombacaceae, Sterculiaceae y Tiliaceae. Malvaceae s. l. incluye nueve subfamilias: Sterculioideae, Tilioideae, Helicteroideae, Dombeyoideae, Brownlowioideae, Byttnerioideae, Grewioideae, Malvoideae (la originalmente descrita Malvaceae s. s.) y Bombacoideae (Judd y Manchester, 1997; Bayer et al., 1999; Alverson et al., 1999; Vogel, 2000).

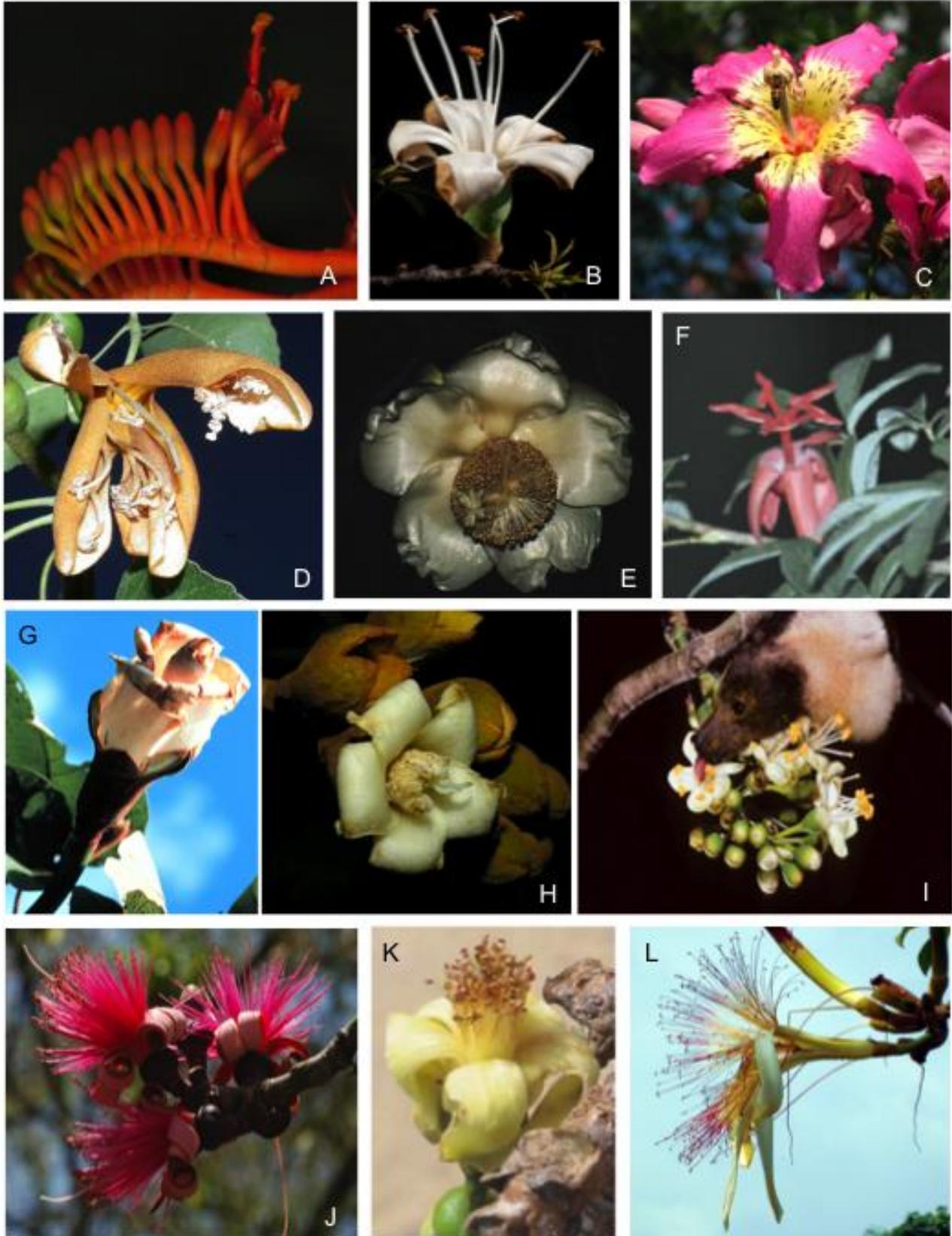
Existen dos clados que se distinguen dentro de la familia, Byttneriina y Malvadendrina, fuertemente apoyados por los datos moleculares (Bayer et al., 1999; Alverson et al., 1999). Byttneriina incluye a las subfamilias Grewioideae y Byttneroideae. Malvadendrina incluye al resto de las subfamilias y un caracter predominante en el grupo es el cáliz fusionado en forma de tubo lobado, excepto Tilioideae y Dombeyoideae que tienen cálices fusionados sólo en la base (Alverson et al., 1999).

La subfamilia Bombacoideae es pantropical y está conformada por 17 géneros y 159 especies de árboles. En el Nuevo Mundo, se extiende desde México hasta Argentina. Los representantes exclusivos del Viejo Mundo son tres géneros, *Rhodognaphalon*, en África; *Bombax*, en África y Asia; y *Adansonia* (los baobabs), que tiene una distribución particular, pues las especies se encuentran en África continental, Madagascar y una especie en Australia (Baum, 1995; Baum et al., 1998). Bombacoideae es un grupo monofilético fuertemente apoyado por datos moleculares, que morfológicamente se distingue por su hábito arbóreo, frutos capsulares (en *Cavanillesia* es sámara), y por su atributo sinapomórfico que son las hojas palmaticompuestas; las cuales están presentes en todos los géneros. El género *Catostemma* tiene hojas unifolioladas y la excepción es el género *Cavanillesia*, que tiene hojas simples (Alverson et al., 1999; Baum et al., 2004; Duarte et al., 2011).

Las bombacoides, en general, tienen flores pentámeras, con simetría radial y son hermafroditas (Lámina 1). El cáliz es campanulado o tubular. La corola tiene pétalos alargados y oblongos. El androceo está compuesto por muchos estambres, a veces más de mil (*Adansonia* y *Pseudobombax*); otras veces está formado por un largo tubo estaminal con las anteras adheridas en el ápice (*Ceiba speciosa*) (Gibbs y Semir, 2003). La configuración del androceo es una de las características más interesantes de este grupo ya que se ha propuesto que la variación en su conformación está relacionada con la polinización. Las

anteras son monotecas, biesporangiadas (Fig. 1-B). En los géneros de temprana divergencia, *Huberodendron*, *Gyanthera* y *Bernoullia*, se presentan muchas anteras alargadas y sésiles, esto es, las anteras están adheridas al tubo estaminal desde el receptáculo (*Bernoullia* tiene un tubo estaminal alargado). En el resto de los géneros el androceo está formado por anteras pequeñas en el ápice de filamentos libres (Bayer y Kubitzki, 2003).

Lámina 1 (Siguiendo página). Diversidad floral de Bombacoideae y grupos relacionados. A: *Bernoullia flammea* (FLAAR Reports); B: *Ceiba aesculifolia* (Pedro Tenorio); C: *C. speciosa* (Mauroguarandi); D: *Neobuchia paulinae* (Jackeline Salazar); E; *Adansonia digitata* (David Baum); F: *Spirotheca rivieri* (Rocca & Sazima); G: *Ochroma pyramidale* (R.B. Foster & T.S. Wachter); H: *Huberodendron allenii* (Reinaldo Aguilar); I: *C. pentandra*, *Pteropus marianus* – Chiroptera- (Merlin D. Tuttle); J: *Pseudobombax ellipticum* (Lidia Cabrera); K: *Eriotheca* sp. (Carvalho-Sobrinho); L: *Pachira aquatica* (RHG).



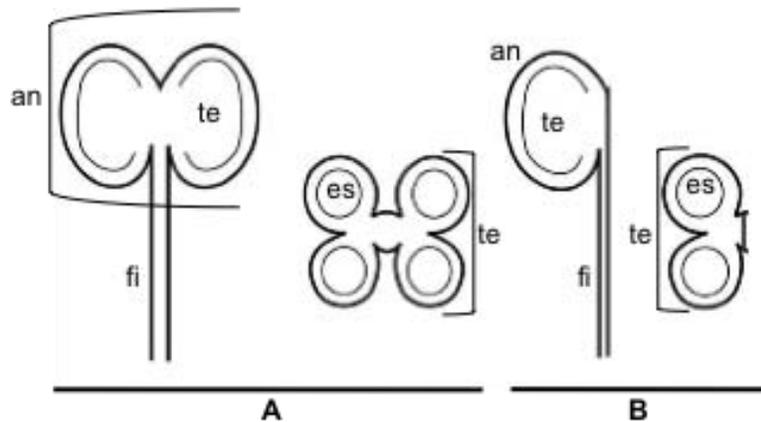


Fig. 1. Esquema de la forma de los estambres. A) Anteras bitecas tetraesporangiadas. B) Anteras monotecas biesporangiadas. an: antera; es: microesporangio; fi: filamento; te: teca. Modificado de Endress (2011).

En todos los géneros el ovario es súpero, con cinco carpelos y varía el número de óvulos. El fruto es una cápsula, generalmente dehiscente, excepto el fruto de *Cavanillesia* que es una cápsula samaróide indehiscente y alada. Las semillas están rodeadas de una fibra algodonosa, conocida como “kapok”, que proviene del endocarpo (excepto en *Cavanillesia*, *Catostemma* y *Scleronema*) (Bayer y Kubitzki, 2003).

Las bombaoides tienen sistema reproductivo autoincompatible, en las especies estudiadas se ha observado autincompatibilidad tardía, esto es, que el tubo polínico de la misma planta puede crecer pero no llega a fertilizar el óvulo (Quesada et al., 2004). Destacan algunas especies en donde se ha descrito un sistema mixto reproductivo, como *Pachira quinata* (Fuchs et al., 2003), *Ceiba pentandra* (Quesada et al., 2004; Lobo et al., 2005) y *Cavanillesia platanifolia* (Murawski y Hamrick, 1992).

Tradicionalmente, los miembros de esta subfamilia formaban parte de la familia Bombacaceae, pero basándose en su morfología y en datos moleculares, Bombacoideae y

Malvoideae forman un clado denominado Malvatheca, que morfológicamente está apoyado por las anteras monotecas biesporangiadas (Judd y Manchester, 1997; Baum et al., 1998; Alverson et al., 1999). Sin embargo, no todos los miembros del grupo presentan dicha estructuración y estudios de desarrollo floral aclararon que el carácter surgió en las dos subfamilias de manera independiente (von Baltahazar et al., 2004, 2006; Janka et al., 2008).

A pesar de la falta de resolución entre las relaciones de la familia, el grupo Malvatheca, constituido por Malvoideae y Bombacoideae es monofilético en todos los estudios previos. En la Figura 2 se muestran los resultados del estudio de Alverson et al. (1999) sobre las relaciones filogenéticas de Malvaceae *s.l.*

Los géneros *Ochroma* y *Patinoa* antes estaban incluidos como parte de Bombacaceae, posteriormente quedaron dentro de Bombacoideae (Bayer y Kubitzki, 2003); su posición taxonómica no está resuelta (Fig. 2), pues dichos géneros constituyen un grupo fuera de Bombacoideae y Malvoideae (Alverson et al., 1999; Baum et al., 2004; Duarte et al., 2011). Los géneros *Quararibea* y *Matisia* han tenido una situación similar, y su actual clasificación es dentro de Malvoideae, formando la tribu Matisieae, que es hermana al resto de las especies que forman el grupo medular de Malvoideae, llamado *Core Malvoideae* (Alverson et al., 1999; Baum et al., 2004). En el estudio de Baum (2004) se menciona que *Septotheca* y *Uladendron* no se han estudiado previamente y no se pueden asignar ni a Malvoideae ni a Bombacoideae con base en la morfología.

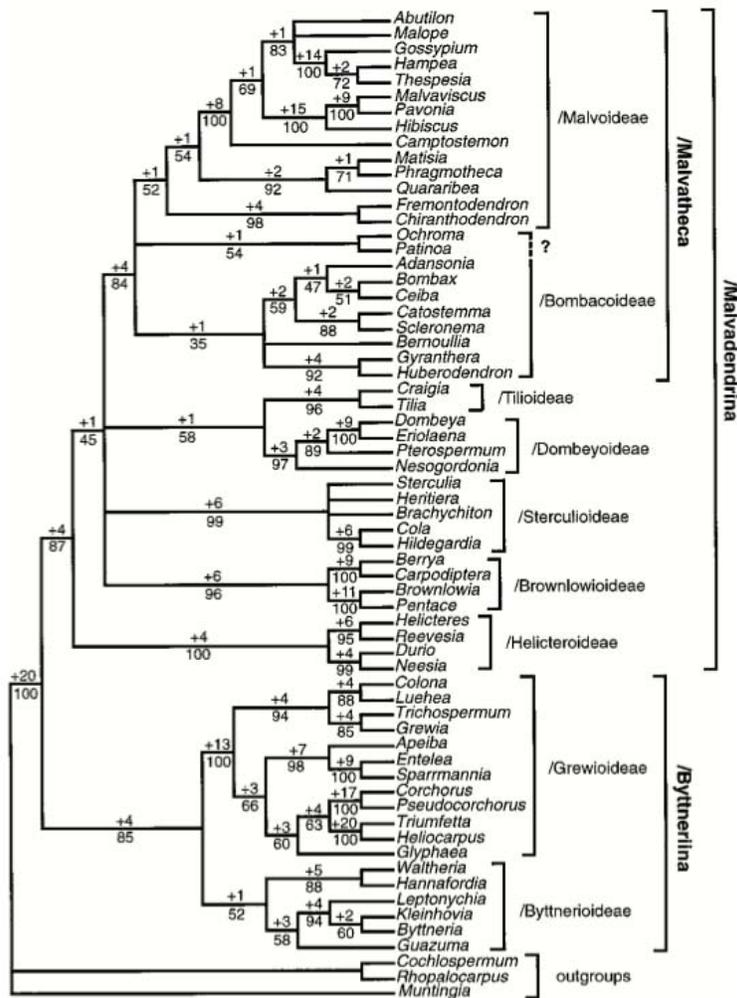


Fig. 2. Relaciones filogenéticas de Malvaceae s.l. Reproducido de Alverson et al., 1999.

El estudio más reciente de análisis filogenéticos de Bombacoideae es el de Duarte et al. (2011), en el que estudia las relaciones de *Eriotheca* y sus géneros aliados. La Figura 3 es un cladograma simplificado que representa parte de los resultados filogenéticos de ese estudio y una representación de los dos tipos de configuración del androceo en Bombacoideae, las anteras sésiles y las anteras sobre filamentos.

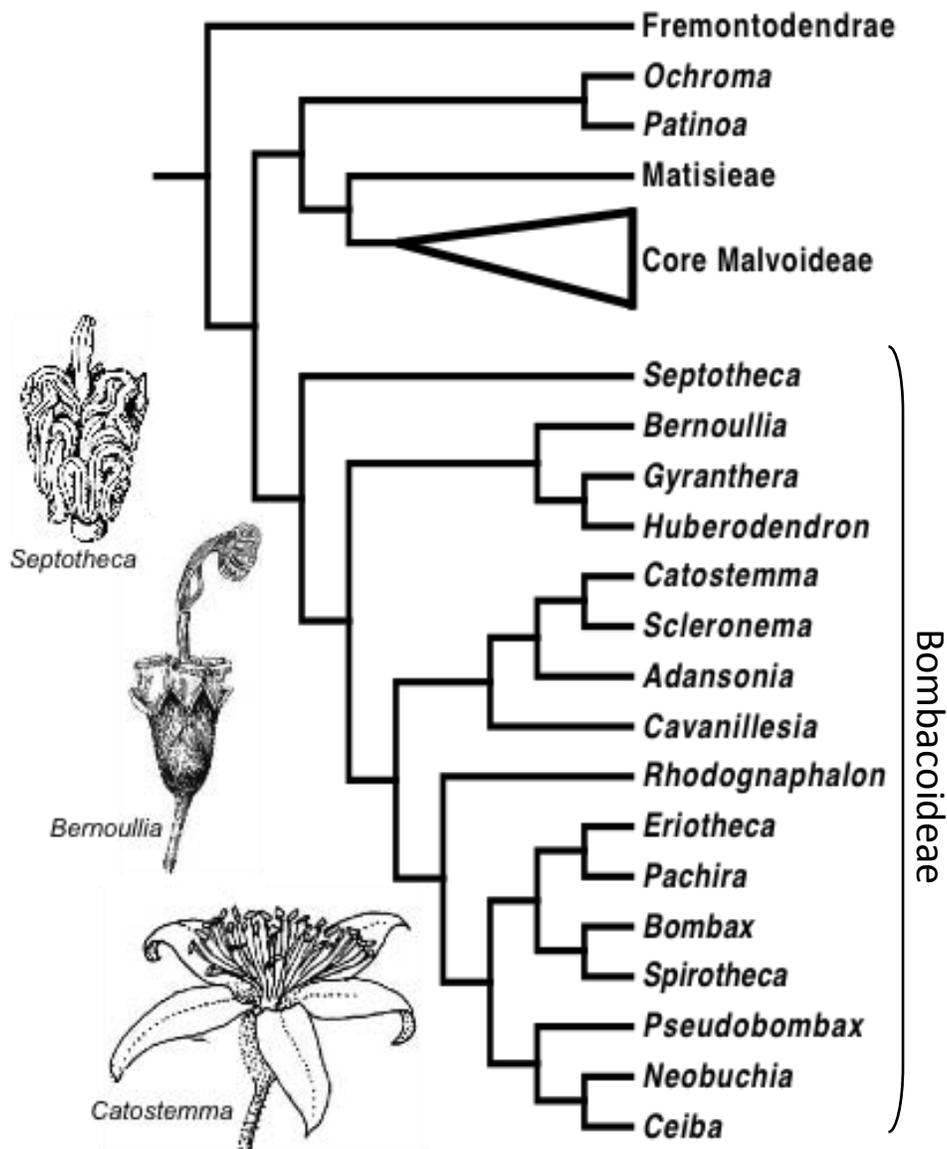


Fig. 3. Relaciones filogenéticas entre Bombacoideae y grupos hermanos. Modificado de Duarte et al., 2011. Anteras sésiles (*Septotheca* y *Bernoullia*). Anteras con filamentos (*Catostemma*). Ilustraciones de Pennington et al., 2004 y Avendaño, 1998.

La polinización por murciélagos es muy conocida en las bombacoides; sin embargo, existen géneros y especies con otros polinizadores, como abejas, aves y lepidópteros. En algunas especies incluso existe más de un tipo de polinizador. Por ejemplo, especies de *Adansonia* son polinizadas por murciélagos en la noche y por aves en las mañanas (Baum,

1995); lo mismo ocurre en *Pseudobombax ellipticum*, en donde además de las aves, las abejas llegan en la mañana a la flor aún abierta (Eguiarte et al., 1987). Un caso particular es el de la especie pantropical *Ceiba pentandra*, que es visitada en el Nuevo Mundo por marsupiales, monos, aves, abejas y murciélagos, mientras que en el Viejo Mundo, sus polinizadores son murciélagos (Baker et al., 1971; Toledo, 1977; Janson et al., 1981; Quesada et al., 2004). No obstante, algunos autores proponen que en el Neotrópico los murciélagos son los polinizadores efectivos (Quesada et al., 2004; Lobo et al., 2005).

A pesar de que exista un traslape de polinizadores, hay géneros o especies en donde un sólo grupo funcional de polinizador es conocido. Por ejemplo, las especies del género amazónico *Spirotheca*, con todas las estructuras de la flor color anaranjado, son polinizadas por aves (Rocca y Sazima, 2008; 2010). La especie *Bernoullia flammea* también es polinizada por aves en la selva alta mexicana; dicha especie tiene inflorescencias escorpioideas y desde el pedicelo se extiende un color anaranjado intenso y del perianto en forma de copa sobresale el androceo inclinado hacia el interior de la percha (Toledo, 1977; Rocca y Sazima, 2010). Por otro lado, hay especies de *Eriotheca* cuyas flores son más pequeñas que las del resto de las bombacoides y carecen de nectarios; dichas especies son polinizadas únicamente por abejas. Este tipo de polinización es la excepción en las bombacoides (Oliveira et al., 1992). Este mismo género también contiene especies polinizadas por esfíngidos, como *E. longitubulosa*, en las que el androceo está formado por un largo tubo estaminal con filamentos libres hasta el ápice (Oliveira et al., 1992).

Por otro lado, hay géneros como *Ceiba* y *Adansonia* en donde hay una gran diversidad de formas florales dada por diferentes polinizadores. Así, muchas especies de *Ceiba* tienen anthesis nocturna para las que se conoce la polinización por murciélago, mientras que en otras especies sólo se han hecho suposiciones. También hay especies de *Ceiba* con

polinización por mariposas y esfíngidos, en las que además de tener un tubo estaminal largo y las anteras fusionadas completamente a él, tienen apéndices estaminales que, se sugiere, sirven para restringir el acceso al néctar, y que están ausentes en especies polinizadas por murciélagos (Gibbs y Semir, 2003). Respecto a *Adansonia*, de acuerdo al estudio que realizó Baum (1995) sobre la polinización en los baobabs, algunas especies son polinizadas por esfíngidos o por murciélagos. La diferencia está relacionada con el largo del tubo estaminal, teniendo tubos cortos las especies polinizadas por murciélagos, y tubos largos las especies polinizadas por esfíngidos.

La característica flor en forma de brocha de las bombacoideas se considera como una adaptación a la polinización por murciélago (Faegri y van der Pijl, 1979). A pesar de que este tipo de flor sea característico de las “flores de murciélago”, hay otro arreglo interesante que presentan *Durio zibethinus* y *Ceiba pentandra*, que es una inflorescencia masiva de flores que forman una unidad de atracción para los polinizadores, principalmente murciélagos (Bumrungsri et al., 2008). De acuerdo a lo mencionado por Carvalho-Sobrinho y Queiroz (2011), todas las tendencias de Malvales tuvieron que estar relacionadas con un cambio en polinización hacia murciélago, dejando abierta la pregunta de en qué momento de la historia evolutiva del grupo surgieron dichas modificaciones o tendencias, y si estas adaptaciones generaron diversificación.

IV. PREGUNTA QUE MOTIVA LA INVESTIGACIÓN

Partiendo de los antecedentes antes mencionados y observando los patrones filogenéticos, geográficos y florales de Bombacoideae, en este trabajo se buscó contestar cuál ha sido la dinámica de diversificación a lo largo del tiempo en la subfamilia y si la polinización ha tenido un efecto sobre esta dinámica y de qué manera ha moldeado la evolución del grupo.

V. HIPÓTESIS

La diversificación en Bombacoideae ha sido dirigida por la polinización. Particularmente, la polinización por murciélago que ha tenido un efecto sobre el aumento de la tasa de especiación.

VI. OBJETIVOS

1. Estimar las relaciones filogenéticas entre los géneros de Bombacoideae.
2. Estimar los tiempos de divergencia y las tasas de diversificación dentro de este clado e identificar si hay cambios significativos en la tasa de diversificación y en qué ramas del árbol ocurren.
3. Evaluar el efecto del cambio de tipo de polinizador sobre el cambio en las tasas de diversificación.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Muestreo.

Se realizó el análisis con 57 especies que representan a todos los géneros de Bombacoideae (excepto *Aguilaria*, debido a que no se consiguió tejido) y algunas que representan linajes de Malvoideae y grupos externos pertenecientes a Malvatheca. Para los análisis moleculares se obtuvieron secuencias de tres regiones de ADN de cloroplasto, *ndhF*, *trnK-matK*, *trnL-F*, y la región de los espaciadores internos transcritos (ITS) del ADN ribosomal. La mayoría (86%) de las secuencias fueron obtenidas de GenBank y las restantes se obtuvieron a partir de muestras de colecta en campo y material de herbario. En el Apéndice 1 se anexan números de acceso del GenBank e información de los ejemplares de respaldo del material obtenido en herbario. De las especies colectadas en campo se tomó una muestra de hoja y se deshidrató

en sílica gel. Las especies que se obtuvieron de herbario fueron directamente procesadas para la extracción de ADN.

2. Extracción y amplificación.

La extracción de ADN se llevó a cabo con el “DNeasy Plant Mini Kit” de Qiagen siguiendo el protocolo del proveedor. La amplificación se realizó mediante la reacción en cadena de la polimerasa utilizando los oligonucleótidos descritos en estudios previos (Cuadro 1). Se utilizó el “Taq PCR Core Kit” de Qiagen, siguiendo las especificaciones del proveedor y con un volumen final de reacción de 25 μ l y una concentración de $MgCl_2$ de 2.5 μ l y 1 μ l de ADN. Las condiciones que se utilizaron para amplificar fueron las siguientes: 94°C durante 5 minutos para la desnaturalización; 30 ciclos de 94°C por 45 segundos, 55°C por un minuto y 72°C por un minuto y 30 segundos; para la extensión final 72°C durante cinco minutos. Para comprobar si la reacción amplificó los fragmentos esperados, se realizó electroforesis con gel de agarosa al 1% teñido con Red Gel, tomando 2 μ l del producto de PCR y comparando los productos de la amplificación con 1 μ l de marcador de peso molecular en escala de 100 pb.

Para la secuenciación Sanger se utilizaron los primers de amplificación. Los productos de PCR fueron enviados para su secuenciación a la “University of Washington’s High Throughput Genomics Unit” y al laboratorio de Secuenciación Genómica de la Biodiversidad y la Salud del Instituto de Biología de la UNAM.

Cuadro 1. Marcadores moleculares y oligonucleótidos para amplificación.

Región	Primer Forward	Primer Reverse	Longitud (pares de bases)	Referencia
ITS	ITS Leu	ITS 2	787	Baum, 1998.
	ITS 3	ITS 4		
<i>trnK-matK</i>	trnK-3914F	matK-p6R	2755	Nyffeler et al., 2005
	matK-4F	matK-2R		
<i>trnL-F</i>	TabC	TabD	1375	Duarte et al., 2011; Taberlet et al., 1991.
	TabE	TabF		
<i>ndhF</i>	536F 972F 1603F	1603R 10R 13R	2156	Alverson et al., 1999; Olmstead y Sweere, 1994.

Las secuencias obtenidas fueron ensambladas y editadas con Sequencher v. 4.8, verificando que tuvieran una calidad mayor al 80%; de lo contrario fueron descartadas. Posteriormente se alinearon manualmente las secuencias de cloroplasto (*trnK-matK*, *trnL-F* y *ndhF*) con el programa MacClade v. 4.08 (Maddison y Maddison, 2005), mientras que para alinear las secuencias de ITS, se utilizó el programa ClustalW v.2.1 (Larkin et al., 2007) a través del programa Mesquite v. 2.74 (Maddison y Maddison, 2010); posteriormente se hizo una revisión del alineamiento resultante y corrección manual en MacClade. Se generaron 33 secuencias nuevas, 17 de Bombacoideae y 16 de malváceas utilizadas como grupo externo (Cuadro 2).

Igualmente, las secuencias de ITS de *Sterculia apetala* y *Guazuma ulmifolia* se excluyeron del alineamiento debido a que en análisis filogenéticos preliminares, se agrupaban juntas, dentro de Malvoideae y con muy bajo apoyo (PP<0.4), por lo que se supone que es un error de las secuencias, ya que la muestra de hoja fue obtenida de material de herbario y la calidad de las secuencias fue baja (< %50 de calidad).

Cuadro 2. Secuencias generadas en este estudio.

Subfamilia	#	Especie	Marcador molecular
Bombacoideae	1.	<i>Ceiba parvifolia</i>	<i>trnK-matK</i>
	2.	<i>Ceiba parvifolia</i>	ITS
	3.	<i>Ceiba parvifolia</i>	<i>trnL-F</i>
	4.	<i>Ceiba pentandra</i> ¹	<i>ndhF</i>
	5.	<i>Ceiba aesculifolia</i> ¹	<i>ndhF</i>
	6.	<i>Eriotheca gracilipes</i>	ITS
	7.	<i>Eriotheca gracilipes</i> ¹	<i>ndhF</i>
	8.	<i>Eriotheca roseorum</i>	ITS
	9.	<i>Eriotheca ruizii</i>	ITS
	10.	<i>Bombax ceiba</i> ¹	<i>ndhF</i>
	11.	<i>Neobuchia paulinae</i> ¹	<i>ndhF</i>
	12.	<i>Neobuchia paulinae</i>	ITS
	13.	<i>Pachira quinata</i>	ITS
	14.	<i>Pachira affinis (glabra)</i> ¹	<i>ndhF</i>
	15.	<i>Pseudobombax ellipticum</i>	<i>trnL-F</i>
	16.	<i>Pseudobombax ellipticum</i>	<i>trnK-matK</i>
	17.	<i>Rhodognaphalon schumannianum</i> ¹	<i>ndhF</i>
Malvatheca*	18.	<i>Quararibea costaricensis</i>	<i>trnL-F</i>
	19.	<i>Quararibea costaricensis</i>	ITS
Dombeyoideae	20.	<i>Dombeya wallichii</i>	<i>trnK-matK</i>
	21.	<i>Dombeya wallichii</i>	<i>trnL-F</i>
	22.	<i>Dombeya wallichii</i> ¹	<i>ndhF</i>
Byttnerioideae	23.	<i>Guazuma ulmifolia</i>	<i>trnK-matK</i>
	24.	<i>Guazuma ulmifolia</i>	<i>trnL-F</i>
	25.	<i>Guazuma ulmifolia</i>	ITS
Helicteroideae	26.	<i>Helicteres guazumifolia</i>	<i>trnL-F</i>
	27.	<i>Durio zibethinus</i>	<i>trnL-F</i>
Tilioideae	28.	<i>Tilia americana</i>	<i>trnL-F</i>
Grewioideae	29.	<i>Heliocarpus appendiculatus</i>	<i>trnL-F</i>
	30.	<i>Heliocarpus appendiculatus</i>	ITS
Sterculioideae	31.	<i>Sterculia apetala</i>	ITS
	32.	<i>Sterculia apetala</i> ¹	<i>ndhF</i>
	33.	<i>Sterculia apetala</i>	<i>trnL-F</i>

* Clasificación no resuelta.

¹ La amplificación fue con los primers internos de *ndhF* mencionados en el Cuadro 1.

Hubo dificultades con los *primers* descritos para la amplificación de *ndhF*, por lo que se amplificó una región más corta con *primers* internos (536F-1603R y 1603F-10R), dando como resultado fragmentos de 1,067 pares de bases que se integraron al alineamiento

completo de la región. En el Cuadro 2 se encuentran señaladas las especies en las que se aplicaron estos primers internos para amplificar la región.

Se obtuvo un grupo de datos por cada marcador, para observar las relaciones filogenéticas que se obtienen de cada uno de ellos. Se concatenaron las tres regiones del cloroplasto para observar la resolución filogenética que se obtiene combinando la información de dichas regiones. Además, se hizo una matriz concatenada de los cuatro marcadores. La razón de hacerlo así es porque en el análisis de Duarte et al., (2011) se obtuvo una mayor resolución filogenética con la matriz de datos moleculares combinados.

3. Reconstrucción filogenética.

Los análisis filogenéticos fueron llevados a cabo usando cada conjunto de datos por separado, una matriz concatenada con los marcadores del cloroplasto, haciendo tres particiones que corresponden a las tres regiones plastídicas (*trnL-F*, *ndhF* y *trnK-matK*), y la matriz concatenada con cuatro particiones correspondientes a los cuatro marcadores moleculares. Se utilizaron dos métodos de reconstrucción filogenética, máxima verosimilitud e inferencia bayesiana, se utilizaron con el objetivo de evaluar si estimaban diferentes topologías y obtener de cada análisis la resolución correspondiente.

Para los análisis de reconstrucción filogenética paramétricos es necesario obtener el modelo de sustitución de nucleótidos que mejor se ajusta a los datos moleculares (Posada y Crandall, 2001). Se realizó una prueba basada en el Criterio de Información de Akaike (AIC) implementada en jModelTest 2.1.1 (Darriba et al., 2012), para evaluar cuál modelo se ajustaba mejor a cada uno de los seis conjuntos de datos. Mediante este método se hizo una prueba de modelos de sustitución y se evaluaron los valores de verosimilitud con los que se eligió el mejor modelo. A partir de los resultados de la prueba se utilizó el modelo GTR+I+Γ

(*General Time Reversible*) que permite una proporción de sitios invariables y variación en la tasa de sustitución entre los sitios modelada con una distribución gamma.

Se hizo una reconstrucción filogenética con máxima verosimilitud con el programa RAxML v. 8.0.9 (Stamatakis, 2006) bajo el modelo de sustitución GTR+I+ Γ con la aproximación CAT (GTRCAT). Se corrieron 1000 repeticiones bootstrap para obtener el árbol de máxima verosimilitud con valores de apoyo.

También se hicieron análisis filogenéticos mediante inferencia Bayesiana con cadenas de Markov (Markov Chain Monte Carlo, MCMC) utilizando el programa MrBayes v.3.2.2 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001) a través del portal CIPRES (Miller et al., 2010). Para cada partición de la matriz concatenada, y para los marcadores analizados por separado, se aplicó el modelo GTR con tasas de sitios invariables y con distribución gamma (GTR+I+ Γ). Se corrieron dos análisis simultáneos durante 10,000,000 de generaciones, cada uno consistente de cuatro cadenas. Se descartó el 20% de los árboles obtenidos como *burn-in* y los resultados se analizaron en Tracer v. 1.6 (Rambaut et al., 2014), en donde se evaluó la convergencia de las cadenas markovianas a partir del tamaño efectivo de muestra (SSE, por sus siglas en inglés) mayor a 200, del valor de la desviación estándar cercano a 0.0 y el de el *Potential Scale Reduction Factor* cercano a 1. Con el análisis de inferencia bayesiana se obtuvo un árbol consenso de 50% de mayoría para cada conjunto de datos.

4. Tiempos de divergencia.

La estimación de tasas de evolución molecular y el tiempo de divergencia son estimaciones ligadas entre sí que se pueden obtener bajo modelos de reloj molecular. Para tener los valores de las tasas de evolución molecular y de los tiempos de divergencia se aplicaron dos métodos de reloj molecular relajado: uno es el de verosimilitud penalizada (Sanderson, 2002)

y el otro es un método bayesiano log-normal, no correlacionado (Drummond et al., 2006). Para calcular el tiempo absoluto en que divergen las especies es necesario contar con información externa sobre el tiempo, para lo cual normalmente se utiliza la información del registro fósil. Se realizó una búsqueda en el registro fósil para obtener información sobre puntos de calibración en la estimación de tiempos de divergencia y se retuvieron dos edades de polen fósil, *Jandouforia seamrogiformis* (33.9 Ma, Eoceno) para calibrar el nodo troncal de *Catostemma-Scleronema*, y *Bombacacidites nacimientoensis* (56 Ma, Paleoceno) para calibrar el nodo corona de Malvatheca. Los fósiles de *Jandouforia* y *Bombacacidites* presentan características del polen de *Catostemma (Jandouforia)* y de varios géneros de bombacoides, respectivamente. Para calibrar la raíz se utilizó la edad y el intervalo estimado del grupo corona de Malvales (62.9-93.27), obtenido de un estudio en donde se estimaron los tiempos de divergencia de las angiospermas (Magallón et al. no publicado).

Verosimilitud Penalizada

Se llevó a cabo un fechamiento molecular mediante un método semiparamétrico utilizando verosimilitud penalizada (Sanderson, 2002). Este método permite que cada linaje tenga una tasa independiente de sustitución molecular, pero penaliza una variación excesiva en las tasas de sustitución entre las ramas de la filogenia. La penalización está dada por el parámetro λ (*smoothing*) el cual se obtiene mediante un criterio de validación cruzada de los datos que permite la optimización de su valor. Dicho método está implementado en el programa r8s v. 1.8 (Sanderson, 2002) y los cálculos los realiza a partir de una filogenia con el largo de ramas estimado e información de puntos de calibración.

En este análisis se utilizó el árbol de máxima verosimilitud del conjunto de datos combinados porque el programa estima mejor las tasas de evolución molecular y edades de

divergencia con un árbol sin politomías (Sauquet, 2013); en cambio, el árbol bayesiano de consenso tiene politomías en la raíz y en la base de Malvadendrina (Fig. 8).

Para tener estimado el largo de ramas del grupo hermano de Malvadendrina (*Guazuma ulmifolia* [Byttnerioideae] y *Heliocarpus appendiculatus* [Grewioideae]) se hizo un análisis filogenético ubicando a *Bixa orellana* (Bixaceae) en la raíz. El valor óptimo de *smoothing* (λ) se determinó utilizando los puntos de calibración del registro fósil se asignaron como edades mínimas a los nodos indicados anteriormente; para calibrar la raíz se asignó como edad máxima la edad estimada del grupo corona de Malvales (obtenida del fechamiento de las angiospermas). Posteriormente se hizo el fechamiento con una muestra de 500 árboles de bootstrap obtenidos del análisis de RAxML. Esta muestra permitió obtener un intervalo confianza de las edades estimadas. Los resultados de r8s aplicados a los árboles de bootstrap se combinaron en TreeAnnotator del paquete BEAST (Drommond et al., 2006).

Inferencia bayesiana con cadenas de Markov

Del fechamiento con r8s se obtuvo un árbol fechado (cronograma) que se utilizó como árbol inicial para la estimación de tiempos de divergencia por medio de un modelo paramétrico log-normal no correlacionado (UCLN, por sus siglas en inglés), disponible en el paquete BEAST v. 1.8.0 (Drummond et al., 2006).

El análisis requiere información previa (*prior*) de la distribución de probabilidad para los puntos de calibración, es decir, en lugar de utilizar la edad del fósil como un punto de calibración (como en verosimilitud penalizada), se utiliza una distribución probabilística del mismo como *prior*. De esta forma se asignaron las edades que se utilizaron para el análisis con r8s, pero con una distribución previa log-normal. La media de esta distribución se obtuvo

agregando el 10% a la edad de los fósiles y calculando el logaritmo natural de ese valor (Heath, 2014); la desviación estándar fue de 1.

Para la calibrar la raíz del árbol se asignó el intervalo de edad del grupo corona de Malvales, 62.9-93.27 Ma, obtenido del fechamiento de angiospermas (Magallón et al., no publicado), con una distribución previa uniforme. Se corrieron dos análisis de manera independiente de 50 millones de generaciones cada uno, con una frecuencia de muestreo cada 2,500 generaciiones. Los árboles muestreados en cada generación fueron analizados en el programa Tracer v. 1.5 (Rambaut et al., 2014) para corroborar que hayan convergido las cadenas, evaluar el tamaño efectivo de muestra y para unir el resultado de los dos análisis, teniendo, en total, 100 millones de generaciones. Posteriormente se hizo un consenso de los árboles muestreados en la aplicación TreeAnnotator (Drummond et al., 2006), obteniendo así un cronograma con edades estimadas de cada nodo e intervalos de error de cada edad.

5. Tasas de diversificación.

Se realizó un análisis para estimar la tasa de diversificación de Malvaceae *s.l.* e identificar posibles cambios significativos en dicha tasa usando el paquete MEDUSA (Alfaro et al., 2009) implementado en R. Para este análisis es necesario un cronograma (o una muestra de árboles ultramétricos) y el total de especies vivientes de todos los linajes incluidos en el estudio. MEDUSA utiliza un modelo de diversificación, por ejemplo de nacimiento puro (Yule, 1924), con un método de máxima verosimilitud para detectar cambios en la tasa de diversificación en la filogenia. MEDUSA primero estima la tasa de la raíz que corresponde a la tasa general a partir de la que calcula los cambios. Como resultado, arroja la tasa neta de

diversificación (r), la tasa de extinción relativa (ε) y la probabilidad de que esos cambios ocurran dada la muestra de árboles.

Una forma sencilla para estimar la tasa de especiación y extinción cuando se conocen los valores de la diversificación neta y extinción relativa es utilizando las siguientes ecuaciones:

$$(1) \lambda = r / 1-\varepsilon$$

$$(2) \mu = r (\varepsilon) / 1-\varepsilon$$

Donde la tasa de especiación λ , es la tasa a la que se genera una nueva especie por unidad de tiempo, en este caso por millón de años. Asimismo, la tasa de extinción μ , es la tasa en que se extingue una especie por millón de años.

En este estudio se estimaron las tasas de diversificación bajo un modelo de nacimiento y muerte (Nee, 2006). Se utilizó una muestra de 100 árboles ultramétricos (árboles con edades de divergencia) tomada de la probabilidad posterior de árboles fechados obtenidos en el análisis de BEAST. Los árboles fueron podados de manera tal que cada género fuera representado por una sola especie, y a esta especie se le asignó el total de especies del género o clado, según correspondiera. La riqueza de especies de los grupos externos se asignó de acuerdo a estudios previos con información de las relaciones dentro cada grupo (Whitlock et al., 2001; Tate et al., 2005; Wilkie et al., 2006; Koopman y Baum, 2008; Brunken y Muellner, 2012). En el Apéndice 2 se encuentran los valores de riqueza de especies por género incluido. De esta manera, a los géneros incluidos en el presente estudio se les asignó el número de especies de géneros hermanos que no están muestreados en este trabajo. El número de especies de cada género se obtuvo de *The Plant List* v.1.1 (2013).

6. Reconstrucción de estados ancestrales del tipo de polinizador.

a. Obtención de datos del polinizador para las especies incluidas en el estudio a partir de la búsqueda en la literatura y revisión de ejemplares de herbario. Debido a que no hay información sobre el polinizador de todas las especies incluidas en el proyecto, se hizo una categorización con base en la precisión de la información encontrada en la literatura, siendo (1) los datos obtenidos de estudios estrictos de polinización; (2) estudios donde sólo se menciona a los visitantes y posibles polinizadores por ser visitantes; (3) inferencia del polinizador mediante el síndrome floral hecho en trabajos previos publicados; dentro de esta categoría se incluyeron las inferencias basadas en el síndrome floral hechas en el presente estudio, es decir, el polinizador se designó con base en el conjunto de caracteres florales de cada especie. En el Apéndice 3 se muestra la información sobre la categoría de la asignación del polinizador en cada especie incluida y las referencias.

b. Señal filogenética mediante el método de lambda de Pagel (1999).

La señal filogenética es la tendencia de especies relacionadas a parecerse entre sí más de lo que se esperaría por azar (Blomberg y Garland, 2002). Este patrón es de considerable interés en ecología y evolución, sobre todo en métodos comparados filogenéticos, ya que si no hay señal filogenética con respecto al carácter a evaluar, no se puede explicar su distribución en una filogenia como carácter derivado y será de poco uso para el análisis comparado. Para determinar si un carácter tiene señal filogenética se necesita una hipótesis filogenética y un conjunto de datos de los estados del mismo.

El método de lambda de Pagel mide la dependencia filogenética de los caracteres observados y funciona bajo un modelo de evolución de movimiento browniano (*Brownian motion* o *random walk*). En este modelo la evolución de los caracteres sigue una ruta

aleatoria a lo largo de las ramas de un árbol filogenético, siendo la varianza de la distribución de caracteres directamente proporcional al largo de ramas (Münkemüller et al., 2012). Los valores de lambda de Pagel cercanos a cero indican independencia filogenética, es decir, poca o nula señal filogenética; mientras que los valores cercanos a uno indican que el carácter tiene señal filogenética, es decir, la distribución de sus estados es dependiente de la filogenia.

Para estimar los valores de lambda se utilizó el paquete APE con la función *fitDiscrete* (Paradis et al., 2004), implementado en ambiente R. Se usó el árbol bayesiano de consenso de la matriz concatenada para evaluar el carácter de tipo de polinizador y la matriz con los cinco estados del carácter “tipo de polinizador” (murciélago, abeja, ave, esfíngido y mariposa).

c. Reconstrucción de estados ancestrales del tipo de polinizador.

Las reconstrucciones se hicieron con máxima verosimilitud e inferencia bayesiana bajo el modelo de evolución de movimiento browniano. La reconstrucción de estados ancestrales del tipo de polinizador se realizó con el método de máxima verosimilitud disponible en el programa Mesquite v. 2.74 (Maddison y Maddison, 2010). Este método calcula los valores de verosimilitud de cada estado de carácter para cada nodo estimado, en cambio, el método de parsimonia sólo indica el estado de carácter posible sin ningún tipo de incertidumbre. Se utilizó el árbol de consenso de inferencia bayesiana y una matriz de datos del tipo de polinizador con cinco estados de carácter. Se utilizó el modelo de evolución Mk1, que supone que todas las transiciones entre los estados de carácter tienen la misma probabilidad (Lewis, 2001).

Por otro lado, se realizó la reconstrucción de estados ancestrales con el programa BayesTraits (Pagel, 1999), utilizando el modelo MultiState que estima tasas de transición de estados y los estados ancestrales para cada nodo especificado usando el comando MRCA (*Most Recent Common Ancestor*), con cadenas de Markov (MCMC). Primero se implementó el método de *reversible jump MCMC* (Pagel y Meade, 2006) para estimar el mejor modelo de evolución de los caracteres dada la muestra de árboles y la distribución de los estados de carácter. Posteriormente, se corrieron diez millones de generaciones, de las que se descartó un millón como *burn-in* (10%). Para este análisis se utilizó una muestra de 500 filogramas de la distribución posterior del análisis de MrBayes y el conjunto de datos del tipo de polinizador. Los resultados están dados en probabilidades posteriores que se analizaron con el programa Tracer para obtener los valores promedio.

7. Asociación entre tasas de diversificación y polinización.

Los métodos para estimar las tasas de cambio de los estados de carácter funcionan sin tomar en cuenta los efectos del carácter en la especiación y la extinción. Esto es un problema porque la reconstrucción de un estado ancestral depende críticamente en cómo el carácter afecta la tasa de especiación y extinción (Maddison et al., 2007). Bajo este contexto, se evaluó la hipótesis dependiente en la que el tipo de polinizador promueve la diversificación, es decir, el aumento en la tasa de especiación asociado a la adquisición o transición hacia un tipo de polinizador particular. En este caso se evaluó específicamente la hipótesis en la que la polinización por murciélago está asociada al aumento en la tasa de especiación. Se utilizó el modelo de diversificación asociada a dos estados de carácter morfológico, BiSSE (*Binary-State Speciation and Extinction*; Maddison et al., 2007) en el paquete Diversitree en R (FitzJohn, 2012). Se aplicó el modelo bajo métodos de máxima

verosimilitud e inferencia bayesiana, utilizando el cronograma de BEAST y una matriz de datos de polinizador con dos estados del carácter “tipo de polinizador” (murciélago y cualquier otro tipo). El resultado de BiSSE indica la probabilidad de observar los datos (la filogenia y la distribución de estados del carácter) dadas las tasas de diversificación y transición.

El modelo de BiSSE estima seis parámetros, especiación (λ_0 , λ_1) y extinción (μ_0 , μ_1) bajo cada estado de carácter y las tasas de transición de un estado al otro (q_{01} y q_{10}). Sin embargo, existen datos en los que se ajustan a modelos más sencillos, por ejemplo, con una misma tasa de transición para los dos estados de carácter ($q_{10}=q_{01}$). Para saber si el modelo de seis parámetros se ajusta a los datos se hizo una prueba donde se calcularon los valores de verosimilitud de tres modelos: a) con las seis tasas diferentes; b) con tasas de especiación iguales; y c) con tasas de transición iguales. Con el resultado de la prueba se eligió el modelo de seis parámetros (todas las tasas diferentes) porque tuvo mayor verosimilitud (resultados no mostrados).

VIII. RESULTADOS

1. Muestreo.

Se colectaron en campo seis especies de Bombacoideae y dos de clasificación en no resuelta dentro de subfamilias pero que se incluyen en Malvaceae. Se tomó muestra de tejido de hoja de nueve especies de herbario para extracción de ADN total. El resto de las secuencias utilizadas fue obtenido de GenBank (el Apéndice 1 muestra los números de acceso y la información de donde se obtuvo tejido). Para los análisis de este trabajo se incluyeron 57 especies, 35 pertenecientes a Bombacoideae y el resto son representantes de las otras ocho subfamilias de Malvaceae s. l.

2. Extracción, amplificación y secuenciación.

Se generaron 33 secuencias nuevas, 17 de Bombacoideae y 16 de malváceas utilizadas como grupo externo (Cuadro 2. Dado que no fue posible alinear las secuencias de ITS de las especies *Eriotheca gracilipes*, *E. roseorum*, *Neobuchia paulinae*, *Pachira quinata* y *Dombeya wallichii* con el resto de las especies, estas fueron excluidas de los análisis. Esta situación puede deberse a que la región ITS tiene un patrón complejo de sustitución y pertenece a una familia multigénica, por lo que aquí se supone que la incompatibilidad en el alineamiento se debe a que se amplificó una región no homóloga de ITS en las especies mencionadas, debido a que así ocurre en otros grupos (Álvarez y Wendel, 2003). No obstante, estudios previos sobre el uso de este marcador para malváceas han tenido dificultades similares de alineación para las mismas especies (Nyffeler y Baum, 2000; Duarte et al., 2011).

3. Reconstrucción filogenética.

En la selección del modelo con la matriz de *trnL-F*, dentro del intervalo de 95% hubo nueve modelos. Para ITS, *trnK-matK*, *ndhF* y la matriz concatenada, sólo el GTR+G estuvo en el intervalo. El número de taxa por conjunto de datos (genes por separado, la matriz concatenada y la de cloroplasto), tamaño del alineamiento y número de caracteres informativos se muestran en el Cuadro 3. El grupo externo que se asignó para todos los conjuntos de datos fueron los miembros del grupo Byttnerina, *Guazuma ulmifolia* y/o *Heliocarpus appendiculatus*, dependiendo de su presencia en el alineamiento.

Cuadro 3. Datos moleculares por marcador y matrices concatenadas.

Matriz datos moleculares	Número de Taxa	Longitud de alineamiento	Caracteres informativos
ITS	48	953	373
<i>ndhF</i>	42	2230	122
<i>trnK-matK</i>	56	2765	227
<i>trnL-F</i>	52	1373	122
Cloroplasto	57	6368	471
Concatenada	57	7383	844

En la Figura 4 se presenta el filograma obtenido a partir de la matriz de cloroplasto y en la Figura 5 el obtenido de la matriz concatenada. Con los análisis de inferencia bayesiana se obtuvieron filogramas para cada conjunto de datos (Figs. 6 y 7; Apéndice 4). En general, las relaciones filogenéticas resultantes de máxima verosimilitud (MV) e inferencia bayesiana (IB) coinciden, por lo que los resultados se describen con base en el árbol de consenso de los cuatro marcadores combinados de inferencia bayesiana debido a que tiene, en conjunto, mayor resolución y probabilidades posteriores más altas que el resultado de los valores de máxima verosimilitud. Únicamente para los casos en los que hubo diferencias contrastantes entre los árboles de MV e IB se hará mención de ellas.

La identificación del grupo hermano de Malvatheca, para el cual se incluyeron como grupos externos los géneros de las subfamilias de Malvadendrina, quedó sin resolver. La matriz de cloroplasto analizada con máxima verosimilitud muestra a *Tilia americana* como grupo hermano de Malvatheca, pero con bajo apoyo (BS=42%; Fig. 6). En la inferencia bayesiana (con la matriz de cloroplasto), se encontró una politomía que incluye a *Tilia americana*, *Sterculia apetala*, un clado correspondiente a Brownlowioideae y Malvatheca (Fig. 6). Las relaciones obtenidas con la matriz concatenada de los cuatro marcadores

analizada con inferencia bayesiana no están del todo resueltas: *Helicteres guazumifolia* y *Durio zibethinus* son géneros hermanos y la posición de *Dombeya wallichii* y *Tilia americana* quedó sin resolver (Fig. 7). *Sterculia apetala* se muestra como grupo hermano de Brownlowioideae (PP=0.75). En el árbol de máxima verosimilitud hay mayor resolución, pero en general con bajo apoyo. *Tilia americana* se ubica como grupo hermano de Malvatheca (BS=14%) y Helicteroideae como hermano del resto de las subfamilias de Malvadendrina con alto apoyo (BS=100%). La subfamilia Malvoideae es un grupo monofilético en todos los análisis y tiene alto apoyo con los dos métodos (Figs. 4-7).

Las relaciones filogenéticas de la matriz concatenada de los cuatro marcadores contrasta con la filogenia de la matriz del cloroplasto en algunos casos. Por ejemplo, con la información del cloroplasto, los géneros *Ochroma*, *Patinoa*, *Matisia*, *Quararibea* y *Septotheca* se ubicaron como hermanos de Bombacoideae, con máxima verosimilitud este arreglo tuvo bajo apoyo (BS=32%; Fig. 4), en cambio, con inferencia bayesiana el apoyo fue mayor (PP=0.71; Fig. 6).

Malvatheca es un grupo monofilético con alto apoyo (PP=1). El grupo hermano de Bombacoideae está compuesto por Malvoideae más *Ochroma-Patinoa* y *Septotheca*. Sólo en el análisis con el marcador *trnK-matK*, *Ochroma-Patinoa* y *Septotheca* aparecen como hermanos de Bombacoideae, pero formando una politomía (Apéndice 4).

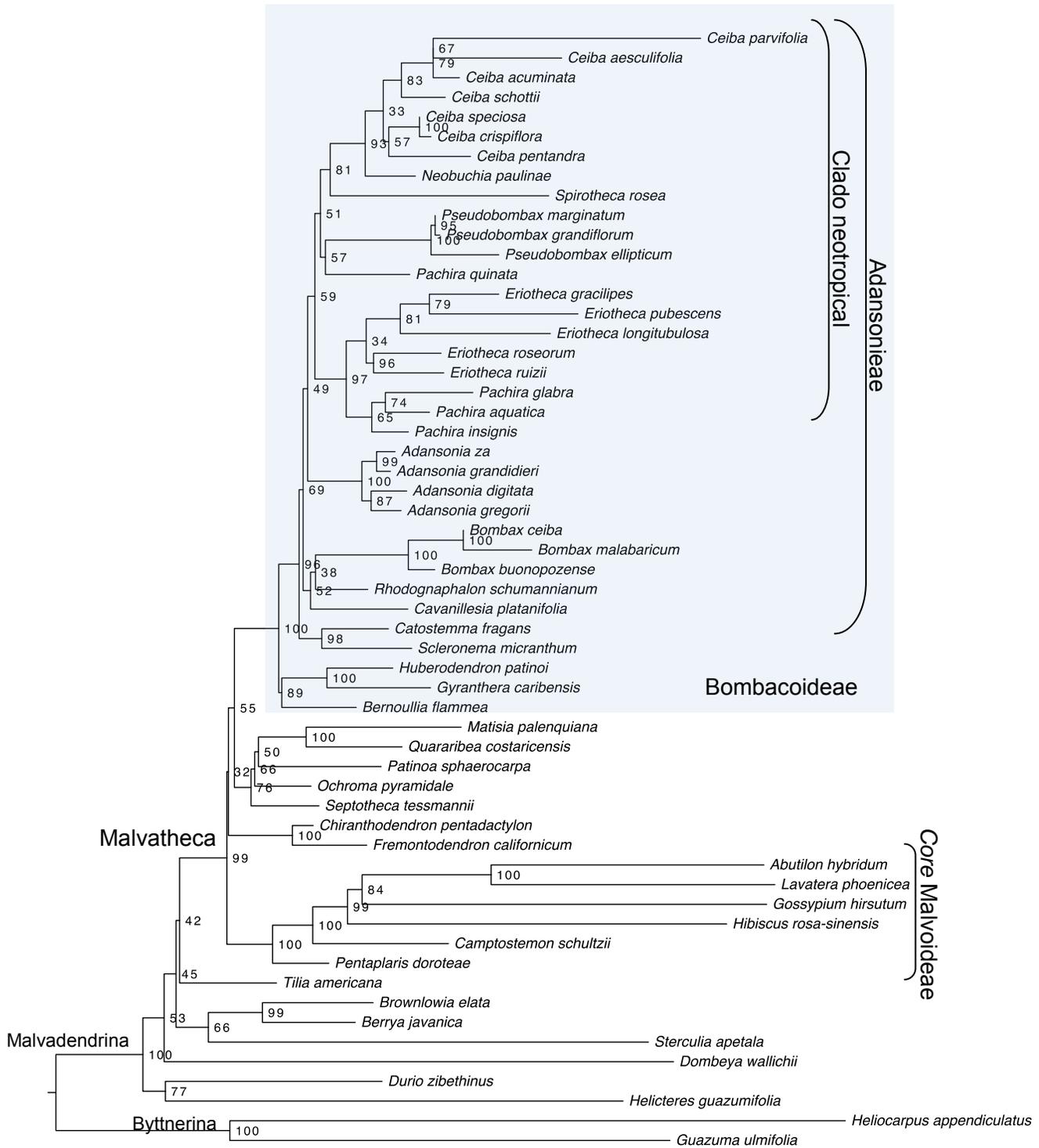


Fig. 4. Filograma obtenido con máxima verosimilitud usando la matriz de genes del cloroplasto. Los números asociados a los nodos son valores de apoyo de *bootstrap*.

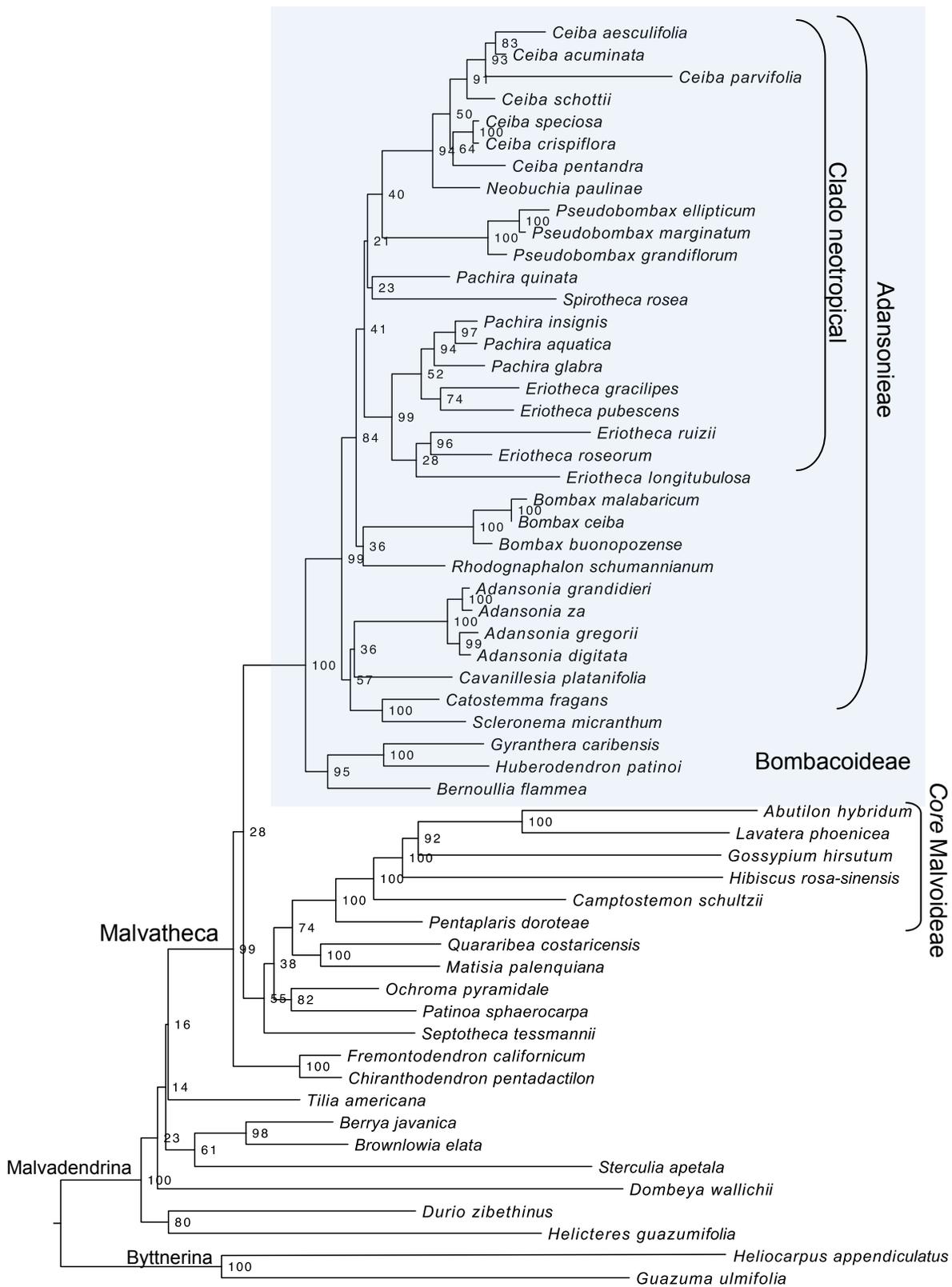


Fig. 5. Filograma obtenido con máxima verosimilitud usando la matriz concatenada de los cuatro marcadores. Los números asociados a los nodos son valores de apoyo de Bootstrap.

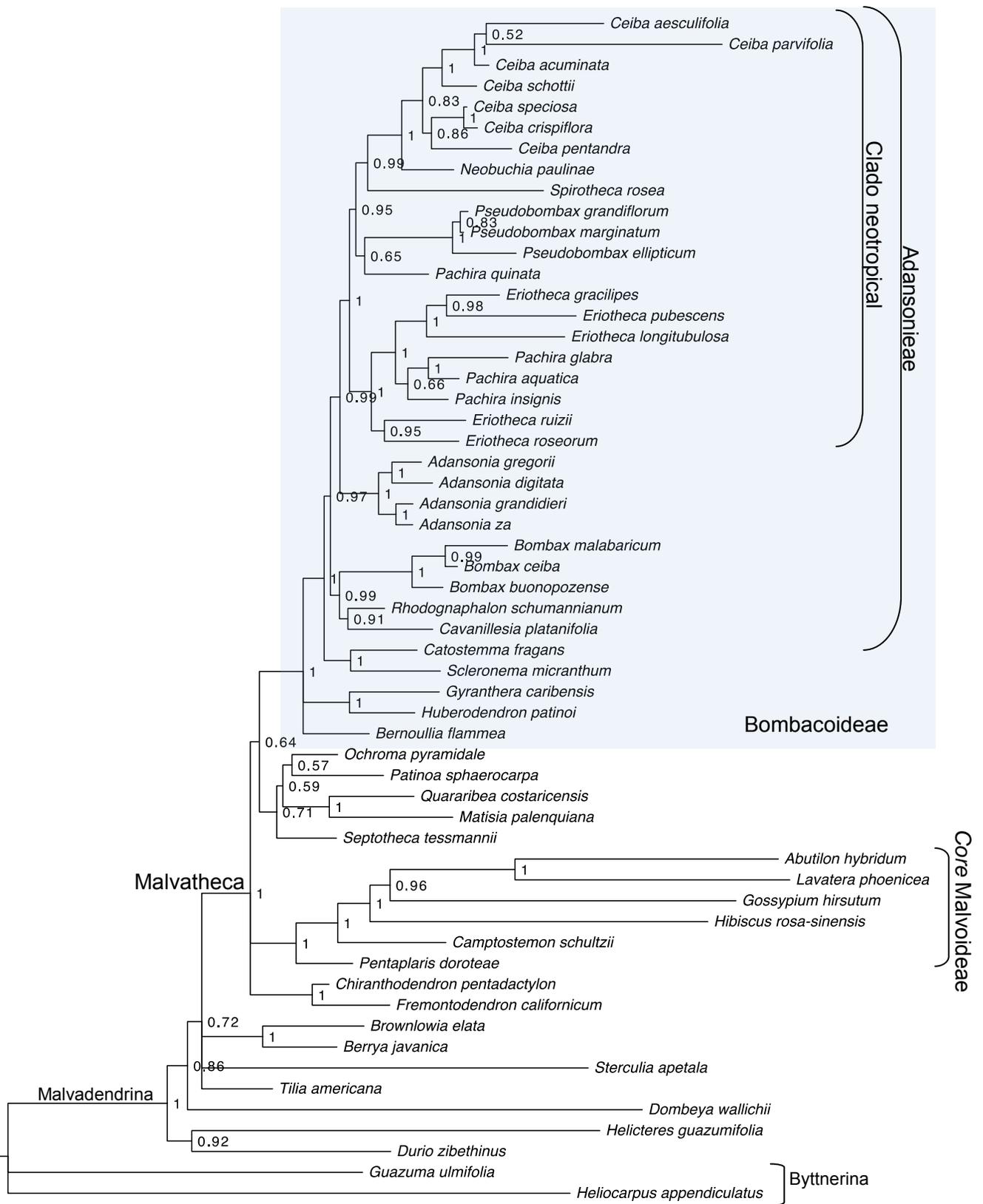


Fig. 6. Filograma obtenido con inferencia bayesiana usando el conjunto de genes del cloroplasto. Los valores asociados a los nodos representan probabilidades posteriores.

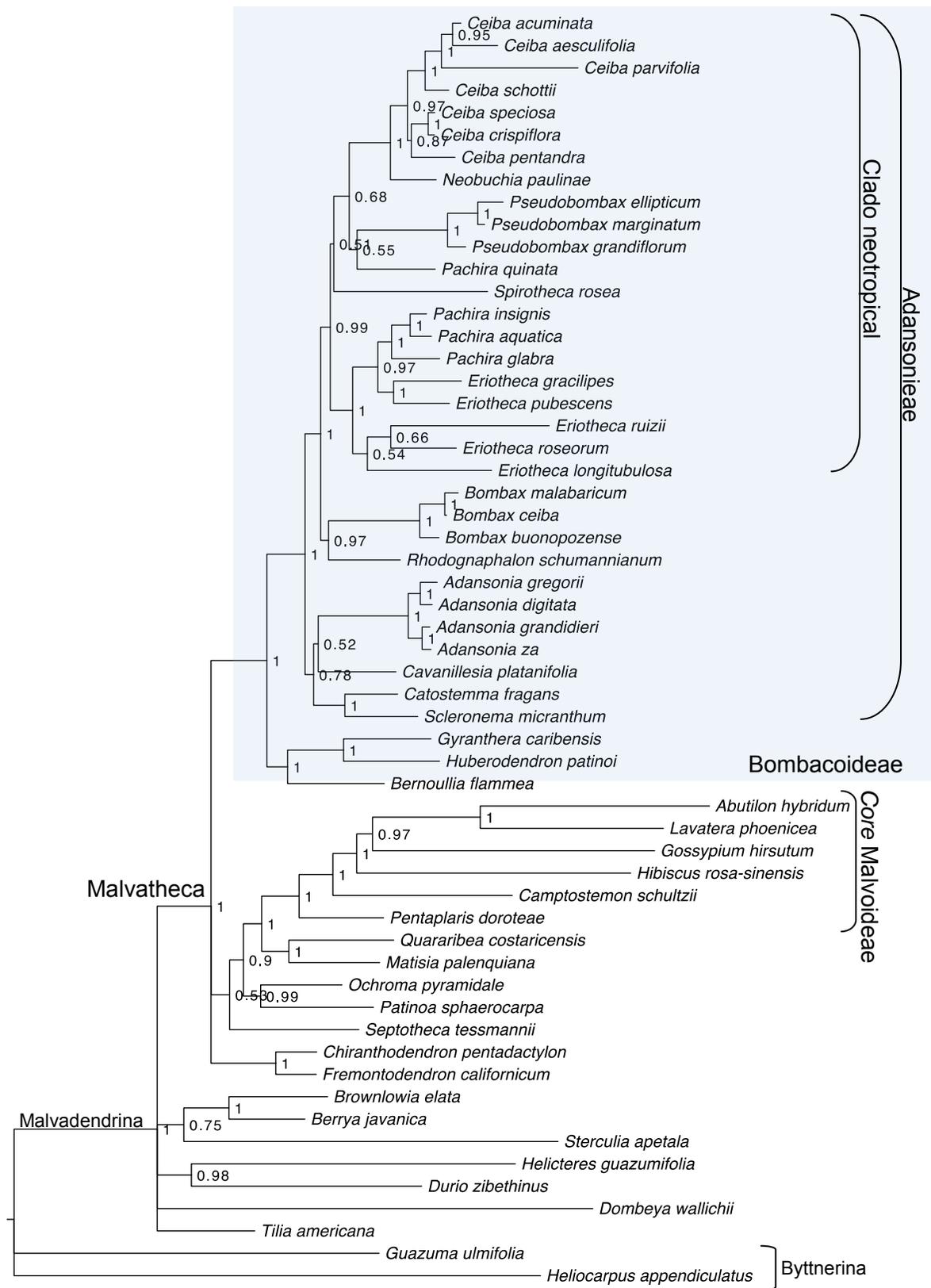


Fig. 7. Filograma obtenido con inferencia bayesiana usando la matriz concatenada. Valores asociados a los nodos representan probabilidades posteriores.

En todos los análisis, Bombacoideae forma un grupo monofilético. El clado más cercano a la raíz consiste de los géneros *Gyranthera*, *Huberodendron* y *Bernoullia*, y aparece de esta manera con todos los marcadores. De acuerdo con la matriz concatenada, el género neotropical *Cavanillesia* es grupo hermano de *Adansonia*, género paleotropical y como hermanos de estos dos géneros están *Catostemma* y *Scleronema*. El resto de los géneros están agrupados con alto apoyo (PP=1; Fig. 7), teniendo a dos géneros paleotropicales anidados, *Bombax* y *Rhodognaphalon*, y por otro lado está el grupo de géneros neotropicales compuesto por *Pachira*, *Eriotheca*, *Ceiba*, *Neobuchia* y *Pseudobombax*, manifestándose estas relaciones con todos los marcadores. Sin embargo, con la matriz del cloroplasto *Adansonia* aparece como grupo hermano del grupo neotropical (PP=0.99; Fig. 6), dejando a *Bombax* y *Rhodognaphalon* aliados a *Cavanillesia*.

Las relaciones filogenéticas derivadas de los datos de cloroplasto y los datos combinados de los cuatro marcadores muestran que *Pachira* es un género parafilético y *Eriotheca* es polifilético, dado que *Pachira quinata* aparece como grupo hermano de *Pseudobombax* y dos especies de *Eriotheca* están anidadas dentro de *Pachira* (Fig. 7). Sólo en el análisis de *trnK-matK* el género *Eriotheca* aparece como monofilético (Apéndice 4).

La posición de *Spirotheca rosea* en el análisis de cloroplasto es de grupo hermano de *Ceiba-Neobuchia* (BS=81%, Fig. 4; PP=0.99; Fig. 6). Por otro lado, en el análisis bayesiano usando la matriz concatenada de los cuatro marcadores, *Spirotheca* aparece como grupo hermano de *Pseudobombax* y *Ceiba-Neobuchia* (PP=0.51; Fig. 7).

4. Tiempos de divergencia.

El análisis de validación cruzada de r8s indicó que un valor óptimo de λ (*smoothing*) fue de 3.2, este valor fue utilizado para el análisis de fechamiento y en la muestra de 500 árboles de

máxima verosimilitud. El cronograma resultante (no mostrado) se utilizó como árbol de partida para los fechamientos con BEAST. Las edades estimadas con verosimilitud penalizada y cadenas de Markov fueron similares y sus respectivos intervalos de error se sobrelaparon. En el Cuadro 4 se muestran las edades estimadas para los clados seleccionados.

El cronograma que se muestra en la Figura 8 es el árbol de máxima credibilidad de clados (*maximum clade credibility tree*). Es de notar que las relaciones filogenéticas que estimó BEAST tienen algunas diferencias menores a las estimadas en las reconstrucciones filogenéticas de máxima verosimilitud y bayesiana, pero no se van a tomar en cuenta para la discusión en este trabajo porque dichas diferencias tienen baja probabilidad posterior (valores no mostrados).

Cuadro 4. Edades estimadas por clado con el método de verosimilitud penalizada (r8s) y cadenas de Markov (MCMC con BEAST). Los números en paréntesis son los límites mínimo y máximo del intervalo de confianza (en verosimilitud penalizada); y el intervalo de credibilidad de 95% (en inferencia bayesiana). Las edades están dadas en millones de años (Ma).

Clado	Verosimilitud Penalizada (Ma)	MCMC (Ma)
Malvaceae	76.3 (66.31-76.3)	88.86 (77.84-93.26)
Malvatheca	53.93 (51.73-58.1)	58.53 (56.08-65.19)
Bombacoideae	47.38 (43.27-51.51)	47.37 (41.75-53.74)
Adansonieae	42.83 (38.98-46.64)	39.49 (35.27-44.66)
Clado neotropical (<i>Eriotheca-Ceiba</i>)	38.2 (33.91-42.98)	34.4 (28.77-40.33)
Clado <i>Pseudobombax-Ceiba</i>	34.79 (29.89-39.76)	30.76 (25.03-37.07)

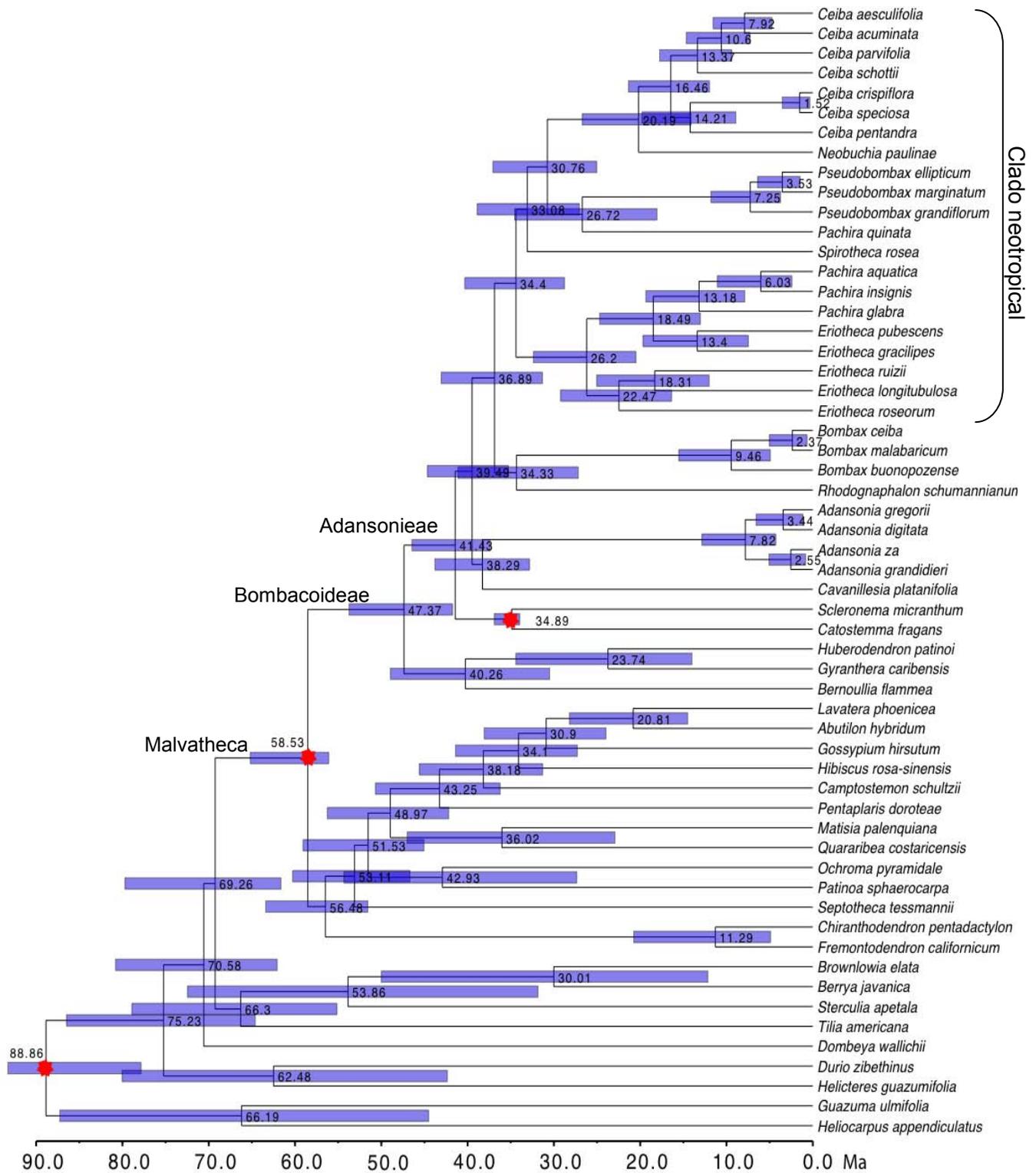


Fig. 8. Cronograma de BEAST. Las edades estimadas están asociadas a los nodos. Las barras representan el intervalo de credibilidad (*highest posterior density*) de 95%. Los nodos marcados con color son los puntos de calibración asignados

5. Tasas de diversificación.

El patrón de cambios en la tasa de diversificación estimado con MEDUSA indicó dos cambios con mayor probabilidad a partir de una muestra de cien árboles ultramétricos (Cuadro 5).

Uno de los cambios detectados ocurre en el clado Eumalvoideae (nodo A de la Figura 9) donde se observa una disminución de la tasa de diversificación. Eumalvoideae es un grupo que incluye las tribus Hibisceae, Malveae y Gossypieae (Baum et al., 2004). De la misma manera, la tasa neta de diversificación del nodo troncal de *Pachira-Eriotheca* disminuye (nodo B de la Figura 9). Sin embargo, se puede observar que las tasas de especiación y extinción, dadas en número de especies por millón de años, de los dos nodos aumentan con respecto a las tasas de la raíz. Esta diferencia se debe a que la tasa neta de diversificación está dada por la diferencia entre la tasa de especiación (λ) y extinción (μ). Al ser esta diferencia muy pequeña, la tasa de diversificación será pequeña.

Cuadro 5. Tasas de diversificación y cambios en la tasa identificados por MEDUSA.

Nodo	Proporción de árboles*	Diversificación neta (r)	Extinción relativa (ϵ)	Especiación (λ)	Extinción (μ)
Raíz	1	0.079	0.066	0.085	0.005
Eumalvoideae (A)	0.66	0.059	0.98	3.006	2.947
<i>Pachira-Eriotheca</i> (stem) (B)	0.74	0.023	0.971	0.817	0.794

*Proporción de árboles en los que ocurre el cambio detectado.

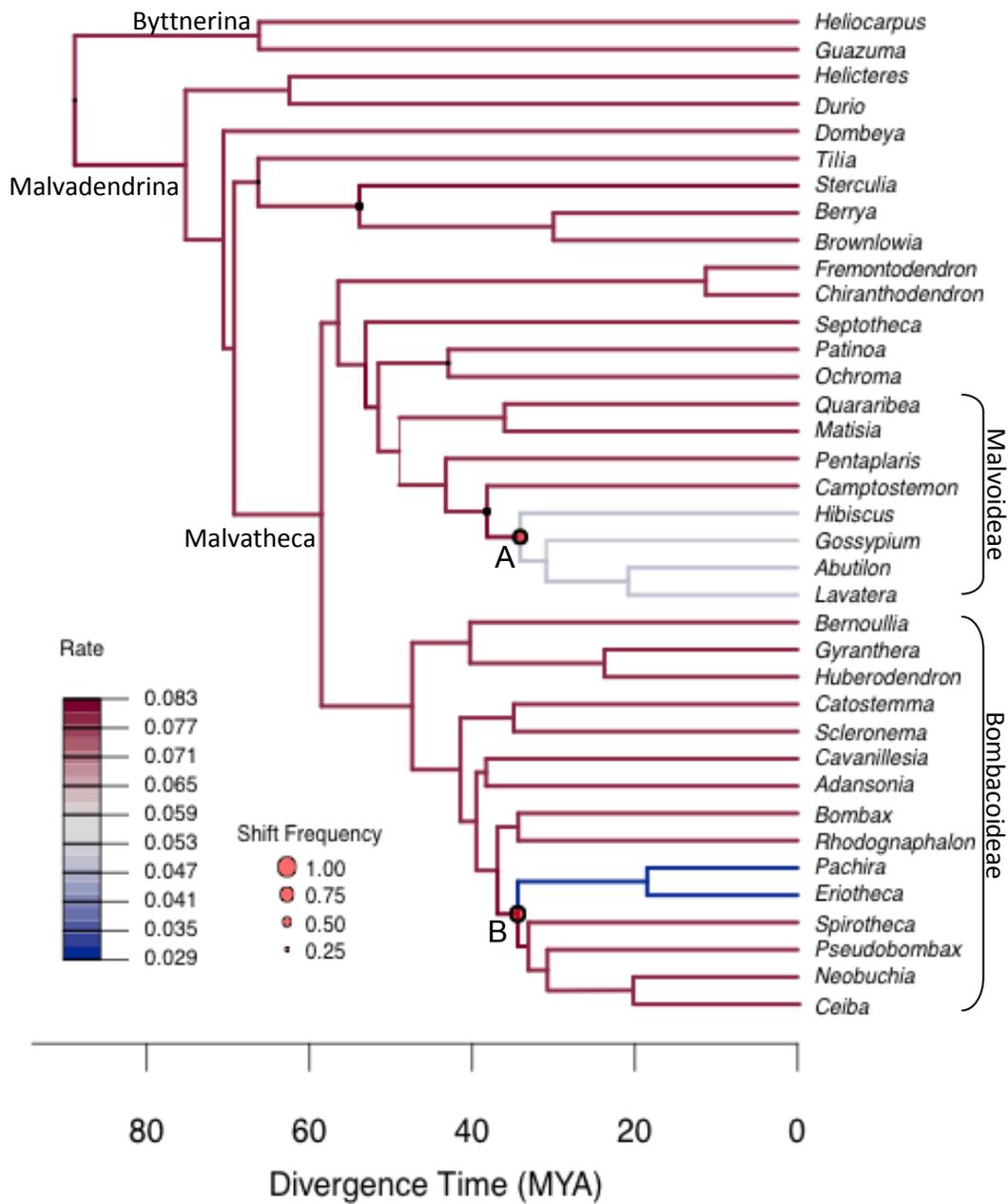


Fig. 9. Resultados de MEDUSA. Los círculos en los nodos representan los puntos donde existe un cambio en la diversificación y el diámetro representa la proporción de árboles en los que se observó el cambio. El color en las ramas representa la tasa neta de diversificación. A) Eumalvoideae. B) Grupo troncal de *Pachira-Eriotheca*.

6. Reconstrucción de estados ancestrales de polinización.

Se obtuvo información de las 57 especies incluidas, ya fuera directamente de estudios de polinización o a partir del conjunto de caracteres florales (Cuadro 6). Se encontraron 29 especies para las que hay estudios de polinización estrictos; nueve especies para las que hay mención de visitantes y posibles polinizadores; y siete especies de las que se obtuvo información con base en deducciones publicadas del posible polinizador derivadas de la morfología floral. Para 12 especies no existe información publicada sobre sus visitantes o polinizadores, por lo que se hizo una inferencia de su polinizador con base en los caracteres florales, la antésis y la fenología (Apéndice 3).

En los resultados de la prueba para estimar señal filogenética con el método de λ de Pagel, para los datos utilizados, se obtuvo un valor de 0.94 de λ , indicando que los datos de polinizadores presentan una señal filogenética.

El método de máxima verosimilitud estimó el estado ancestral del tipo de polinizador en cada nodo interno del árbol filogenético, asociando a cada uno un valor de verosimilitud (Fig. 10). En contraste, el método bayesiano de cadenas de Markov estima únicamente los estados en nodos determinados por el usuario, por esta razón y por el tiempo que necesita para correr en este último, se estimaron 11 nodos que corresponden a algunos clados seleccionados de Malvaceae (Fig. 11). Los dos métodos utilizados coinciden en que el tipo de polinizador ancestral de Bombacoideae es el murciélago. La polinización por abeja sólo se estimó en el nodo donde divergen *Pachira* y *Eriotheca*. Sin embargo esto sólo lo estimó BayesTraits, en cambio, el programa Mesquite estimó como el estado ancestral de ese nodo la polinización por murciélago. El Cuadro 7 muestra el tipo de polinizador que tiene los valores más altos de verosimilitud y probabilidad posterior ancestral, respecto a cada método.

Cuadro 6. Polinizador por especie.

Especie	Tipo de Polinizador	Especie	Tipo de Polinizador
<i>Adansonia digitata</i>	Murciélago	<i>Pseudobombax marginatum</i>	Murciélago
<i>Adansonia perrieri</i>	Esfíngido	<i>Pseudobombax grandiflorum</i>	Murciélago
<i>Adansonia za</i>	Esfíngido	<i>Rhodognaphalon schumannianum</i>	Murciélago
<i>Adansonia grandidieri</i>	Murciélago	<i>Scleronema micranthum</i>	Esfíngido
<i>Bernoullia flammea</i>	Ave	<i>Spirotheca rosea</i>	Ave
<i>Bombax ceiba</i>	Ave	<i>Septotheca tessmannii</i>	Murciélago
<i>Bombax buonopozense</i>	Ave	<i>Abutilon hybridum</i>	Ave
<i>Bombax malabaricum</i>	Ave	<i>Camptostemon schultzei</i>	Abeja
<i>Catostemma fragans</i>	Esfíngido	<i>Gossypium hirsutum</i>	Abeja
<i>Cavanillesia platanifolia</i>	Esfíngido	<i>Hibiscus rosa-sinensis</i>	Ave
<i>Ceiba acuminata</i>	Murciélago	<i>Lavatera phoenicea</i>	Ave
<i>Ceiba aesculifolia</i>	Murciélago	<i>Pentaplaris doroteae</i>	Esfíngido
<i>Ceiba schotti</i>	Esfíngido	<i>Matisia palenquiana</i>	Murciélago
<i>Ceiba speciosa</i>	Mariposa	<i>Quararibea costaricensis</i>	Murciélago
<i>Ceiba crispiflora</i>	Mariposa	<i>Ochroma pyramidale</i>	Murciélago
<i>Ceiba pentandra</i>	Murciélago	<i>Patinoa sphaerocarpa</i>	Murciélago
<i>Ceiba parvifolia</i>	Murciélago	<i>Chiranthodendron pentadactylon</i>	Ave
<i>Eriotheca ruizii</i>	Abeja	<i>Fremontodendron californicum</i>	Abeja
<i>Eriotheca gracilipes</i>	Abeja	<i>Sterculia apetala</i>	Abeja
<i>Eriotheca roseorum</i>	Abeja	<i>Dombeya wallichii</i>	Abeja
<i>Eriotheca pubescens</i>	Abeja	<i>Tilia americana</i>	Abeja
<i>Eriotheca longitubulosa</i>	Esfíngido	<i>Helicteres guazumifolia</i>	Ave
<i>Gyranthera caribensis</i>	Murciélago	<i>Durio zibethinus</i>	Murciélago
<i>Huberodendron patinoi</i>	Murciélago	<i>Brownlowia elata</i>	Abeja
<i>Neobuchia paullinae</i>	Murciélago	<i>Berrya javanica</i>	Abeja
<i>Pachira aquatica</i>	Murciélago	<i>Guazuma ulmifolia</i>	Abeja
<i>Pachira quinata</i>	Murciélago	<i>Heliocarpus appendiculatus</i>	Esfíngido
<i>Pachira insignis</i>	Murciélago		
<i>Pachira glabra</i>	Murciélago		
<i>Pseudobombax ellipticum</i>	Murciélago		

Cuadro 7. Reconstrucción de estados ancestrales del tipo de polinizador de clados seleccionados de Malvaceae s.l. con máxima verosimilitud (Mesquite) e inferencia bayesiana (BayesTraits). PPA= Probabilidad Posterior Ancestral.

Clado	Máxima Verosimilitud (Verosimilitud)	Inferencia Bayesiana (PPA)
Malvaceae	Equívoco	No estimado
Malvatheca	Murciélago	Murciélago (0.67)
Bombacoideae	Murciélago	Murciélago (0.58)
Adansonieae	Murciélago	Murciélago (0.5)
Clado neotropical (<i>Eriotheca</i> - <i>Ceiba</i>)	Murciélago	Murciélago (0.67)
<i>Pachira</i> y <i>Eriotheca</i>	Murciélago	Abeja (0.43)
Clado <i>Pseudobombax</i> - <i>Ceiba</i>	Murciélago	Murciélago (0.8)

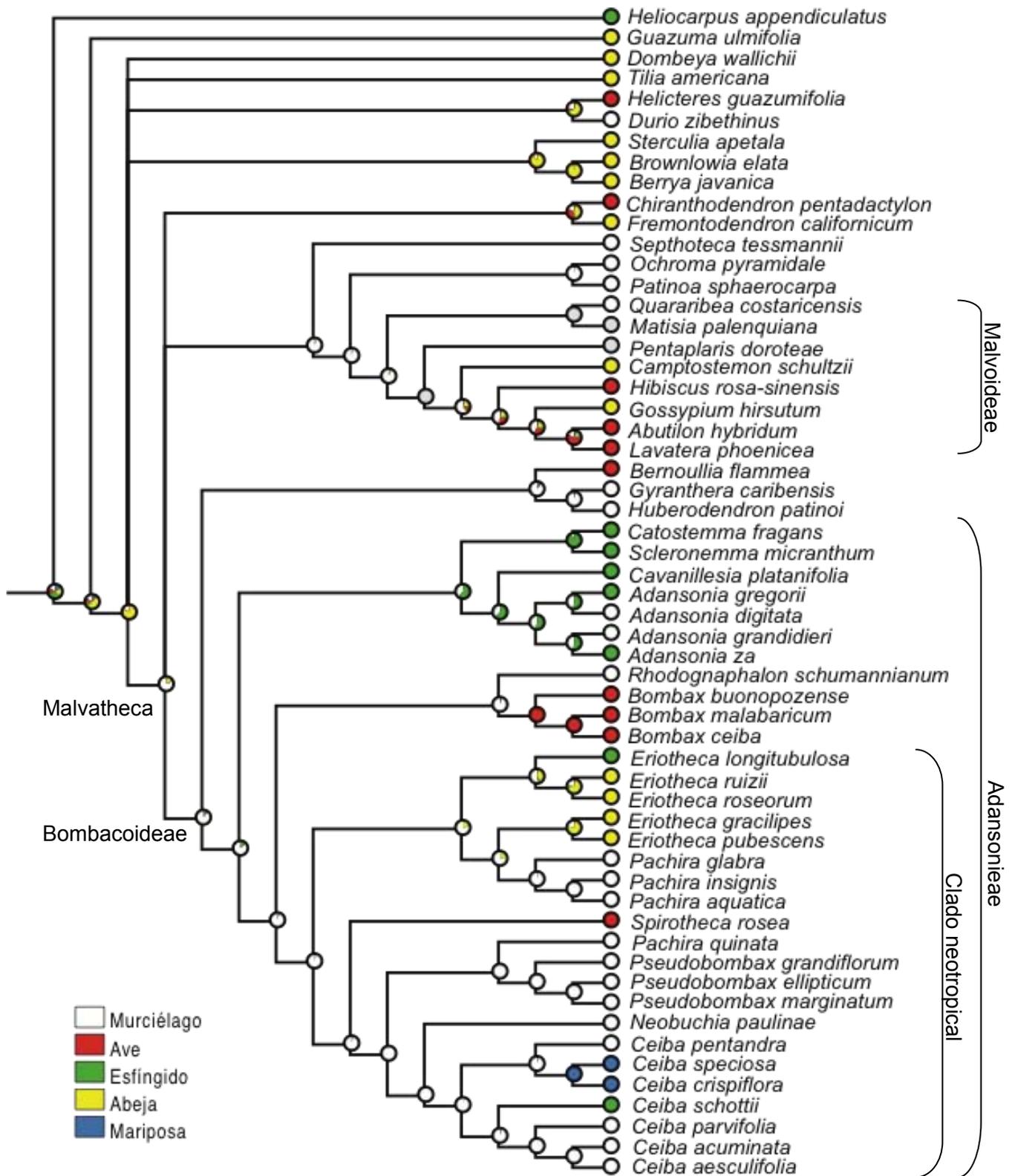


Fig. 10. Reconstrucción de estados ancestrales del tipo de polinizador con método de máxima verosimilitud (Mesquite). Los gráficos de pastel en cada nodo representan los valores de verosimilitud de cada tipo de polinizador.

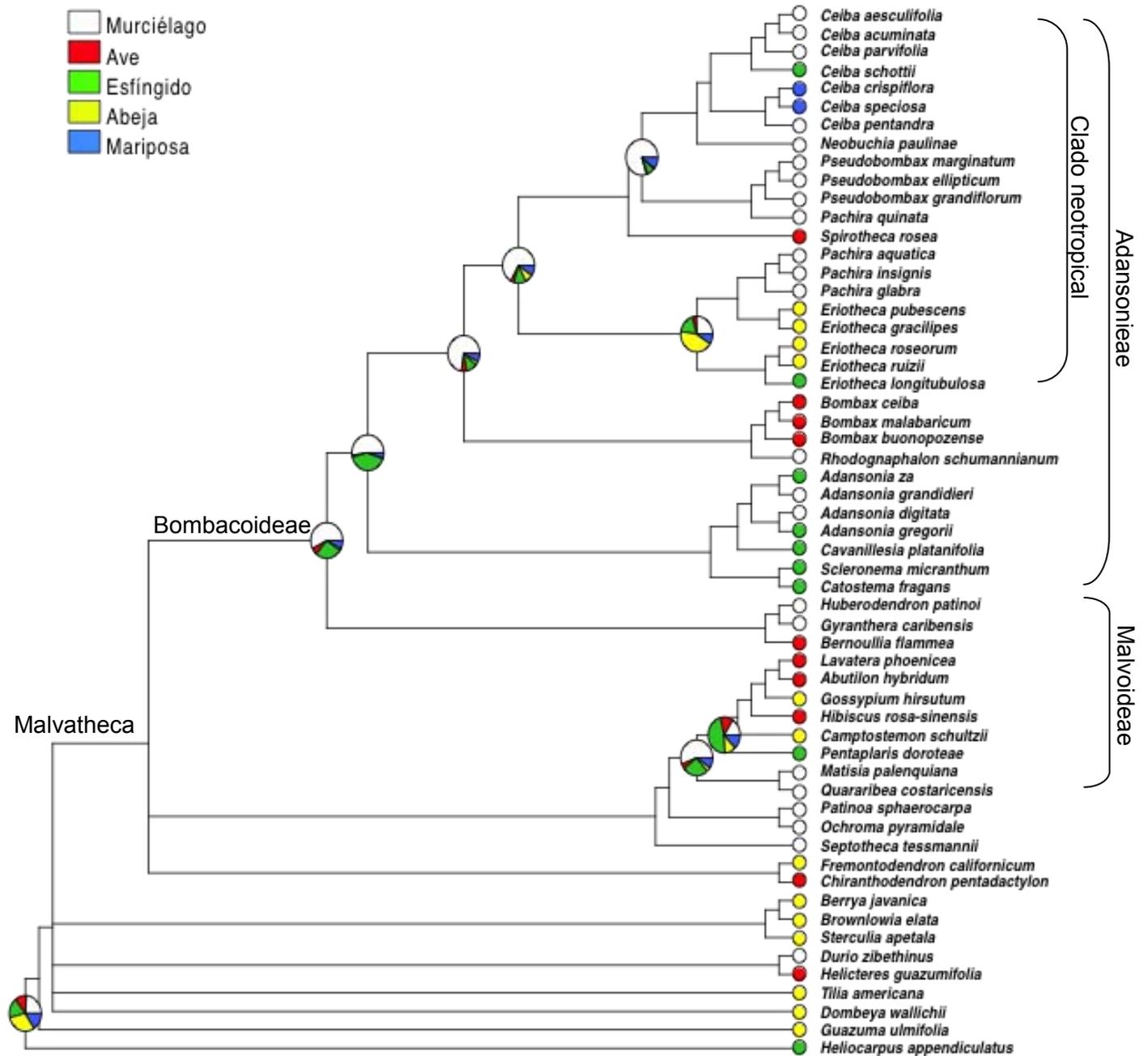


Fig.11. Reconstrucción de estados ancestrales del tipo de polinizador con el método de cadenas de Markov (BayesTraits). Los gráficos de pastel muestran las probabilidades posteriores ancestrales del tipo de polinizador.

7. Asociación entre tasas de diversificación y polinización.

El resultado de los análisis de BiSSE con los métodos de máxima verosimilitud e inferencia bayesiana con cadenas de Markov (MCMC) se muestra en el Cuadro 8. Con el análisis bayesiano se obtiene una distribución de probabilidad de las tasas estimadas en cada generación (Fig. 12). Los resultados de los dos métodos coinciden en que la tasa de especiación es mayor si está asociada a la polinización por murciélago (Cuadro 8). La extinción tiene una tasa similar estando asociada a los dos estados de carácter. Las tasas de transición indican que es mayor la transición de la polinización de murciélago a algún otro polinizador que lo contrario.

Cuadro 8. Resultados de BiSSE. Tasas de diversificación y transición con máxima verosimilitud (MV) y cadenas de Markov (MCMC). 0 = polinización por murciélago; 1 = polinización por otro tipo de polinizador. λ = tasa de especiación. μ = tasa de extinción. q = tasa de transición de estados de carácter.

Método	λ_0	λ_1	μ_0	μ_1	q_{10}	q_{01}
MV (verosimilitud)	0.053	0.007	0.000	0.000	0.043	0.012
MCMC (Probabilidad posterior)	0.063	0.009	0.014	0.007	0.048	0.016

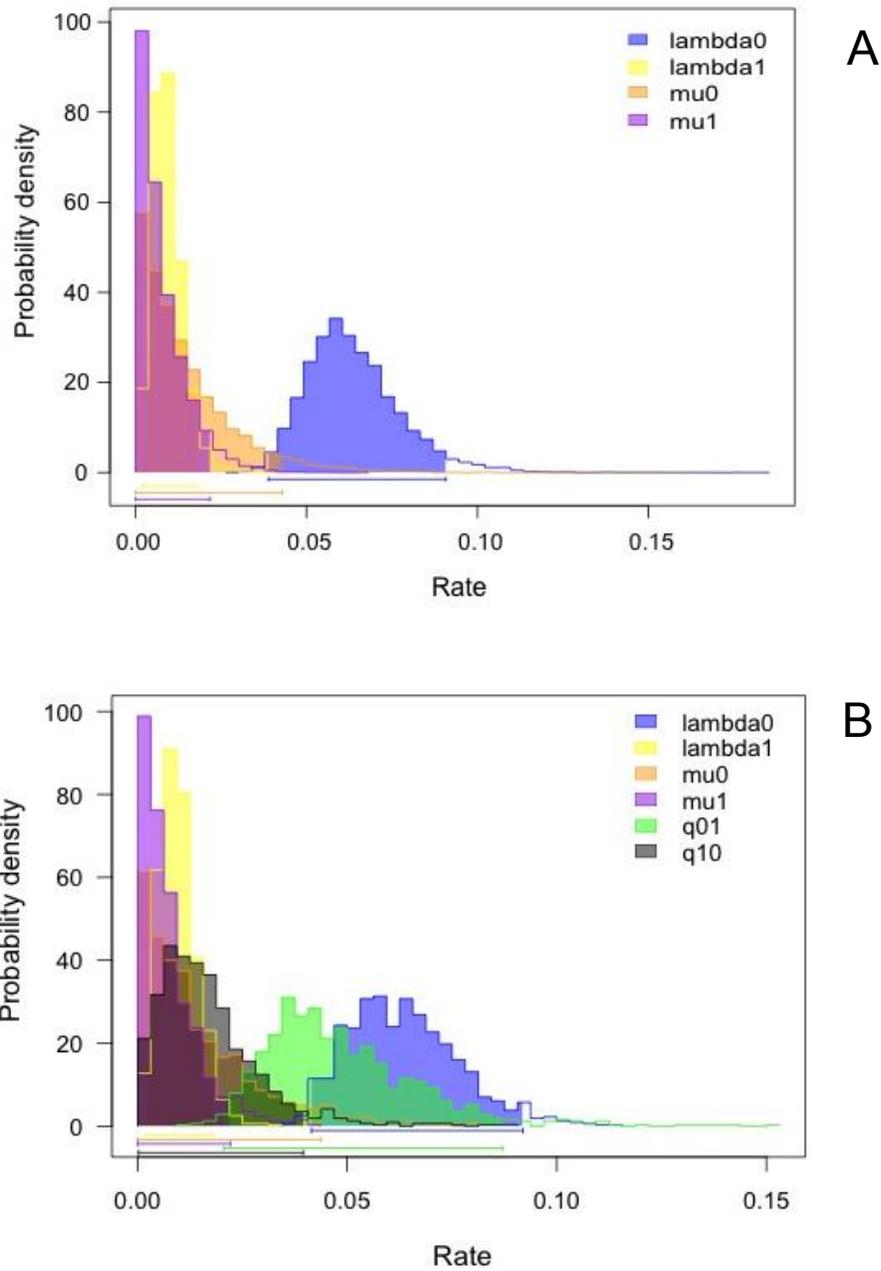


Fig. 12. Resultados de BiSSE. Probabilidad y tasas de especiación (λ), extinción (μ) y de transición de un estado a otro (q). A: los seis parámetros estimados por el modelo. B: tasas de diversificación.

IX. DISCUSIÓN

Relaciones filogenéticas y sus implicaciones evolutivas

La discusión de las relaciones filogenéticas se hará de acuerdo a lo obtenido con la matriz concatenada de los cuatro marcadores, ya que es la que tiene mayor muestreo y los árboles filogenéticos tuvieron mayor resolución, y la hipótesis filogenética bayesiana, debido a que tiene un apoyo más consistente en las probabilidades posteriores (Fig. 7); a menos de que se haga otra indicación.

En este estudio, al igual que en estudios previos (Alverson et al., 1999; Baum et al., 2004; Nyffeler et al., 2005) las relaciones filogenéticas obtenidas entre las subfamilias que componen el grupo Malvadendrina, y en general de Malvaceae *s.l.*, no están del todo resueltas. No obstante, el grupo Malvatheca, constituido por Malvoideae y Bombacoideae, es monofilético según los análisis moleculares de este trabajo y los realizados por Alverson et al. (1999) y Baum et al. (2004). La sinapomorfía propuesta para este grupo son las anteras monotecas, pero, como ya se mencionó, con estudios de desarrollo floral se observó que este carácter ha surgido en las dos subfamilias independientemente; es decir, las anteras monotecas están presentes en Malvoideae y Bombacoideae pero, ya que estos clados no son hermanos, se supone que el carácter tiene un origen independiente en las dos subfamilias (von Balthazar et al., 2004, 2006; Janka et al., 2008), dejando una interrogante de si existen sinapomorfías morfológicas este grupo.

De acuerdo con los análisis filogenéticos de las matrices de cloroplasto y la concatenada, la región nuclear ITS hace que ambas sean contrastantes. Lo que se observa en los resultados obtenidos del cloroplasto, a diferencia de los obtenidos con los cuatro marcadores, es que los géneros *Ochroma*, *Patinoa*, *Matisia*, *Quararibea* y *Septotheca* se ubican en un conjunto que es grupo hermano de Bombacoideae. Esta agrupación coincide

con la delimitación original de Bombacaceae, que ya incluía a estos cinco géneros (Bayer y Kubitzki, 2003). Estudios recientes ubican a Matisieae, que incluye a *Matisia*, *Quararibea* y el género *Phragmotheca* dentro de Malvoideae como grupo hermano de Core Malvoideae (Alverson et al., 1999; Nyffeler y Baum, 2000; Pfeil et al., 2002; Baum et al., 2004). Tal agrupación coincide con los resultados las relaciones obtenidas en el presente estudio.

La ubicación de Fremontodendrae no está clara. Los resultados de Nyffeler et al. (2005) con datos moleculares del cloroplasto indican que Fremontodendrae es grupo hermano de Malvatheca, pero no discuten sobre el apoyo de la morfología dada esa relación de parentesco. Por su parte, von Balthazar et al. (2006) encuentran que el perianto de Fremontodendrae está formado por un sólo verticilo y por esta razón podría formar un grupo fuera de Malvatheca. En este estudio, en el análisis bayesiano de la matriz concatenada, Fremontodendrae aparece sin resolver, formando una politomía Bombacoideae, Malvoideae y Fremontodendrae. No obstante, *Fremontodendron californicum* y *Chiranthodendron pentadactylon* aparecen como hermanos con una alta probabilidad posterior (PP=1), con lo cual se confirma que *Chiranthodendron* no pertenece a Bombacoideae y Fremontodendron no pertenece a Malvoideae, como lo describen Bayer y Kubitzki (2003). Dada la morfología floral de ambas especies y la posición filogenética, Fremontodendrae parece ser un grupo independiente del que se necesita mayor investigación para determinar si es el grupo hermano de Malvatheca (Fig. 7).

Los resultados muestran a Bombacoideae como un grupo monofilético cuyos miembros comparten las hojas palmaticompuestas, a excepción del género *Cavanillesia* que tiene hojas simples que contrastan con las de *Huberodendron*, *Scleronema* y *Catostemma*, que tienen hojas compuestas unifolioladas. Las relaciones dentro de Bombacoideae concuerdan en general con las estimadas por Duarte et al. (2011); sin embargo hay algunas

diferencias importantes. Por ejemplo, el género *Septotheca* está incluido dentro de Bombacoideae (Bayer y Kubitzki, 2003; Baum et al., 2004; Duarte et al., 2001), pero en los análisis del presente trabajo su ubicación es como grupo hermano de Malvoideae y de *Ochroma-Patinoa*. En el trabajo de Duarte et al. (2011), Fremontodendreae se fijó como grupo externo y se incluyeron cuatro especies de *Core* Malvoideae, por lo que *Septotheca* apareció dentro de Bombacoideae, dejando al resto de especies en lo que aquellos autores llamaron *Core* Bombacoideae. *Septotheca* es un género monotípico distribuido en la Amazonía peruana y algunas regiones del territorio amazónico brasileño. *Septotheca tessmannii* es un árbol emergente con hojas simples y con una morfología floral interesante, ya que las anteras están oblicuamente septadas, son vermiformes y sésiles, y dispuestas sobre el tubo estaminal (Ulbrich, 1924; Pennington et al., 2004), lo cual no se observa en ningún otro género de Bombacoideae o Malvoideae. Sin embargo, tiene semejanzas con la organización del androceo de *Ochroma pyramidale* en donde las anteras son también sésiles sobre un tubo estaminal carnososo. *Ochroma* tiene una estructura única en Malvaceae, pues las anteras están aglomeradas y dispuestas espiralmente en cinco lóbulos en la mitad distal del tubo estaminal; en el centro está el gineceo con un estigma dispuesto también en forma de espiral. Por otro lado, *Septotheca* muestra semejanzas con el androceo de *Huberodendron* y *Gyranthera*, pues todas tienen anteras sésiles y alargadas dispuestas alrededor del tubo estaminal corto, del que sobresale el estilo con cinco lóbulos. Sin embargo, *Huberodendron* y *Gyranthera* tienen un tubo estaminal con cinco lóbulos, en cada uno cinco o más anteras y con una sola línea de dehiscencia; en cambio, *Septotheca* tiene numerosas anteras con múltiples septos por los cuales se libera el polen. En estudios previos se ha discutido poco la pertenencia de *Septotheca* en Bombacoideae. Baum et al. (2004) mencionan que *Ochroma-Patinoa*, Matisieae, Fremontodendreae y *Septotheca* tienen anteras sésiles al igual que

Bernoullia, *Huberodendron* y *Gyranthera*, y que por esta razón las anteras sésiles y alargadas son un carácter plesiomórfico en Bombacoideae. A pesar de la falta de información sobre la homología del androceo en estos géneros, es claro que las anteras sésiles, alargadas y dispuestas más bien en forma espiral o convolutas, son una característica compartida por *Ochroma*, *Gyranthera*, *Huberodendron*, *Septotheca* y, según Baum et al. (2004), también *Phragmotheca*. No obstante, la configuración de las anteras de *Septotheca* no está clara, pues Pennington et al. (2004) mencionan que en dicho género las anteras están formadas por “dos células” (microesporangios) mientras que en el resto de los géneros de Bombacoideae las anteras están formadas por “una célula”, descrito de esta manera no queda claro si es que son biesporangiadas, como la mayoría de bombacoides y malvoides, pero si fuera así las anteras de dichas subfamilias estarían formadas por un microesporangio, o si las anteras son bitecadas y tetraesporangiadas. Además, en los trabajos del desarrollo del androceo de *Malvatheca* (von Balthazar et al., 2004, 2006; Janka et al., 2008) no se explica claramente cómo están estructuradas las anteras de *Septotheca*. Para resolver la pregunta de la homología en las anteras, sería necesario obtener material fértil en diferentes estados del desarrollo y hacer un análisis comparado del desarrollo floral.

Dentro de Bombacoideae se han distinguido dos grupos de acuerdo a la organización del androceo: las especies con anteras alargadas sésiles, fusionadas al tubo estaminal desde el receptáculo, y las que tienen anteras pequeñas en el ápice de filamentos libres. Ambos tipos de anteras son monotecas. Los géneros *Gyranthera*, *Huberodendron* y *Bernoullia*, comparten las anteras sésiles alargadas, y forman un grupo definido con todos los marcadores analizados en el presente estudio. A pesar de ser géneros típicos y con alta abundancia en el bosque tropical lluvioso, es notable que cada uno de esos tres géneros contiene pocas especies, tres como máximo. Por otro lado, se forma el clado Adansonieae

(Fig. 7), que incluye a los géneros más diversos y que comparten las anteras monotecas dispuestas en filamentos individuales libres. Dicho clado es reconocido en las filogenias derivadas de todos los marcadores moleculares y está fuertemente apoyado (Fig. 7; Apéndice 4). Dentro de Adansonieae se encuentran los géneros hermanos *Cavanillesia* y *Adansonia*, de distribución neotropical y paleotropical, respectivamente. Ambos son árboles emergentes y deciduos con contrafuertes; tienen un patrón de ramificación similar hasta el ápice, pero *Cavanillesia* tiene inflorescencias en umbela, mientras que *Adansonia* tiene grandes flores solitarias. Otro clado dentro de Adansonieae está formado por los géneros *Scleronema* y *Catostemma*, que tienen inflorescencias cimosas relativamente pequeñas y en forma de brocha. A pesar de ser árboles comunes en el bosque tropical lluvioso amazónico y guayanés, estos géneros son poco conocidos morfológica y ecológicamente. Otro clado es el compuesto por los géneros paleotropicales *Bombax* y *Rhodognaphalon*, ubicados en conjunto como grupo hermano del clado Neotropical formado por el resto de los géneros de Bombacoideae (Fig. 7).

El género de árboles estranguladores *Spirotheca* tiene diferente posición de acuerdo a diferentes marcadores. En el análisis de marcadores del cloroplasto, el género aparece cercanamente relacionado a *Ceiba* y *Neobuchia* (PP = 0.99). El arreglo de los estambres en estos tres géneros es interesante porque se presentan reducciones en el patrón general de las bombacoides: *Spirotheca* tiene cinco filamentos con cuatro tecas retorcidas, biesporangiadas. *Neobuchia*, un género monotípico de Haití y República Dominicana, está descrito con 15 filamentos (Urban, 1902), y *Ceiba* tiene cinco filamentos con dos tecas (*C. speciosa* y *C. crispiflora* tienen un tubo estaminal largo con cinco anteras ditecas sésiles adnadas a él en el ápice) (Gibbs y Semir, 2003). Janka et al. (2008) estudiaron a *C. pentandra* y encontraron que las tecas son biesporangiadas, como todas las demás de

Bombacoideae, pero con la diferencia de que son dos tecas unidas a un filamento. No hay estudios del desarrollo floral de *Spirotheca* o *Neobuchia*, y por lo tanto no se puede saber si un proceso similar de desarrollo de “estambres complejos” ocurra (como describen Janka et al., 2008). Por otro lado, con el análisis de la matriz concatenada *Spirotheca* aparece como grupo hermano del clado de *Pseudobombax* (que incluye a *Pseudobombax*, *Pachira quinata*, *Neobuchia* y *Ceiba*), pero tiene bajo apoyo (PP=0.51).

Bajo esta topología, es necesario suponer dos eventos independientes de reducción en la generación de filamentos, primero en *Spirotheca* y después en *Ceiba*. Esto sería probable si se encuentra que la organización del androceo no es homóloga en estos dos géneros, pues la reducción de los filamentos una sola vez y una reaparición de muchos filamentos (en *Pseudobombax*) parece una posibilidad menos parsimoniosa dado el patrón general de organización del androceo en el grupo.

Sobre el género *Pachira*, los resultados mostrados coinciden con los de Duarte et al. (2011) quienes también encontraron que es un género polifilético, porque *Pachira quinata* está situada como grupo hermano del género *Pseudobombax* (Fig. 7). Algunas diferencias de *Pachira quinata* y las demás especies del género son que ésta especie tiene agujones en el tronco, los pétalos en la parte externa tienen escamas, mientras que el resto de las especies de *Pachira* no tiene; *P. quinata* florece cuando no tiene hojas, una adaptación común de las bombacoides asociadas a bosques tropicales estacionalmente secos, contrastando con el hábitat general de las demás especies de *Pachira* que es en bosque lluvioso y son perennifolias (a excepción de un par de especies de bosques estacionalmente secos o cultivadas), y la presencia de agujones en el tronco, otra característica de muchos géneros de la subfamilia. Además de esto, *Eriotheca* es un género parafilético al haber dos especies agrupadas junto con las demás especies de *Pachira*, excepto con el análisis de la región

trnK-matK (Apéndice 4). Duarte et al. (2011) también obtuvieron ese resultado, discutiendo que *Pachira* está anidado dentro de *Eriotheca* y que se necesita un mejor muestreo para aclarar las relaciones entre estos dos géneros; sin embargo, dado el alto apoyo de las relaciones de *Pachira* y *Eriotheca* (PP=0.99), una posibilidad sería fusionar los dos géneros en uno solo. No obstante, es importante resaltar que las diferencias entre los dos géneros encontradas por Robyns (1963) y Duarte et al. (2011), cuando distinguen a *Eriotheca* de *Pachira*, es el tamaño de las flores y el número de verticilos del androceo (*Eriotheca* con flores más pequeñas y un verticilo, comparado con las enormes flores y dos verticilos de *Pachira*).

Una investigación más integrativa sobre las relaciones filogenéticas de Bombacoideae y Malvatheca debe desarrollarse ampliando el muestreo taxonómico y de marcadores moleculares, sobre todo de los géneros pobremente representados y estudiados. Sin embargo, esta baja representación coincide con los géneros restringidos a zonas poco exploradas, como el caso de *Neobuchia* (Haití y República Dominicana), o de géneros de árboles emergentes de más de 40 m de altura para los que se ha dificultado la obtención de material fértil, como el caso de *Huberodendron* y *Gyranthera*, además de que algunos presentan eventos de floración distanciados en el tiempo, como ocurre en muchas especies de *Catostemma* con floración cada dos años (Sanoja, 2004). Adicionalmente, sería necesario explorar la información morfológica que apoye las relaciones filogenéticas dentro de estos grupos.

Tiempos de divergencia y evolución de la polinización

Calibraciones y registro fósil de Bombacoideae

Se utilizaron dos fósiles de polen asignados a la subfamilia Bombacoideae: *Jandouforia seamrogiformis* (33.9 Ma, Eoceno) usado para calibrar el nodo troncal de *Catostemma-Scleronema*, y *Bombacacidites nacimientoensis* (56 Ma, Paleoceno) empleado para calibrar el nodo corona de Malvatheca (Fig. 8). Esta asignación se debe a que se desconoce en qué punto de la rama desde la divergencia de Malvatheca hasta el nodo corona de Bombacoideae pertenece el registro del polen. La asignación responde a una medida conservadora de la aplicación de este registro como calibración (Magallón, 2004). Para calibrar la raíz del árbol se utilizó el intervalo de credibilidad estimado de la edad del grupo corona de Malvales (95% HPD: 62.9-93.27 Ma), obtenido de un estudio en donde se estimaron los tiempos de divergencia de las angiospermas (Magallón et al. no publicado). Se tiene confianza en que estos puntos de calibración puedan dar información realista sobre la edad de Bombacoideae, pues existen numerosos registros del polen fósil del género *Bombacacidites* (>25 registros de morfoespecies) y varios estudios coinciden en que la presencia de este tipo de polen es abundante en el Paleoceno (65.5-55.8 Ma; Germeraad et al., 1968; Axelrod, 1970; Muller, 1981; Pardo-Trujillo y Roche, 2009; Carvalho et al., 2011). Wolfe (1975) describe el registro más antiguo de *Bombacacidites* en el Maastrichtiano (Cretácico tardío); sin embargo, no se utilizó esta edad debido a que no hay más evidencias que apoyen la existencia de *Bombacacidites* en ese tiempo. Del polen *Jandouforia seamrogiformis* hay registros con abundante material en el Oligoceno (33.9-23 Ma) y algunos estudios coinciden en que esta edad es la primera aparición del morfotipo y que puede ser asignado al género viviente *Catostemma* (Germeraad et al., 1968; Graham y Jarzen, 1969; Helenes y Cabrera, 2003; Jaramillo et al., 2011). Cabe hacer mención de la existencia de un fósil de flor del Eoceno, *Eriotheca prima*, asignado al género *Eriotheca* (detalles en Mello et al., 2002). En este trabajo no se utilizó esta edad debido a que la flor está asignada a un

género parafilético, por lo que la edad tendría que calibrar el nodo del grupo corona del clado Neotropical. En cambio, si *Eriotheca* fuera monofilético, la edad podría calibrar el nodo troncal de *Eriotheca* y la asignación de la edad sería más precisa.

Es importante mencionar que existen registros de fósiles de madera de Malvaceae *s.l.* y Bombacacoideae pertenecientes al Maastrichtiano, Cretácico tardío, pero que no se tomaron en cuenta para las calibraciones de este trabajo, puesto que carecen de características anatómicas importantes como las células en teja de las malváceas (Wheeler, 1987; Wheeler y Lehman, 2000; Estrada-Ruiz et al., 2010). Además, algunos registros están asignados a las subfamilias Tilioideae y Sterculioideae, por lo que la utilización de esas edades en este estudio podría haber sido arriesgado para obtener valores confiables de edad, dado que no está resuelta la relación entre dichas subfamilias y Malvatheca. Teniendo en consideración el registro de polen y madera fósil de Malvaceae *s.l.* en el Cretácico, es posible que este grupo se haya originado en ese tiempo, pero que esté representado por fósiles con caracteres ancestrales que no se reconocen en los taxa vivientes. Un aporte importante al conocimiento de la evolución de la familia sería mediante el desarrollo de un estudio filogenético de la familia, que incluyera un amplio muestreo de las subfamilias y que integrara la información de los fósiles, ya que existe un gran registro de ellos (madera, polen, hojas y flores) en casi todos los periodos estratigráficos a partir del Cretácico tardío.

Las edades estimadas

De acuerdo con los resultados del análisis efectuado en este estudio, el tiempo estimado de divergencia del grupo troncal de Bombacoideae es hace 58.53 (56-65.2) Ma y del grupo corona hace 47.37 (41.75-53.74) Ma, entre el Paleoceno y el Eoceno (Cuadro 4; Fig. 8).

Varios estudios previos han estimado la edad de Bombacoideae, y en general de Malvaceae. Uno de ellos es el de Axelrod (1970), en el que supone que dado el registro fósil y la distribución geográfica, las tribus de la entonces familia Bombacaceae ya estaban formadas en el Paleoceno, como mínimo. Por otro lado, Wikström et al. (2001) realizaron un análisis de reloj molecular en el que incluyeron representantes de diversas familias de angiospermas, incluida la familia Bombacaceae s. s. En ese estudio, la edad estimada para Bombacaceae s. s. fue demasiado reciente, en el Oligoceno, lo que es un poco contradictorio pues hay varios fósiles pertenecientes al grupo que son considerablemente más viejos (Taylor, 1990; Pardo-Trujillo y Jaramillo, 2002; Pardo-Trujillo y Roche, 2009). El estudio de Carvalho et al. (2011), en donde estiman las edades de Malvoideae y Bombacoideae a partir del registro fósil, indican que Bombacoideae se originó en el Paleoceno. Sin embargo, dado que el registro más antiguo de Malvatheca es un polen fósil del Maastrichtiano de Nueva Jersey, Estados Unidos, asignado a Bombacoideae (Wolfe, 1975), y que se han encontrado fósiles del Cretácico asociados a malváceas, las divergencias entre los clados mayores de la familia Malvaceae s.l. pudieron haber sucedido antes del Cenozoico.

No obstante lo anterior, el registro de Malvoideae es escaso; en la estimación de la edad de dicho clado, Carvalho et al. (2011) encontraron que es más antigua que aquella estimada por Koopman y Baum (2008). Probablemente esto se debe a que los puntos de calibración que utilizaron son fósiles muy jóvenes. Al respecto, los resultados del presente estudio indican para Malvoideae una edad corona de 43.25 Ma, en el Eoceno (Cuadro 4; Fig. 8). La transición entre Paleoceno y Eoceno fue un tiempo de temperaturas altas, lo que probablemente favoreció la diversificación de muchos grupos de plantas, por ejemplo la familia Arecaceae (Carvalho et al., 2011), y algo similar pudo ocurrir en el caso de Malvaceae s. l.

Además, se ha encontrado polen fósil de Bombacoideae en Antártica, en donde se ha estimado que fue muy abundante en el Eoceno temprano, hace 53.6-51.9 Ma (Pross et al., 2012) y formaba parte de una vegetación similar a la del bosque tropical lluvioso (Contreras et al., 2013), por lo que puede suponerse que el origen de Bombacoideae a partir del ancestro común de Malvatheca fue en el Paleoceno o un poco antes, en el Maastrichtiano. Particularmente, se ha sugerido un origen neártico tropical de Bombacoideae (Wolfe, 1975; Taylor, 1990), desde donde pudo haberse dispersado hacia el sur y diversificar durante el tiempo de aumento en las temperaturas entre el Paleoceno y el Eoceno, teniendo lugar entonces la diversificación del clado de las bombacoides y siendo probablemente componentes importantes de la vegetación de bosques tropicales desde entonces.

En el análisis de Duarte et al. (2011), *Rhodognaphalon* aparece como hermano de un clado que incluye a los géneros que integran el clado neotropical más *Bombax* (Fig.4). En cambio, en el presente estudio aparece como hermano de *Bombax* (Fig. 8), igual que en la filogenia de J. F. Carvalho-Sobrinho, Universidade Estadual de Feira de Santana, Brasil (Com. pers.). Por lo tanto, es interesante considerar su distribución geográfica, ya que ambos géneros son paleotropicales y el grupo hermano de ellos es todo el clado neotropical (Fig. 8). Probablemente hubo dos eventos independientes de dispersión hacia el Viejo Mundo, ambos en el Eoceno (el de *Adansonia* hace alrededor de 39 Ma y el de *Bombax-Rhodognaphalon* hace 34 Ma). Se ha sugerido que la dispersión del neotrópico hacia el paleotrópico pudo ser por medio de dispersión a larga distancia a través del Océano Atlántico o geodispersión boreotropical del ancestro de *Adansonia* (Baum et al., 2004). En un estudio previo ya se propuso una dispersión de larga distancia de *Ceiba pentandra* entre el neotrópico y África (Dick et al., 2007), pero ésta tuvo que haber sucedido en el Mioceno. Una posibilidad es que la dispersión de larga distancia fuera por medio del fruto, pues en la mayoría de las especies

de Bombacoideae es indehiscente si hay alta la humedad, flota en el agua, el kapok es hidrófobo y las semillas están cubiertas por corcho, lo cual facilita la flotación (Cordero y Boshier, 2003; Dick et al., 2007). Observando el patrón de distribución actual de las bombacoides, se sugiere que una investigación biogeográfica utilizando métodos de reconstrucción de áreas ancestrales (Pagel, 1999; Yu et al., 2010) podría aclarar la biogeografía del grupo.

Evolución de la polinización

Es importante notar el efecto que podría haber tenido la falta de observaciones confirmadas de polinizadores de algunas especies (Categoría 3, Apéndice 3) únicamente en las especies más tempranamente divergentes, cuya información es crítica para los análisis de reconstrucción de estados ancestrales; sin embargo se tiene confianza en la cantidad y calidad de información morfológica obtenida para obtener una predicción del síndrome floral.

En este trabajo, los resultados de los análisis de reconstrucción del tipo de polinizador sugieren que el ancestro de Bombacoideae era polinizado por murciélagos (Cuadro 7; Figs. 10 y 11). Estudios previos sobre la evolución del androceo de bombacoides y malvoides han sugerido, en cambio, que el ancestro común de ambos clados era polinizado por insectos, y que el origen de los estambres en Bombacoideae, a partir de un androceo conformado por anteras sésiles, surgió por una transición hacia la polinización por murciélago (Baum, 1995; von Balthazar et al., 2006; Janka et al., 2008).

Sin embargo, dado que existe una gran plasticidad en el androceo, y dado que géneros como *Ochroma* y *Patinoa* son polinizadas por murciélagos, aun teniendo anteras sésiles, la polinización por murciélago pudo originarse de forma independiente en Malvatheca (Fig. 7). Los géneros *Ochroma*, *Septotheca*, *Huberodendron* y *Gyranthera* comparten una

organización floral con anteras sésiles dispuestas sobre un tubo estaminal robusto, el estilo y estigma resistentes, la corola y el cáliz en forma de tubo y con coloración blanca. Ya que estos géneros son los más cercanos a la raíz en Malvoideae y Bombacoideae, se sugiere en este estudio que esa es la disposición floral ancestral y que corresponde a un síndrome de polinización por murciélago.

No obstante, se debe considerar la edad estimada del origen de los murciélagos nectarívoros (Phyllostomidae: 35 Ma, Rojas et al., 2011; Pteropodidae: 24 Ma, Phyllostomidae: 22 Ma, Teeling et al., 2005) ya que podría ser menor que la edad estimada en este estudio para las bombacoides. Esta discordancia en edades ya fue observada por Fleming et al. (2009), quienes encontraron una estrecha relación entre Bombacoideae y la polinización por murciélago, destacando que en este grupo de plantas, y en otros (Caryocaraceae, Musaceae y Lythraceae), hay una gran diferencia en las edades de origen inferidas para dichos grupos de plantas y sus polinizadores, lo que les llevó a concluir que la polinización ancestral fue por otro tipo de polinizador. No obstante, el origen de las anteras con filamentos, hace alrededor de 41 Ma (Fig. 10), probablemente esté relacionado con la polinización por murciélago.

Alternativamente, la propuesta organización floral ancestral pudo haber derivado de una polinización por otro vertebrado diferente al murciélago, por ejemplo las aves o mamíferos no voladores. Las aves percheras, cuya estimación de origen es de 66.8 Ma (Jetz et al., 2012) pudieron tener un papel importante en la polinización del ancestro de las bombacoides; sin embargo, las aves nectarívoras son más recientes y no coinciden con el origen de las bombacoides (. Otra posibilidad es la polinización por mamíferos no voladores. Hay reportes de polinización efectiva de ellos en *C. pentandra*, especies de *Adansonia*, *Ochroma* y *Quararibea* (Janson, 1981; Baum, 1995). La polinización por estos mamíferos en los géneros

de *Malvatheca* más tempranamente divergentes indicaría una posibilidad más parsimoniosa que la polinización por las aves en el ancestro de las bombacoides.

En un estudio de polinización de *Pseudobombax ellipticum*, Eguiarte et al. (1987) mencionan que los murciélagos nectarívoros no son los únicos polinizadores de esa especie y que tres características de las flores sugieren que las aves tienen o han tenido un papel importante en la polinización (y evolución) de las flores de esta especie: 1) el color rojo de algunos morfotipos, característico de flores polinizadas por pájaros (el blanco de otros morfotipos es característico de flores polinizadas por murciélagos; Faegri y van der Pijl, 1979); 2) el máximo de producción de néctar por la mañana, es decir, después de la visita por murciélagos; y 3) la producción diurna de néctar. Esto sugiere dos posibles rutas; una en la que el cambio de color blanco a rojo y la producción de néctar extendida más tiempo sean adaptaciones a una polinización generalista, debida probablemente a fluctuaciones en las poblaciones de murciélagos nectarívoros; y otra ruta es que las adaptaciones de coloración rojiza y de producción de néctar extendida sean ancestrales y en el presente permanezca el polimorfismo debido a que las aves, como polinizadores secundarios, tienen y han tenido un papel importante en la polinización. Esto indicaría que en un momento de la historia evolutiva hubo una transición hacia la antesis nocturna y la coloración blanca, obedeciendo a una presión selectiva ejercida por los murciélagos.

En una revisión de síndromes de polinización y transiciones, Rosas-Guerrero et al. (2014) explican que las aves son los principales polinizadores secundarios de flores con síndrome de polinización por murciélago. Por ejemplo, ellos mencionan que la asociación entre polinizadores secundarios fue de “flores de ave” para “flores de murciélago”, y encontraron que hay una relación directa entre polinizadores primarios y secundarios, y que estos últimos corresponden frecuentemente al polinizador ancestral.

También se han hecho estudios de transiciones de polinizador partiendo de las características intermedias del síndrome floral. Por ejemplo, en Gesneriaceae hay especies con síndrome de murciélago, pero que son polinizadas por colibríes (SanMartín-Gajardo y Sazima, 2005). Por lo tanto, ellos mencionan que esta es una transición de ave a murciélago que aún no se ha definido completamente. En Malvoideae, ocurre un caso similar en especies de *Abutilon*, con polinización por aves y murciélagos (Buzato et al., 1994), y en Bombacoideae también sucede algo similar en el género *Spirotheca*, pues Gibbs y Alverson (2006) observaron que hay especies que tienen antesis nocturna, pero que las flores permanecen abiertas hasta la mañana siguiente, y en este tiempo los pétalos cambian de color blanco rosado a un rojo intenso, por lo que sugieren que probablemente su polinizador sea nocturno por el hecho de que las flores tienen olor en *S. salmonea*, y los polinizadores secundarios sean aves. Estos caracteres “intermedios” en el síndrome de polinización, como en *Spirotheca salmonea*, o polimorfismos en *Pseudobombax ellipticum*, presentes en general en las bombacoides, donde las especies tienen más de un polinizador, pueden indicar cómo ha sido la ruta de evolución de la polinización en el grupo y que en el presente puede ser observada a través del traslape de características. Un caso particular se estudió con un par de especies hermanas de *Burmeistera* (Campanulaceae), en donde una especie es polinizada únicamente por murciélagos y la otra por aves, concluyendo que la especialización morfológica ha favorecido la especiación, gracias a que ha habido una transición de polinización de ave hacia murciélago (Muchhala, 2003).

von Balthazar et al. (2004), en su estudio de desarrollo floral de Malvoideae, señalan que *Core Malvoideae* produce un número mayor de anteras (aprox. >50) que *Matisieae* (aprox. <50), y sugieren que ello puede deberse a la polinización por abeja. El número mayor de anteras significa una mayor producción de polen, y dado que un gran número de géneros

de Malvoideae son polinizadas por abejas, esta relación sería razonable, teniendo por el otro lado a las especies de Matisieae que son polinizadas por murciélagos, y requieren flores con anteras sésiles y tubo estaminal grueso para soportar el impacto del forrajeo de los polinizadores. Dado que Matisieae es el grupo que ha diverdigo más temprano en Malvoideae, y dado que la polinización y la estructura del androceo en dicho grupo corresponden al síndrome de polinización por murciélago, la sugerencia de este tipo de polinización como la ancestral en Malvoideae parece más probable que la transición de insecto a murciélago (Figs. 10 y 11).

Otro escenario al respecto de la edad y la polinización, y acorde a la hipótesis de que los polinizadores ancestrales fueron insectos, específicamente esfíngidos, es en el que la polinización ancestral de Malvatheca fuera por aves y hubiera ocurrido una transición a esfíngido. Esta hipótesis está apoyada en la polinización por esfíngido de flores en forma de brocha pero pequeñas, como las de *Scleronema* y *Catostemma*, e indica que pudo haber una nueva transición hacia la polinización por murciélago cercana al origen de los murciélagos nectarívoros, entre el Eoceno y el Oligoceno (Baum, 1995; von Balthazar et al., 2006; Janka et al., 2008). Debe recordarse que hay una probabilidad de 0.4, según la reconstrucción bayesiana, de que los polinizadores ancestrales de Adansonieae hayan sido esfíngidos (Cuadro 7; Figs. 10 y 11). No obstante, son necesarios más estudios de polinización en Malvatheca donde se evalúen directamente las transiciones que pudieron haber tenido lugar y relacionarlas con la evolución del androceo, tomando en cuenta la importancia de estudiar a los géneros más tempranamente divergentes, pues pueden dar información clave acerca de la evolución de la polinización en este grupo.

Diversificación y polinización por murciélagos

Tasas de diversificación

En la discusión acerca de las tasas de diversificación se va a tratar a *Pachira* y a *Eriotheca* como grupos separados para simplificar la discusión. El que no sean monofiléticos no afecta en la interpretación de los cambios en las tasas de diversificación, dado que el cambio ocurre en el nodo troncal de los dos grupos. Además, *Pachira* se va a tratar como un grupo íntegro, dejando a *P. quinata* como un grupo aparte.

Los resultados de la estimación de tasas de diversificación indican que existen dos cambios significativos en ellas, uno en el clado Eumalvoideae (incluye a las tribus Hibisceae, Malveae y Gossypieae) y otro en el grupo troncal de *Pachira* y *Eriotheca* (Fig. 9), ambos derivados de la disminución en la tasa neta de diversificación (r), dada por aumento en la especiación (λ) en Eumalvoideae y una disminución en el nodo de *Pachira* y *Eriotheca*, así como un aumento en la extinción (μ) en ambos grupos (Cuadro 5), ocurrido hace alrededor de 34 Ma. En ese tiempo, en la transición del Eoceno al Oligoceno, hubo un decremento en la diversidad de especies en el trópico causada por una disminución en la temperatura global (Jaramillo et al., 2010). Sin embargo, ya que los cambios en la diversificación fueron derivados de un aumento en la especiación y en la extinción, no pueden relacionarse con las bajas temperaturas que causaron extinción, a pesar de que hayan ocurrido en el mismo periodo. Por lo tanto, el incremento en las tasas de especiación y extinción pudo deberse a adaptaciones ecológicas características de cada grupo.

El aumento en las tasas de especiación y extinción de Eumalvoideae ($\lambda = 3.0$; $\mu = 2.9$ especies por millón de años) probablemente se deba a un conjunto de características que reúne este grupo, como los tiempos generacionales cortos por ser hierbas, la capacidad de autopolinización (Li et al., 2012), tienen una mayor tasa de evolución molecular (Alverson et

al., 1999), con características de especies pioneras y malezas (Gibbs et al., 2003; Ramsey et al., 2003; Ruan et al., 2011). Un ejemplo de ello es el estudio de Seed et al. (2006) en donde se hace una comparación entre *Hibiscus trionum* var. *vesicarius*, una especie nativa de Australia, *H. trionum* var. *trionum*, una maleza introducida en el mismo país (previamente estudiada por Ramsey et al. 2003), concluyendo que ésta última tiene menor depresión por endogamia que la especie nativa, probablemente debido a que ha desarrollado alta autocompatibilidad por ser introducida. Particularmente, dentro de Eumalvoideae se destaca la curvatura del estilo de forma facultativa si la planta no se ha fertilizado por polinización cruzada, lo que promueve la autopolinización tardía cuando hay baja actividad de polinizadores (Ruan et al., 2009). Dicha curvatura del estilo ha sido explicada como “dependiente del contexto”, es decir, únicamente el estilo se curva para tocar las anteras y autopolinizarse cuando no ha habido actividad de polinizadores; por lo que esta capacidad ha sido atribuída a cambios en la distribución ecológica (colonización de nuevos hábitats) y hábito (de arbóreo a herbáceo), y está relacionada con una radiación adaptativa del grupo (Ruan et al., 2011). Por lo tanto, la evolución hacia un sistema autocompatible pudo haber favorecido la especiación en esta subfamilia. Además, la polinización en casi todas las especies de Malvoideae es por colibríes e insectos diurnos, y sólo en Matisieae la polinización es por murciélago, lo cual es interesante debido a que las especies de Matisieae son árboles y se encuentran filogenéticamente ubicados dentro de un grupo de divergencia temprana en relación con el resto de Malvoideae. Cabe mencionar que existe una considerable probabilidad (PPA= 0.47; Fig. 11), mayor que el resto de los tipos de polinizador, de que el ancestro de Core Malvoideae fuera polinizado por esfingido, y dada la gran diversidad de especies en el grupo, podría suponerse que ha habido varios eventos de transición de polinizadores que pueden estar involucrados con la diversificación dentro del

grupo, particularmente en Eumalvoideae. Sin embargo, un estudio enfocado especialmente en la evolución de la polinización de este grupo aclararía los procesos evolutivos que han tenido lugar para originar la alta riqueza de especies que tiene Eumalvoideae.

En cuanto a la tasa de diversificación del grupo troncal del nodo troncal de *Pachira* y *Eriotheca* ($\lambda=0.8$, $\mu=0.7$ especies por millón de años; Fig. 9), el cambio detectado está dado por una disminución en la especiación y disminución en la tasa de extinción con respecto a la tasa general del árbol filogenético ($\lambda=1.2$; $\mu=0.005$; Cuadro 5). Es de notar que aun teniendo esta alta tasa de extinción, la tasa de especiación sigue siendo mayor (pero la diferencia es pequeña) y por esto, la tasa neta de diversificación (r) es baja. Dicho cambio en las tasas podría ser explicado por las características ecológicas que tiene cada uno de estos dos grupos. Es interesante observar que la tasa de recambio (ε), o extinción relativa, en *Pachira* y *Eriotheca* ($\varepsilon= 0.97$ especies por millón de años) es un poco menor a la de Eumalvoideae ($\varepsilon=0.98$), lo cual es notable ya que uno es un grupo de árboles y el otro de hierbas, por lo que se esperaría una tasa de recambio alta para las hierbas debido a que tienen tiempos generacionales más cortos y tasa de evolución molecular más alta, pero no así los árboles (Smith y Donoghue, 2008).

Eriotheca es el único grupo de Bombacoideae en el que el polinizador efectivo son abejas (Oliveira et al., 1992); además, sus flores son más pequeñas que las del resto de las bombacoides, y aún más interesante, algunas de sus especies presentan sistema de reproducción apomíctico (Martins y Oliveira, 2003). También contiene especies poliploides, específicamente tetra- y hexaploides (Mendes-Rodrigues et al., 2005; Marinho et al., 2013). Este tipo de sistema genético puede estar asociado a la diversificación (Soltis et al., 2009). *Pachira* es el grupo con mayor número de especies del clado; está caracterizado por tener grandes flores en forma de brocha que son polinizadas por murciélagos. De manera similar a

Eriotheca, algunas especies de *Pachira* tienen un sistema reproductivo diferente al resto de las bombacoides, pues presentan un sistema mixto de reproducción, en el cual la autopolinización es efectiva al producir fruto por la fertilización con polen de la misma planta (Fuchs et al., 2003). Además, en *Pachira glabra*, cultivada en África, también se ha reportado apomixis (Oliveira et al., 1992). La mayoría de las especies de Bombacoideae tienen sistemas de autoincompatibilidad tardía y sólo se ha observado en *Ceiba pentandra* (Quesada et al., 2004; Lobo et al., 2005; Lobo et al., 2012), en *Cavanillesia platanifolia* (Bawa, 1992; Murawski y Hamrick, 1992) y en *Pachira quinata* (Fuchs et al., 2003) un sistema mixto. Se ha supuesto que la colonización de nuevas regiones y la habitación de sitios fragmentados y perturbados facilitan la capacidad de algunas plantas para tener sistema reproductivo mixto, debido a que necesitan garantizar el éxito reproductivo en ausencia de los polinizadores efectivos y poblaciones fragmentadas donde no existe transporte de polen (Murawski y Hamrick, 1992). Este caso podría haber ocurrido en *Ceiba pentandra*, ya que ha tenido una dispersión a través del Océano Atlántico y colonizó muchas regiones del Viejo Mundo (Dick et al., 2007), y *Cavanillesia platanifolia*, pues está presente en hábitats con severa fragmentación y las poblaciones están decreciendo (Bawa, 1992; Murawski y Hamrick, 1992). Es probable que mezclar el sistema de reproducción (autofertilización y fertilización cruzada) y cambiar de polinizador, haya sido una forma de adaptación a condiciones adversas en *Pachira* y *Eriotheca*, respectivamente, ya que esto permite el aseguramiento reproductivo (Murawski y Hamrick, 1992; Ruan et al., 2009).

Aunado a esto, la dispersión de algunas especies de *Pachira* distribuidas en pendientes está dada por la producción de kapok (fibras que envuelven a las semillas), mientras que otras especies, generalmente riparias, producen frutos con vesículas de aire que pueden flotar en el agua. La forma de dispersión anemófila entre las Bombacoideae en

general se mantiene; los únicos géneros que cambian este patrón son *Catostemma*, que tiene semillas con arilo dulce y son dispersadas por los mamíferos que se alimentan de ellas, y especies de *Pachira*, en donde los frutos con vesículas de aire pueden dispersarse por agua.

Por otro lado, Murawski et al. (1990) indican que el sistema reproductivo puede ser relacionado con el estatus sucesional en las bombacoides, porque esta familia parece poseer muchos ejemplos de especies de sucesión temprana (o *gap species*; por ejemplo, *Cavanillesia*, *Ceiba* y *Ochroma*). Sanoja (2004) también encuentra este patrón en *Catostemma lemense*, una especie de Venezuela. Una posibilidad es que esta capacidad de habitar lugares fragmentados y de ser árboles de sucesión temprana, haya estado involucrada con el recambio de especies. Aunado a esto, la reconstrucción de estados ancestrales con inferencia bayesiana detectó que el probable polinizador del nodo troncal de *Pachira* y *Eriotheca* fue abeja (Fig. 11), lo cual podría indicar que existió ese tipo de polinización en el ancestro común de ambos grupos durante el Oligoceno (26 Ma; Fig. 8).

Otro aspecto importante en la ecología de *Pachira* y *Eriotheca*, es *Pachira* habita principalmente bosques tropicales lluviosos, en cambio, la mayoría de las bombacoides son habituales de bosques tropicales estacionalmente secos, especies que tienen adaptaciones interesantes como el almacenamiento de agua en el troco que le da la apariencia de estar hinchado (Bayer y Kubitzki, 2003; Duarte et al., 2011; Carvalho-Sobrinho et al., 2014).

Los resultados del análisis de BiSSE (Cuadro 8 y Fig. 12) sugieren que la polinización por murciélago aumenta la tasa de especiación ($\lambda_0 = 0.06$), a diferencia de la especiación asociada a cualquier otro polinizador ($\lambda_1 = 0.009$). La idea de la especiación promovida por los polinizadores sugiere que la especialización a polinizadores diferentes crea una barrera reproductiva entre las poblaciones (“aislamiento floral”). Sin embargo, la variación de

caracteres o características fenológicas puede promover cambios en el síndrome de polinización y en la transición de polinizadores, y por consiguiente crear barreras reproductivas (Muchhala, 2003).

Baum (1995) señala que todas las poblaciones de Madagascar que comprenden más de una especie de baobab tienen floración escalonada, sin sobrelaparse ninguna especie. Lobo et al. (2003) hicieron la misma observación en el caso de especies de *Ceiba*, *Pseudobombax*, *Pachira* y *Quararibea*, en Costa Rica. Asimismo, Baum (1995) indica que este patrón de floración sugiere que se está presentando desplazamiento de caracteres. Si esto es lo que está ocurriendo, entonces la competencia entre las especies de Bombacoideae por la polinización de los murciélagos estaría promoviendo una variación en la fenología y, por lo tanto, estaría generando aislamiento reproductivo y especiación. En los baobabs de Madagascar puede suceder así con la polinización por murciélago y no por la de esfíngido, descrita por Baum en el mismo trabajo como exclusiva de cuatro especies de baobabs, porque si fueran exclusivas de estos insectos, podría sobrelaparse la floración de las especies de baobab polinizadas sólo por murciélagos.

Es posible que la transición de ave a murciélago pueda estar involucrada en la diversificación de las bombacoides, pero se necesita más conocimiento de la polinización de estas especies para probar este supuesto. Además, también es necesaria una mayor comprensión de los patrones de polinización, sistemas de incompatibilidad y fenología que están involucrados en especies simpátricas de bombacoides para aclarar el papel que los polinizadores han tenido y están teniendo sobre la dinámica de especiación del grupo.

X. CONCLUSIONES

1) Los análisis muestran alto apoyo para la monofilia del clado Malvatheca, conformado por los clados Fremontodendreae, Bombacoideae, Malvoideae, un grupo formado por *Ochroma* y *Patinoa*, y *Septotheca*. Estos últimos géneros no están asignados a una subfamilia pero representan grupos bien definidos por su morfología, principalmente floral, y podrían tratarse como grupos independientes.

2) La subfamilia Bombacoideae es un grupo monofilético. Su grupo hermano no está del todo resuelto, pues hay una politomía entre Bombacoideae, Malvoideae y Fremontodendreae. Dentro de Bombacoideae, los géneros *Pachira* y *Eriotheca* son parafilético y polifilético, respectivamente. Por lo tanto, es necesaria una revisión taxonómica de ambos grupos para aclarar sus relaciones. *Pachira quinata* se ubica como grupo hermano de *Pseudobombax*, género con el cual comparte la floración en la estación seca cuando las hojas están ausentes y los aguijones en el tronco; sin embargo, se necesita un mayor conocimiento de la biología de ésta especie y un estudio taxonómico con análisis moleculares y morfológicos.

3) De acuerdo con la estimación de tiempos de divergencia, la edad corona de Malvatheca es de 58.53 Ma (Paleoceno), lo cual coincide con el registro de diversos fósiles pertenecientes a este grupo. La edad corona de Bombacoideae es de 47.37 Ma (Eoceno), un tiempo en el que se pudo favorecer el origen de este grupo tropical de árboles por las altas temperaturas globales.

4) La reconstrucción de estados ancestrales del tipo de polinizador indica que el probable polinizador del ancestro común de las bombacoides fue murciélago (PPA=0.58). Sin embargo, la edad estimada en estudios independientes marca el origen de los murciélagos

nectarívoros entre 35-40 Ma, por lo que las fechas no concuerdan por completo. No obstante, dadas las características florales de los grupos tempranamente divergentes de Malvatheca y Bombacoideae, la polinización por un vertebrado, murciélago o mamífero no volador, es la hipótesis más probable que aquella para la polinización por esfíngido.

5) Se detectaron dos cambios en las tasas de especiación y extinción con respecto a la tasa general de la filogenia. Uno en el nodo corona de Eumalvoideae, probablemente debido al conjunto de adaptaciones que reúne este grupo; por ejemplo, el cambio a hábito herbáceo que acelera el tiempo generacional y la tasa de evolución molecular, la capacidad de autopolinizarse y colonizar nuevos hábitats. El otro cambio se detectó en el nodo troncal de *Pachira-Eriotheca*, en conjunto representan el grupo con el mayor número de especies en Bombacoideae. El cambio en las tasas de diversificación está dado por aumento en la especiación y en la extinción, por lo tanto hay un alto recambio de especies. Dicho incremento en las tasas pudo deberse a la combinación de varias adaptaciones. Por ejemplo, la ocupación de bosques lluviosos, el sistema mixto de reproducción, el modo de dispersión de especies de *Pachira*. En *Eriotheca* pudo deberse a eventos de poliploidización, la apomixis y cambio a polinización por abejas.

6) Existe una relación de dependencia de la tasa de especiación de Bombacoideae y la polinización por murciélago. El resultado de los análisis indica que los polinizadores promueven la especiación en grado mayor que la polinización por cualquier otro agente. Lo cual coincide con la hipótesis de que los polinizadores tienen y han tenido un papel importante en la diversificación de las bombacoides.

XI. LITERATURA CITADA

- Abid, R., Alam, J., Qaiser, M. 2010. Pollination mechanism and role of insects in *Abutilon indicum* (L.) Sweet. *Pakistan Journal of Botany* 42(3):1395-1399.
- Alfaro, M., Santini, F., Brock, C., Alamillo, H., Dornburg, A., Rabosky, D., Carnevale, G., Harmon, L. 2009. Nine exceptional radiations plus high turnover explain species diversity in jawed vertebrates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106: 13410-13414.
- Álvarez, I. y Wendel, J.F. 2003. Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 29: 417-434.
- Alverson, W.S., Karol, G.K., Baum, D.A., Chase, M.W., Swensen, S.M., McCourt, R., Sytsma, K.J. 1998. Circumscription of the Malvales and relationships to other Rosidae: evidence from *rbcL* sequence data. *American Journal of Botany* 85(6): 876-887.
- Alverson, W.S. y Steyermark, J.A. 1997. Bombacaceae. En Steyermark, J.A., Berry, B.E., Yatskievych, K., Holst, B.K. (Eds). *Flora of the Venezuelan Guayana*. Volume 3. Pp: 496-524.
- Alverson, W.S., Whitlock, B., Nyffeler, R., Bayer, C. y Baum, D. 1999. Phylogeny of the core Malvales: evidence from *ndhF* sequence data. *American Journal of Botany* 86(10): 147-1486.
- Anderson, G.J. 1976. The pollination biology of *Tilia*. *American Journal of Botany* 63(9):1203-1212.
- Antonelli A. y Sanmartín I. 2011. Mass Extinction, gradual cooling, or rapid radiation? Reconstructing the spatiotemporal evolution of the ancient angiosperm genus *Hedyosmum* (Chlorantaceae) using empirical and simulated approaches. *Systematic Biology* 60(5): 59-615.
- Armbruster, W.S. y Muchhala, N. 2009. Associations between floral specialization and species diversity: cause, effect, or correlation? *Evolutionary Ecology* 23: 159-179.
- Armbruster, W.S., Shi, X.Q., Huang S.Q. 2014. Do specialized flowers promote reproductive isolation? Realized pollination accuracy of three sympatric *Pedicularis* species. *Annals of Botany* 113:331-340.
- Avendaño Reyes, S. 1998. Bombacaceae. *Flora de Veracruz*. Instituto de Ecología, A.C. Fascículo 107.

- Axelrod, D.I. 1970. Mesozoic paleogeography and early angiosperm history. *The Botanical Review* 36(3): 277-319.
- Baker, H.G. 1970. Two cases of bat pollination in Central America. *Revista de Biología Tropical* 17(2): 187-197.
- Baker, H.G. 1998. Sugar composition of nectars and fruits consumed by birds and bats in the tropics and subtropics. *Biotropica* 30(4): 559-586.
- Baker, H.B., Cruden, R.W., Baker, I. 1971. Minor parasitism in pollination biology and its community function: the case of "Ceiba acuminata". *BioScience* 21(22): 1127-1129.
- Barraclough, T.G., y Nee, S. 2001. Phylogenetics and speciation. *Trends in Ecology & Evolution* 16(7): 391-399.
- Barret, C.H. 2003. Mating strategies in flowering plants: the outcrossing-self paradigm and beyond. *Philosophical Transactions of the Royal Society London Series B* 358:991-1004.
- Baum, D.A. 1995. The comparative pollination and floral biology of Baobabs (*Adansonia*-Bombacaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 82(2): 322-348.
- Baum, D.A., Alverson, W., Nyffeler R. 1998. A Durian by any other name: taxonomy and nomenclature of the core Malvales. *Harvard Papers in Botany*, 3(2): 315-330.
- Baum, D., Smith, S.D., Yen, A., Alverson, W., Nyffeler, R., Whitlock, B. y Oldham, R. (2004) Phylogenetic relationships of Malvatheca (Bombacoideae and Malvoideae; Malvaceae sensu lato) as inferred from plastid DNA sequences. *American Journal of Botany* 91(11): 1863-1871
- Bawa, K.S. 1992. Mating Systems, Genetic Differentiation and Speciation in Tropical Rain Forest Plants Published by The Association for Tropical Biology and Conservation. 24:250–255.
- Bayer, C. 1999. The bicolor unit – homology and transformation of an inflorescence structure unique to core Malvales. *Plant Systematics and Evolution* 214: 187-198.
- Bayer, C. y Kubitzki, K. 2003. Malvaceae. En: K. Kubitzki and C. Bayer (Eds.). *Flowering plants, dicotyledons: Malvales, Capparales, and non-betalain Caryophyllales*. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Bhattacharya, A. y Mandal, S. 2000. Pollination biology in *Bombax ceiba* Linn. *Current Science* 79(12): 1706-1712.
- Blomberg, S.P. y Garland, T. Jr. 2002. Tempo and mode in evolution: phylogenetic inertia, adaptation and comparative methods. *Journal of Evolutionary Biology* 15: 899-910.

- Brohmham L. y Penny D. 2003. The modern Molecular Clock. *Nature Reviews, Genetics* vol. 4: 216-224.
- Brunken, U. y Muellner, A.N. 2012. A new tribal classification of Grewioideae (Malvaceae) based on morphological and molecular phylogenetic evidence. *Systematic Botany* 37(3): 699-711.
- Bumrungsri, S., Sripaoraya, E., Chongsiri, T., Sridith, K., Racey, P.A. 2009. The pollination ecology of durian (*Durio zibethinus*, Bombacaceae) in southern Thailand. *Journal of Tropical Ecology* 25(01): 85-92.
- Buzato, S., Sazima, M., Sazima, I. 1994. Pollination of three species of *Abutilon* (Malvaceae) intermediate between bat and hummingbird flower syndromes. *Flora* 189(4): 327-334.
- Caballero-Martínez, L.A., Rivas Manzano, I.V., Aguilera Gómez, L.I. 2009. Hábitos alimentarios de *Anoura geoffroyi* (Chiroptera: Phyllostomidae) en Ixtapan del Oro, Estado de México. *Acta Zoológica Mexicana* 25(1):161-175.
- Cardinal, S. y Danforth, B.N. 2013. Bees diversified in the age of eudicots. *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences* 280: 20122686.
- Cardoso Araujo, A. y Sazima, M. 2003. The assemblage of flowers visited by hummingbirds in the "capoes" of southern Pantanal, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Flora* 198: 427-435.
- Carvalho-Sobrinho, J. 2006. O genero *Pseudobombax* Dugand na Bahia. M.S. Dissertation. Feira de Santana, Bahia, Brazil: Universidade Estadual de Feira de Santana.
- Carvalho, M.R., Herrera, F.A., Jaramillo, C.A., Wing, S.L., Callejas, R. 2011. Paleocene Malvaceae from northern South America and their biogeographical implications. *American Journal of Botany* 98(8): 1337-1355.
- Carvalho-Sobrinho, J.G. de, y Queiroz L.P. de. 2011. Morphological cladistic analysis of *Pseudobombax* Dugand (Malvaceae, Bombacoideae) and allied genera. *Revista Brasileira de Botanica* 34(2): 197-209.
- Carvalho-Sobrinho, J.G., Alverson, W.S., Mota, A.C., Machado, M.C., Baum, D.A. 2014. A new deciduous species of *Pachira* (Malvaceae: Bombacoideae) from a Seasonally Dry Tropical Forest in Northeastern Brazil. *Systematic Botany* 39(1): 260-267.
- Cascante-Marín, A. 1997. La familia Bombacaceae (Malvales) en Costa Rica. *Brenesia* 47-48:17-36.

- Contreras, L., Pross, J., Bijl, P.K., Koutsodendris, A., Rine, J.I., van de Schoorbrugge, B., Brinkhuis, H. 2013. Early to Middle Eocene vegetation dynamics at the Wilkes Land Margin (Antarctica). *Review of Palaeobotany and Palynology* 197:119-142.
- Cordero J. y Boshier D. H. 2003. *Bombacopsis quinata*. Un árbol maderable para reforestar. *Tropical Forestry Papers* vol. 39. Oxford Forestry Institute. Department of Plant Sciences. University of Oxford. Reino Unido. Pp. 175.
- Cronk, Q., y Ojeda, I. 2008. Bird-pollinated flowers in an evolutionary and molecular context. *Journal of Experimental Botany* 59(4): 715-727.
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., Posada, D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9(8) 772 doi:10.1038/nmeth.2109.
- Dick, C.W., Bermingham, E., Lemes, M.R., Gribel, R. 2007. Extreme long-distance dispersal of the lowland tropical rainforest tree *Ceiba pentandra* L. (Malvaceae) in Africa and the Neotropics. *Molecular Ecology* 16: 3039-3049.
- Dodd, M.E., Silvertown, J. Chase, M.W. 1999. Phylogenetic analysis of trait evolution and species diversity variation among angiosperm families. *Evolution* 53: 732-744.
- Drummond, A., Ho, S. Y. M., Phillips, M., Rambaut, A. 2006. Relaxed phylogenetics and dating with confidence. *PLoS Biology* 4(5):e88.
- Duarte M. C., Esteves G. L., Salatino M. L., Walsh K. C., Baum D.A. 2011. Phylogenetic Analyses of *Eriotheca* and Related Genera (Bombacoideae, Malvaceae). 36(3): 690-701.
- Eguiarte, L., Martínez del Río, C., Arita, H. 1987. El nectar y el polen como recursos: el papel ecológico de los visitantes a las flores de *Pseudobombax ellipticum* (HBK) Dugand. *Biotropica* 19(1): 74–82.
- Endress, P. 1994. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge Tropical Biology Series. Cambridge University Press, R.U. Pp. 511.
- Floral structure and evolution of primitive angiosperms: recent advances. *Plant Systematics and Evolution* 192(1-2):79-97.
- Endress, P. 2011. Evolutionary diversification of the flowers in angiosperms. *American Journal of Botany* 98(3): 370-396.
- Eriksson, O., y Bremer, B. 1992. Pollination systems, dispersal modes, life forms, and diversification rates in angiosperm families. *Evolution* 46(1): 258-266.

- Escudero M., Hipp A.L., Waterway M.J. y Valente, L.M. 2012. Diversification rates and chromosome evolution in the most diverse angiosperm genus of the temperate zone (*Carex*, Cyperaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 63(3):650-655.
- Esteves, L.G. 2005. Flora da reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Bombacaceae. *Rodriguesia* 56(86):115-124.
- Estrada-Ruiz, E., Martínez-Cabrera, H.I., Cevallos-Ferriz, S.R.S. 2010. Upper Cretaceous woods from the Olmos Formation (Late Campanian-Early maastrichtian), Coahuila, Mexico. *American Journal of Botany*. 97(7): 1179-1194.
- Faegri, K., y van Der Pijl, L. 1979. *Principles of Pollination Ecology*. Oxford: Pergamon. 248 pp.
- Fenster, C., Armbruster, W.S., Wilson, P., Dudash M.R., Thompson, J.D. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology and Systematics* 35: 375-403.
- FitzJohn, R.G. 2012. Diversitree: comparative phylogenetic analyses of diversification in R. *Methods in Ecology and Evolution* 3(6): 1084-1092.
- Fleming, T.H., Geiselman, C., Kress, W.J. 2009. The evolution of bat pollination: a phylogenetic perspective. *Annals of Botany* 104: 1017-1043.
- Fleming, T.H., y Muchhala, N. 2008. Nectar-feeding bird and bat niches in two worlds: pantropical comparisons of vertebrate pollination systems. *Journal of Biogeography* 35:764-780.
- Fryxell, P.A. 1993. Malvaceae. Flora del Bajío y regiones adyacentes. Fascículo 16.
- Fuchs, E., Lobo, J., Quesada, M. 2003. Effects of forest fragmentation and flowering phenology on the reproductive success and mating patterns of the Tropical Dry Forest tree *Pachira quinata*. *Conservation Biology* 17(1): 149-157.
- Germeraad, J.H, Hopping, C.A., Muller, J. 1968. Palynology of Tertiary sediments from tropical areas. *Review of Palaeobotany and Palynology* 6: 189-348.
- Gibbs, P.E. y Alverson, W.S. 2006. How many species of *Spirotheca* (Malvaceae s.l., Bombacoideae)? *Brittonia* 58(3): 245-258.
- Gibbs, P., Oliveira, P., Taroda, R. 2003. Homomorphic Self-incompatibility, with Stylar rejection site, in *Luehea grandiflora* Mart. and Zucc. (Tiliaceae-Malvaceae s.l.). *Plant biology*. 5: 419-422.

- Gibbs P. y Semir J. 2003. A taxonomic revision of the genus *Ceiba* Mill. (Bombacaceae). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 60(2): 259-300.
- Graham, A. y Jarzen, D. 1969. Studies in Neotropical Paleobotany. I. The Oligocene communities of Puerto Rico. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 56(3): 308-357.
- Grant, V. 1994. Historical development of ornithophily in the western North America flora. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91: 10407-10411.
- Heath, T. 2014. Divergence time estimation using BEAST v2.1.1. Tutorial. <http://treethinkers.org/divergence-time-estimation-using-beast/>.
- Heilbuth, J.C. 2000. Lower species richness in dioecious clades. *The American Naturalist* 156(3):221-241.
- Helenes, J. y Cabrera, D. 2003. Oligocene-Miocene palynomorph assemblages from eastern Venezuela. *Palynology* 27(1):5-25.
- Hernández-Hernández T., Brown J.W., Schlumpberger B.O., Eguiarte L.E., Magallón S. 2014. Beyond aridification: multiple explanations for the elevated diversification of cacti in the New World Succulent Biome. *New Phytologist* 202(4):1382–1397.
- Huelsenbeck, J. P. and Ronquist F. 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*. 17: 754-755.
- Humeau L., Pailler T. y Thompson J. 2000. Variation in Gender and Flower-Size dimorphism in the diecious tree *Dombeya ciliata*, an endemic to La Reunion Island. *Biotropica* 32(3): 463-472.
- Janka, H., von Balthazar, M., Alverson, W.S., Baum, D.A., Semir, J., Bayer, C. 2008. Structure, development and evolution of the androecium in Adansonieae (core Bombacoideae, Malvaceae s.l.). *Plant Systematics and Evolution* 257: 69-91.
- Janson C. H., Terborgh J., Emmons L. H. 1981. Non-flying mammals as pollinating agents in the Amazonian Forest. *Biotropica* 13(2): 1-6.
- Jaramillo, C., Hoorn, C., Silva, S.A.F., Leite, F., Herrera, F., Quiroz, L., Dino, R., Antonioli, L. 2010. En Hoorn, C. y Wesselingh, F.P. (Eds.). *Amazonia, Landscape and Species Evolution: a look into the past*. Blackwell Publishing.
- Jaramillo, C.A., Rueda, M., Torres, V. 2011. A palynological zonation for the Cenozoic of the Llanos and Llanos Foothills of Colombia. *Palynology* 35(1):46-84.

- Jetz, W., Thomas, G.H., Joy, J.B., Hartmann, K., Mooers, A.O. 2012. The global diversity of birds in space and time. *Nature* doi:10.1038/nature11631
- Johnson S.D. y Anderson B. 2010. Coevolution Between Food-Rewarding Flowers and Their Pollinators. *Evolution: Education and Outreach* 3(1): 32–39.
- Johnson, S.D. y Steiner, K.E. 1997. Long-tongued fly pollination and evolution of floral length in the *Disa draconis* complex (Orchidaceae). *Evolution* 51(1):45-53.
- Judd, W. y Manchester S. 1997. Circumscription of Malvaceae (Malvales) as determined by a preliminary cladistic analysis of morphological, anatomical, palynological, and chemical characters. *Brittonia* 49:384-405.
- Koopman, M.M. y Baum, D.A. 2008. Phylogeny and Biogeography of tribe Hibisceae (Malvaceae) on Madagascar. *Systematic Botany* 33(2): 364-374.
- Larkin, M.A., Blackshields. G., Brown, N.P., Chenna, R., McGettigan, P.A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I.M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J.D., Gibson, T.J., Higgins, D.G. (2007). Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23, 2947-2948.
- Lewis, P. O. 2001. A Likelihood Approach to Estimating Phylogeny from Discrete Morphological Character Data. *Systematic Biology* 50(6): 913–925.
- Li, Q., Ruan, C., Teixeira da Silva, J. y Wang, X. 2012. Floral morphology and mating system of *Alcea rosea* (Malvaceae). *Plant Ecology and Evolution* 145 (2): 17-184.
- Lobo J., Quesada M. y Stoner K. 2005. Effects of Pollination by bats in the mating system of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) populations in two tropical life zones in Costa Rica. *American Journal of Botany* 92(2): 370-376.
- Lobo, J., Solís, S., Fuchs, E., Quesada M. 2012. Individual and temporal variation in Outcrossing rates and pollen flow patterns in *Ceiba pentandra* (Malvaceae: Bombacoideae). *Biotropica* 0(0): 1-10.
- MacFarlane, A.T., Mori, S.A., Purzycki, K. 2003. Notes on *Eriotheca longitubulosa* (Bombacaceae), a rare, putatively hawkmoth-pollinated species new to the Guianas. *Brittonia* 55(4): 305-316.
- Machado, C.I. y Lopes, R.V. 2004. Floral traits and pollination systems in the Caatinga, a Brazilian Tropical Dry Forest. *Annals of Botany* 94: 365-376.
- Maddison, D.R. y Maddison, W.P. 2005. MacClade 4.08. Sinauer Associates, Inc. EUA.
- Maddison, W.P. y Maddison D.R. 2010. Mesquite: A modular system for evolutionary analysis v.2.74.

- Maddison, W.P., Midford, P.E., Otto, S.P. 2007. Estimating a binary character's effect on speciation and extinction. *Systematic Biology* 56(5): 703-710.
- Magallón, S.A. 2004. Dating lineages: molecular and paleontological approaches to the temporal framework of clades. *International Journal of Plant Sciences, Tropical Intercontinental Disjunctions* 165(S4): S7-S21.
- Magallón S. y Castillo A. 2009. Angiosperm diversification through time. *American Journal of Botany* 96(1): 349-365.
- Magallón S. y Sanderson M.J. 2001. Absolute Diversification Rates in Angiosperm Clades. *Evolution* 55(9): 1762-1780.
- Marinho, R.C., Mendes-Rodrigues, C., Bonetti, A.M., Oliveira, P.E. 2013. Pollen and stomata morphometrics and polyploidy in *Eriotheca* (Malvaceae-Bombacoideae). *Plant Biology* doi:10.1111/plb.12135.
- Martins, R.L. y Oliveira, P.E. 2003. RAPD evidence for apomixis and clonal populations in *Eriotheca* (Bombacaceae). *Plant Biology* 5: 338-340.
- Mello, C.L., Bergquist, L.P., Sant'Anna, L.G. 2002. Fonseca, MG. Vegetais fósseis do Terciário brasileiro. En Schobbenhaus, C., Campos, D.A., Queiroz, E.T., Winge, M., Berbert-Born, M.L.C. (Edit.) 2002. *Sítios Geológicos e Paleontológicos do Brasil*. DNPM/CPRM - Comissão Brasileira de Sítios Geológicos e Paleobiológicos (SIGEP) - Brasília 2002; 554pp.
- Mendes-Rodrigues, C., Carmo-Oliveira, R., Talavera, S., Arista, M., Ortiz, P.L., Oliveira, P.E. 2005. Polyembryony and apomixis in *Eriotheca pubescens* (Malvaceae-Bombacoideae). *Plant Biology*: 533-540.
- Miller, M. A., Pfeiffer, W., & Schwartz, T. (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In *2010 Gateway Computing Environments Workshop (GCE)* (pp. 1–8). IEEE. doi:10.1109/GCE.2010.5676129
- Moore, B.R., y Donoghue, M.J. 2007. Correlates of diversification in the plant clade Dipsacales: geographic movement and evolutionary innovations. *The American Naturalist* 170(S2): S28-S55.
- Muchhala, N. 2003. Exploring the boundary between pollination syndromes: bats and hummingbirds as pollinators of *Burmeistera cyclostigmata* and *B. tenuiflora* (Campanulaceae). *Oecologia* 134: 373_380.

- Muchhala, N., Caiza, A., Vizuete, J.C., Thomson, J.D. 2008. A generalized pollination system in the tropics: bats, birds and *Aphelandra acanthus*. *Annals of Botany* 103: 1481-1487.
- Muller, J. 1981. Fossil pollen records of extant angiosperms. *The Botanical Review* 47(1):1-142.
- Münkemüller, T., Lavergne, S., Bzeznik, B., Dray, S., Jombart, T., Schiffrers, K., Thuiller, W. 2012. How to measure and test phylogenetic signal. *Methods in Ecology and Evolution*. 3: 743-756.
- Murawski, D.A., Hamrick, J.L., Hubbell, S.P., Foster, R.B. 1990. Mating systems of two Bombacaceous trees of a neotropical moist forest. *Oecologia* 82:501-506.
- Murawski D. y Hamrick J. 1992. The mating system of *Cavanillesia platanifolia* Under extremes of flowering-tree density: A test of predictions. *Biotropica* 24(1): 99-101.
- Naik, A. 2011. Pollinator fauna and foraging activity of honey bees in two genotypes of Bt cotton. *Karnataka Journal of Agriculture Sciences* 24(3): 400-403.
- Nee, S. 2006. Birth-Death Models in Macroevolution. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 37: 1-17.
- Nyffeler, R. y Baum, D.A. 2000. Phylogenetic relationships of the durians (Bombacaceae-Durioneae or /Malvaceae/Helicteroideae/Durioneae) based on chloroplast and nuclear ribosomal DNA sequences. *Plant Systematics and Evolution* 224: 55-82.
- Nyffeler, R., Bayer, C., Alverson, W.S., Yen, A., Whitlock, B.A., Chase, M.K., Baum, D.A. 2005. Phylogenetic analysis of the malvadendrinal clade (Malvaceae s.l.) based on plastid DNA sequences. *Organisms, Diversity & Evolution* 5: 109-123.
- Oliveira, P.E., Gibbs, P.E., Barbosa, A.A., Talavera, S. 1992. Contrasting breeding systems in two *Eriotheca* (Bombacaceae) species of the Brazilian cerrados. *Plant Systematics and Evolution* 179:207-219.
- Oliveira, P.E., Gibbs, P.E., Barbosa, A.A. 2004. Moth pollination of woody species in the Cerrados of Central Brazil: a case of so much owed to so few? *Plant Systematics and Evolution* 245: 41-54.
- Olmstead, R.G., y Swere, J.A. 1994. Combining data in phylogenetic systematics: an empirical approach using three molecular data sets in the Solanaceae. *Systematic Biology* 43(4): 467-481.
- O'Meara, B.C. 2012. Evolutionary Inferences from Phylogenies: A Review of Methods. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 43:267–285.

- Pagel, M. 1999. Inferring the historical patterns of biological evolution. *Nature*. 401, 877-884.
- Pagel, M. y Meade, A. 2006. Bayesian analysis of correlated evolution of discrete characters by Reversible-Jump Markov Chain Monte Carlo. *The American Naturalist* 167(6): 808-825.
- Palacios, W. 2012. Cuatro especies nuevas de árboles del Ecuador. *Caldasia* 34(1): 75-85.
- Paradis E., Claude J. y Strimmer K. 2004. APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics* 20:289-290.
- Pardo-Trujillo, A. y Jaramillo, C. New palynostratigraphical data of NW South America Paleocene-Eocene of the Middle Magdalena Valley, Colombia. *International Journal of Tropical Geology, Geography and Ecology* 26(1):1-10.
- Pardo-Trujillo, A. y Roche, E. 2009. Paleocene-Eocene palynology and playnofacies from northeastern Colombia and western Venezuela. Universidad de Caldas. Manizales, Colombia.
- Pennington T. D, Reynel C., Daza A. 2004. Illustrated guide to the trees of Peru. David, Hunt. Sherborne, England.
- Pennington, T.D. y Sarukhán, J. 2005. Árboles tropicales de México. Manual para la identificación de principales especies. Tercera Ed. Universidad Nacional Autónoma de México. Fondo de Cultura Económica. México, D.F. Pp. 523.
- Peterle, P.L., Galveas, A.B. Thomaz, L.D. 2007. Biología floral e polinización de *Pseudobombax grandiflorum* (Cav.) A. Rob. (Bombacaceae) na região de Barra do Jucu-Vila Velha- ES. Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil, Caxambu -MG.
- Pfeil, B.E., Brubaker, C.L., Craven, L.A., Crisp, M.D. 2002. Phylogeny of *Hibiscus* and the tribe Hibisceae (Malvaceae) using chloroplast DNA sequences of *ndhF* and the *rpl16* Intron. *Systematic Botany* 27(2): 333-350.
- Pitier. 1914. *Repertorium Specierum Novarum Regni Vegetabilis*. 13:318.
- Posada, D., y Crandall, K.A. 2001. Selecting the Best-Fit Model of Nucleotide Substitution. *Systematic Biology* 50(4): 580-601.
- Prendergast, H.D.V. 1982. Pollination of *Hibiscus rosa-sinensis*. *Biotropica* 14(4): 287.
- Proctor, M., Yeo, P., Lack, A. 1996. *The Natural History of Pollination*. Tiber Press, Inc. Portland, Oregon, E.U.A. Pp. 479.
- Pross, J., Contreras, L., Bijl, P.K., Greenwood, D.R., Bohaty, S.M., Schouten, S., Bendle, J.A., Röhl, U., Tauxe, L., Raine, J.I., Huck, C.E., van de Flierdt, T., Jamieson, S.S.R., Stickley, C.E., van de Schootbrugge, B., Escutia, C., Brinkhuis, H., & Integrated Ocean

- Drilling Program Expedition 318 Scientists. 2012. Persistent near-tropical warmth on the Antarctic continent during the early Eocene epoch. *Nature* 488:73-77.
- Quesada M., Stoner K., Lobo J., Herrerías-Diego Y., Palacios-Guevara C., Munguía-Rosas M., Salazar K., Rosas-Guerrero V. 2004. Effects of forest fragmentation on pollinator activity and consequences for plant reproductive success and mating patterns in Bat-pollinated Bombacaceous trees. *Biotropica* 36(2): 131-138.
- R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Rambaut A, Suchard MA, Xie D & Drummond AJ (2014) Tracer v1.6, Available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.
- Ramsey, M., Seed, L., Vaughton G. 2003. Delayed selfing and low levels of inbreeding depression in *Hibiscus trionum* (Malvaceae). *Australian Journal of Botany* 51: 275-281.
- Ribeiro, C. F. 2007. Sterculiaceae Vent. No estado de Sao Paulo. M.S. Dissertacao. Instituto de Botanica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente.
- Ricklefs, R.E., y Renner, S.S. 2000. Evolutionary flexibility and flowering plant familial diversity: A comment on Dodd, Silvertown, and Chase. *Evolution* 53: 1061-1065.
- Robyns, A. 1963. Essai de monographie du genre *Bombax* s.l. (Bombacaceae) (Suite). *Bulletin du Jardin botanique de l'État a Bruxelles*. Vol.33, Fasc. 2, pp. 145-316.
- Rocca, M.A. y Sazima, M. 2008. Ornithophilous canopy species in the Atlantic rain forest of southeastern Brazil. *Journal of field Ornithology* 79(2): 130-137.
- Rocca, M.A. y Sazima, M. 2010. Beyond hummingbird-flowers: the other side of ornithophily in the neotropics. *Oecologia Australis* 14(1): 67-99.
- Rodríguez-Peña, N., Stoner, K.E., Schondube, J.E., Ayala-Berdón, J., Floers-Ortiz, C.M., Martínez del Río, C. 2007. Effects of sugar composition and concentration on food selection by sussure's long-nosed bat (*Leptonycteris curasoae*) and the long-tongued bat (*Glossophaga soricina*). *Journal of Mammalogy* 88(6): 1466-1474.
- Roxburgh, W. 1820. Plants of the cosas of Coromandel: selected from drawings and descriptions presented to the hon. court of directors of the East India Company. Vol. 3. Pp. 61.
- Rojas, D., Vale, A., Ferrero, V., Navarro, L. 2011. When did plants become important to leaf-nosed bats? Diversification of feeding habits in the family Phyllostomidae. *Molecular Ecology* 20: 2217-2228.

- Rosas-Guerrero, V., Aguilar, R., Martén-Rodríguez, S., Ashworth, L., Lopezaraiza-Mikel, M., Bastida, J.M., Quesada, M. 2014. A quantitative review of pollination syndromes: do floral traits predict effective pollinators? *Ecology Letters* doi:10.1111/ele.12224.
- Ruan, C., Mopper, S., Teixeira da Silva, J., Qin, P., Zhang, Q. Shan, Y. 2009. Context-dependent style curvature in *Kosteletzkya virginica* (Malvaceae) offers reproductive assurance under unpredictable pollinator environments. *Plant Systematics and Evolution* 277: 207-215.
- Ruan, C., Chen, S., Li, Q., Teixeira da Silva J. 2011. Adaptive evolution of context-dependent style curvature in some species of the Malvaceae: a molecular phylogenetic approach. *Plant Systematics and Evolution* 297: 57-74.
- Sánchez-Casas, N. y Alvarez, T. 1997. Notas sobre la alimentación de *Musonycteris* y *Choeroniscus* (Mammalia: Phyllostomidae) en México. *Revista Mexicana de Mastozoología* 2:113-115.
- Sanderson M. J. 2002. Estimating absolute rates of molecular evolution and divergence times: a Penalized Likelihood Approach. *Molecular Biology and Evolution* 19(1): 101-109.
- SanMartín-Gajardo, I. y Sazima, M. 2005. Chiropterophily in *Sinningieae* (Gesneriaceae): *Sinningia brasiliensis* and *Paliavana prasinata* are bat-pollinated, but *P. sericiflora* is not. Not yet? *Annals of Botany* 95: 1097-1103.
- Sanoja, E. 2004. Diagnósis y observaciones sobre la biología de *Catostemma lemense*, nueva Bombacaceae de Venezuela. *Acta Botánica Venezuelica* 27(2): 83-94.
- Sargent, R.D. 2004. Floral symmetry affects speciation rates in angiosperms. *Proceedings of the The Royal Society Biological Sciences* 271: 603-608.
- Sauquet, H. 2013. A practical guide to molecular dating. *Comptes Rendus Palevol* 12: 355-367.
- Seed, L., Vaughton, G., Ramsey M. 2006. Delayed autonomous selfing and inbreeding depression in the Australian annual *Hibiscus trionum* var *vesicarius* (Malvaceae). *Australian Journal of Botany* 54: 27-34.
- Smith, S.A. y Donoghue, M.J. 2008. Rates of molecular evolution are linked to life history in flowering plants. *Science* 322:86-89.

- Soltis, D.E., Albert, V.A., Leebens-Mack, J., Bell, C.D., Paterson, A.H., Zheng, C., Sanoff, D., dePamphilis, C.W., Wall, P.K., Soltis, P.S. 2009. Polyploidy and angiosperm diversification. *American Journal of Botany* 96(1): 336-348.
- Stamatakis, A. 2006. RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics* 22: 2688-2690.
- Stebbins, L.G. 1970. Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms, I: Pollination mechanisms. *Annual Review of Ecology and Systematics* Vol. 1, 307-326.
- Stoner, K.E., Quesada, M., Rosas-Guerrero, V. 2002. Effects of Forest fragmentation on the Colima long-nosed bat (*Musonycteris harrisoni*) foraging in Tropical Dry Forest of Jalisco, Mexico. *Biotropica* 34(3):462-467.
- Stoner, K.E., Salazar, K.A.O., Fernández, R.C., Quesada, M. 2003. Population dynamics, reproduction, and diet of the lesser long-nosed bat (*Leptonycteris curasoae*) in Jalisco, Mexico: implications for conservation. *Biodiversity and Conservation* 12: 357-373.
- Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G., Bouvet, J. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology* 17: 1105-1109.
- Tate, J.A., Fuentes Aguilar, J., Wagstaff, S.J., Duke, J.C., Bodo Slotta, T.A., Simpson, B.B. 2005. Phylogenetic relationships within the tribe Malveae (Malvaceae, Subfamily Malvoideae) as inferred from ITS sequence data. *American Journal of Botany* 92(4): 584-602.
- Taylor, D.W. 1990. Paleobiogeographic relationships of angiosperms from the Cretaceous and early Tertiary of the North American area. *The Botanical Review* 56(4): 279-417.
- Teeling, E.C., Springer, M.S., Madsen, O., Bates, P., O'Brien, J., Murphy, W.J. 2005. A molecular phylogeny for bats illuminates biogeography and the fossil record. *Science* 307:580-584.
- The Plant List. 2013. Version 1.1. Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org/>.
- Thiruchenthil N.P., Raghuram, H., Elangovan, V., Karuppudurai, T., Marimuthu, G. 2005. Bat pollination of kapok tree, *Ceiba pentandra*. *Current Science* 88(10): 1679-1681.
- Toledo, V.M. 1977. Pollination of some Rain Forest plants by Non-hovering birds in Veracruz, Mexico. *Biotropica* 9(4): 262-267.
- Ulbrich, E. 1924. *Septotheca* Ulbrich, eine neue Gattung der Bombacaceae. *Notizblatt des Königl. botanischen Gartens und Museums zu Berlin* 9(82):128-135.
- Urban, I. 1902. *Symbolae Antillanae seu Fundamenta Florae Indiae Occidentalis*. 3:319.

- Valente, L.M., Manning, J.C., Goldblatt, P., Vargas, P. 2012. Did pollination shifts drive diversification in southern african *Gladiolus*? Evaluating the model of pollinator-driven speciation. *The American Naturalist* 180(1): 83-98.
- Vogel, S. (2000). The floral nectaries of Malvaceae sensu lato -a conspectus. *Kurtziana Tomo* 28(2): 155-171.
- von Balthazar, M., Alverson, W.S., Schönenberger, J., Baum, D.A. 2004. Comparative floral development and androecium structure in Malvoideae (Malvaceae s.l.). *International Journal of Plant Sciences* 165(4): 445-473.
- von Balthaza, M., Sönenberger, J., Alverson, W.S., Janka, H., Bayer, C., Baum, D.A. 2006. Structure and evolution of the androecium in the Malvatheca clade (Malvaceae s.l.) and implications for Malvaceae and Malvales. *Plant Systematics and Evolution* 260: 171-197.
- Westerkamp, C., Soares, A.A., do Amaral Neto, L.P. 2006. Male and female booths with separate entrances in the tiny flowers of *Guazuma ulmifolia* (Malvaceae- Byttnerioideae). I. Structural integration. *Flora* 201:389-395.
- Wheeler, E.F. 1987. Dicotyledonous woods from the Upper Cretaceous of southern Illinois. *Botanical Journal of the Linnean Society* 95: 77-100.
- Wheller, E.A. y Lehman, T.M. 2000. Late Cretaceous woody dicots from the Aguja and Javelina formations, Big Bend National Park, Texa, USA. *IAWA Journal* 21(1): 83-120.
- Whitlock, B.A., Bayer, C., Baum, D.A. 2001. Phylogenetic relationships and floral evolution of the Byttnerioideae ("Sterculiaceae" or Malvaceae s.l.) Based on sequences of the chloroplast gene, *ndhF*. *Systematic Botany* 26(2):420-437.
- Wikström, N., Savolainen, V., Chase, M.W. 2001. Evolution of the angiosperms: calibrating the family tree. *Proceedings of The Royal Society London B* 268: 2211-2220.
- Wilkies, P., Clark, A., Pennington, R.T., Cheek, M., Bayer, C., Wilcock, C.C. 2006. Phylogenetic relationships within the subfamily Sterculioideae (Malvaceae/Sterculiaceae-Sterculieae) using the chloroplast gene *ndhF*. *Systematic Botany* 31(1): 160-170.
- Wilson, G. 2014. Mammalian extinction, survival, and recovery dynamics across the Cretaceous-Paleogene boundary in northeastern Montana, USA. *Geological Society of America Special Papers* 503: 365-392.
- Wolfe, J.A. 1975. Some aspects of plant geography of the Northern Hemisphere during the Late Cretaceous and Tertiary. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 62(2): 264-279.

- Xi, Z., Ruhfel, B.R., Schaefer, H., Amorim, A.M., Sugumaran, M., Wurdack, K.J., Endress, P.K., Matthews, M.L., Stevens, P.F., Matthews, S., Davis, C. 2012. Phylogenomics and a posteriori data partitioning resolve the Cretaceous angiosperm radiation Malpighiales. PNAS 109(43):17519-17524.
- Yu, Y., Harris, A. J., He, X. 2010. S-DIVA (Statistical Dispersal-Vicariance Analysis): A tool for inferring biogeographic histories. Molecular Phylogenetics and Evolution 56:848-850
- Yule, G.U. 1924. A mathematical theory of evolution, based on the conclusions of Dr. J. C. Wills, F. R. S. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Biology 213:21–87.

XII. APÉNDICE

Apéndice 1. Especies incluidas, secuencias moleculares y número de acceso de GenBank. Voucher de herbario para las especies que aplica.

Espece	ITS	<i>trnK-matK</i>	<i>trnL-F</i>	<i>ndhF</i>
<i>Abutilon hybridum</i>	JQ753296	AY589058	-	AF111716
<i>Adansonia digitata</i>	HQ658372	AY321168	HQ696738	AF111720
<i>Adansonia grandidieri</i>	HQ658373	HQ696687	HQ696739	-
<i>Adansonia gregorii</i>	HQ658374	HQ696688	HQ696740	-
<i>Adansonia za</i>	HQ658375	HQ696689	HQ696741	-
<i>Bernoullia flammea</i>	HQ658366	HQ696685	HQ696732	AF111737
<i>Berrya javanica</i>	-	AY321182	-	AF111755
<i>Bombax buonopozense</i>	HQ658376	AY321171	HQ696742	AF111726
<i>Bombax ceiba</i>	HQ658377	HQ696690	HQ696743	+ (Jardín botánico, Universidad de Viena)
<i>Bombax malabaricum</i>	AF460192	-	AY328149	-
<i>Brownlowia elata</i>	-	AY321184	-	AF111756
<i>Campostemon schultzei</i>	HQ658360	AY321162	HQ696726	AF111727
<i>Cavanillesia platanifolia</i>	HQ658371	HQ696686	HQ696737	AF111728
<i>Ceiba acuminata</i>	HQ658385	HQ696700	HQ696752	AF111736
<i>Ceiba aesculifolia</i>	HQ658384	HQ696699	HQ696751	+ (RH 100)
<i>Ceiba crispiflora</i>	HQ658387	AY321169	HQ696754	AF111730
<i>Catostemma fragans</i>	HQ658370	AY589069	HQ696736	AF111734
<i>Ceiba parvifolia</i>	+ (RH 103)	+ (RH 103)	+ (RH 103)	-
<i>Ceiba pentandra</i>	HQ658386	HQ696701	HQ696753	+ (RH 101)
<i>Ceiba schottii</i>	HQ658389	HQ696703	HQ696756	-
<i>Ceiba speciosa</i>	HQ658388	HQ696702	HQ696755	-
<i>Chiranthodendron pentadactylon</i>	HQ658356	AY321164	HQ696722	AF111722
<i>Dombeya wallichii</i>	-	+ (RH 137)	+ (RH 137)	+ (RH 137)
<i>Durio zibethinus</i>	AY321164	AY321188	+ (R. Hernández M. 2342, MEXU)	AF111749
<i>Eriotheca gracilipes</i>	+ (G. Hatschbach 63263, MEXU)	HQ696708	HQ696762	+(G. Hatschbach 63263, MEXU)
<i>Eriotheca pubescens</i>	HQ658397	HQ696709	HQ696763	-
<i>Eriotheca roseorum</i>	+ (Israel G. Vargas C. 3616, MEXU)	HQ696711	HQ696765	-

Especie	ITS	trnK-matK	trnL-F	ndhF
<i>Eriotheca ruizii</i>	+ (A. Gentry, I. Peralta V. y A. Aristegui P 44113, MEXU)	HQ696721	HQ696777	AF111729
<i>Eriotheca longitubulosa</i>	HQ658396	HQ696717	HQ696771	-
<i>Fremontodendron californicum</i>	HQ658357	AY321165	HQ696723	AF111721
<i>Gossypium hirsutum</i>	HQ658359	AY321158	HQ696725	U55340
<i>Guazuma ulmifolia</i>	+ (Reyes García 4489, MEXU)	+ (Reyes García 4489, MEXU)	+ (Reyes García 4489, MEXU)	AF111776
<i>Gyranthera caribensis</i>	HQ658368	AY589071	HQ696734	AY589081
<i>Helicteres guazumifolia</i>	AF233300	AY321186	+(J. Calónico y B. Gómez 27667, MEXU)	AF111746
<i>Heliocarpus appendiculatus</i>	+ (Eladio Velasco Sinaca 539, MEXU)	-	+ (Eladio Velasco Sinaca 539, MEXU)	AF111772
<i>Hibiscus rosa-sinensis</i>	JX856461	AY321160	AY328142	AF384653
<i>Huberodendron patinoi</i>	HQ658367	AY589072	HQ696733	AF111739
<i>Lavatera phoenicea</i>	EF419528	EU346802	-	-
<i>Matisia palenquiiana</i>	HQ658362	HQ696684	HQ696728	-
<i>Neobuchia paulinae</i>	+ (W.J. Eyerdam 676983, F)	HQ696707	HQ696760	+(W.J. Eyerdam 676983, F)
<i>Ochroma pyramidale</i>	HQ658363	AY321172	HQ696729	AF111740
<i>Pachira aquatica</i>	HQ658392	AY321170	HQ696759	AF111732
<i>Pachira glabra</i>	HQ658393	HQ696706	HQ696761	+ (Jardín botánico, Universidad de Viena)
<i>Pachira insignis</i>	HQ658390	HQ696704	HQ696757	-
<i>Pachira quinata</i>	+ (Pedro P. Moreno 24460, MEXU)	HQ696692	HQ696745	-
<i>Patinoa sphaerocarpa</i>	HQ658364	AY589074	HQ696730	AF111741
<i>Pentaplaris doroteae</i>	HQ658358	AY321163	HQ696724	AY326476
<i>Pseudobombax ellipticum</i>	(De Nova A. y Olson M.)	+ (RH 102)	+ (RH 102)	AF111733
<i>Pseudobombax grandiflorum</i>	HQ658383	HQ696698	HQ696750	-
<i>Pseudobombax marginatum</i>	HQ658381	HQ696696	HQ696748	-
<i>Quararibea costaricensis</i>	+ (Alvarado Chacón & G. Herrera 794, MEXU)	AY321166	+ (Alvarado Chacón & G. Herrera 794, MEXU)	AF111723
<i>Rhodognaphalon schumannianum</i>	HQ658380	HQ696695	HQ696747	+ (ADN, KEW)

Especie	ITS	<i>trnK-matK</i>	<i>trnL-F</i>	<i>ndhF</i>
<i>Scleronema micranthum</i>	HQ658369	AY589070	HQ696735	AF111735
<i>Septotheca tessmannii</i>	HQ658365	AY589073	HQ696731	AY589082
<i>Spirotheca rosea</i>	HQ658378	HQ696691	HQ696744	AF111731
<i>Sterculia apetala</i>	+ (Refugio Cedillo Trigos 3212, MEXU)	GQ982103	+ (Refugio Cedillo Trigos 3212, MEXU)	+(Refugio Cedillo Trigos 3212, MEXU)
<i>Tilia americana</i>	AF174639	AY321191	+ (W.R. Carr 23180, MEXU)	AF111760

+ Secuencias obtenidas en este estudio.

- No hay secuencia.

Apéndice 2. Riqueza de especies para cada género incluido en el análisis de MEDUSA.

La información del número de especies por género se obtuvo de The Plant List (2013).

Subfamilia	Género	No. de especies
Bombacoideae	<i>Adansonia</i>	8
	<i>Bernoullia</i>	3
	<i>Bombax</i>	10
	<i>Catostemma</i>	15
	<i>Cavanillesia</i>	5
	<i>Ceiba</i>	20
	<i>Eriotheca</i>	23
	<i>Gyranthera</i>	3
	<i>Huberodendron</i>	3
	<i>Neobuchia</i>	1
	<i>Pachira</i>	44
	<i>Pseudobombax</i>	17
	<i>Rhodognaphalon</i>	2
	<i>Scleronema</i>	3
<i>Spirotheca</i>	5	
Malvatheca*	<i>Septotheca</i>	1
Malvoideae	<i>Abutilon</i>	986
	<i>Camptostemon</i>	8
	<i>Gossypium</i>	59
	<i>Hibiscus</i>	258
	<i>Lavatera</i>	56
	<i>Pentaplaris</i>	3
	<i>Matisia</i>	26
	<i>Quararibea</i>	89
Malvatheca*	<i>Ochroma</i>	1
	<i>Patinoa</i>	4
	<i>Chiranthodendron</i>	1
	<i>Fremontodendron</i>	3
Sterculioideae	<i>Sterculia</i>	400
Dombeyoideae	<i>Dombeya</i>	350
Tilioideae	<i>Tilia</i>	40
Helicteroideae	<i>Helicteres</i>	46
	<i>Durio</i>	24
Brownlowioideae	<i>Brownlowia</i>	40
	<i>Berrya</i>	40
Byttneroideae	<i>Guazuma</i>	650
Grewioideae	<i>Heliocarpus</i>	700

*No asignado a subfamilia.

Apéndice 3. Caracteres florales y categorización de la información de la polinización.

Categoría de valoración de datos de polinización:

1=Estudios estrictos de polinización.

2=Mención de visitantes y posibles polinizadores.

3=Inferencias del polinizador a partir del síndrome floral (4= Inferencias hechas en este estudio).

Nota: los polinizadores efectivos son los que están escritos con negrita y los polinizadores secundarios con letra regular.

Especie	Hábito	Forma de flor	Cáliz	Corola	Antesis	# Estambres y anteras	Estilo y estigma	Recurso	Polinizadores	Categoría (1-3)	Distribución	Referencia
<i>Adansonia digitata</i> L.	Árbol	Brocha	Aplanado, persistente.	Pétalos blancos, más largos que androceo	Crepuscular	720-1600. Filamentos, anteras largas	Blanco, doblado. Estigma Blanco.	Néctar copioso	Murciélagos	1	Viejo Mundo	Baum, 1995; Baker, 1998.
<i>A. za</i> Baill.	Árbol	Brocha (redonda). Orientación horizontal. Persiste 1 día.	Verde y por dentro rojo. Cilíndrico. Cáliz no persistente. Tiene una cámara anular de néctar.	Pétalos amarillos, más largos que el androceo.	Crepuscular	100-150. Filamentos, anteras cortas.	Estilo color rojo, recto; estigma rojo.	Néctar copioso	Aves Esfingidos	1	Viejo Mundo	Baker, 1998; Baum, 1995.
<i>A. grandidieri</i> Baill.	Árbol	Brocha (plana). Orientación erecta. Persiste 2.5-4 días.	Café con forma de copa. Cáliz persistente.	Pétalos blancos, más largos que androceo	Crepuscular	600-700. Filamentos, anteras largas	Estilo color Blanco, recto. Estigma rosa pálido.	Néctar copioso	Murciélagos	1	Viejo Mundo	Baum, 1995.
<i>A. gregorii</i> F. Muell.	Árbol	Brocha (redonda). Orientación horizontal.	Verde y por dentro rojo. Cilíndrico, persistente.	Pétalos amarillos, más cortos que el androceo.	Crepuscular Persiste 2-4 días	120-160. Filamentos, anteras cortas.	Estilo color Blanco, recto. Estigma Blanco.	Néctar copioso	Esfingido	1	Viejo Mundo	Baum, 1995.
<i>Bernoullia flammea</i> Oliv.	Árbol	Inflorescencia escorpioides. Flor con forma de copa.	Copa	Tubular, rojos.	diurna	10. Sésiles.	Rojo, dentro del tubo estaminal, sale de frente a la percha.	Néctar	Aves	1	Neotrópico. Selva caducifolia.	Toledo, 1977; Rocca y Sazima, 2010.

<i>Bombax ceiba</i> L.	Árbol	Campana. 70mm	Copa	Carmesí, tubular en la base, pétalos carnosos y extrorsos.	Después de medianoche hasta la mañana siguiente	100 filamentos	Estilo rojizo, 5 lóbulos, estigma digitado. Permanece receptivo por dos días.	Néctar copioso	Aves Murciélagos	1	África y Asia	Bhattacharya y Mandal, 2000.
<i>B. buonopozense</i> P. Beauv.	Árbol	Campana o copa.	Copa	Pétalos color rojo,		180 filamentos	El estilo de 4-5cm. El estigma es lobulado.	Néctar copioso	Aves Murciélagos	1	África y Asia	Baker, 1998; Robyns, 1963.
<i>B. malabaricum</i> DC.	Árbol		Copa	Pétalos color rojo.		∞ filamentos			Aves	3 (4)	África	Flora of China 12: 300-301. 2007.
<i>Catostemma fragans</i> Benth.	Árbol	Brocha. Inflorescenci a cimosa	Campanula- do	Pétalos Blancos		25-120 filamentos	Estilo trífido sobresale de los estambres.		Esfíngidos	3	Norte Sudamérica.	Sanoja, 2004; Bayer y Kubitzki, 2003; Alverson y Steyermark, 1997.
<i>Cavanillesia platanifolia</i> (Bonpl.) Kunth	Árbol	Brocha. Inflorescenci a cimosa	Campanula- do, persistente con pétalos y estambres.	Pétalos blancos	Crepúsculo.	∞ filamentos	Estigma lobado o capitado.	Néctar copioso en crepúscu- lo	Esfíngidos Aves Abejas	2	Sudamérica	Murawski, 1990; Alverson y Steyermark, 1997; Bayer y Kubitzki 2003.
<i>Ceiba acuminata</i> (S. Watson) Rose	Árbol.	Campana						Néctar	Murciélagos Aves	1	Neotropical	Baker, 1998; Gibbs y Semir, 2003; Rocca y Sazima, 2010.
<i>C. aesculifolia</i> (Kunth) Britten & Baker f.	Árbol	Campana		Pétalos reflejos.		5 filamentos con dos tecas c/u.	Estilo más largo que filamentos. Estigma capitado.	Néctar copioso	Murciélagos	1	Neotropical	Quesada et al., 2003, 2004; Rodríguez- Peña, 2007; Stoner, 2002. Caballero Martínez, 2009.

<i>C. schotti</i> Britten & Baker f.	Árbol	Campana	25-40 x 8-10 mm, cilíndrico	Blancos, permanecen rectos.	Crepúscular o nocturna.	5 filamentos con dos tecas c/u.	Estigma globoso al mismo nivel que las anteras.	Poco néctar	Esfíngido	3	Neotropical	Gibbs y Semir, 2003.
<i>C. speciosa</i> A. St.-Hil. ex Brako	Árbol	Campana	Campana	Color magenta con puntos cafés y color blanco hacia la base.	Diurna	Tubo estaminal. Anteras sésiles.	Sobresale del centro del tubo estaminal. El estigma es de color amarillo.	Polen y néctar.	Mariposas Murciélagos Abejas	1	Neotropical	Baker 1998; Gibbs y Semir 2003
<i>C. crispiflora</i> (Kunth) Ravenna	Árbol	Campana	Campana	Color blanco o amarillento.	Diurna	Tubo estaminal. Anteras sésiles.	Estigma capitado.		Mariposas	3	Neotropical	Gibbs y Smir, 2003
<i>C. pentandra</i> C.F. Gaertn.	Árbol	Campana. Inflorescencia masiva.		Pétalos blancos a rosas. 3-3.5 cm.	Nocturna; la dehiscencia de polen ocurre una hora después.	5 filamentos con dos anteras c/u.	Estilo 5-lobado.	Néctar copioso	Murciélagos Aves Marsupiales Monos	1	Pantropical	Toledo, 1977; Baker, 1998; Thiruchenthil, 2005. Quesada et al., 2004; Lobo et al., 2005; Janson, 1981; Stoner 2003.
<i>C. parvifolia</i> Rose	Árbol	Campana		Color blanco.		5 filamentos.	Estilo más largo que filamentos. Estigma capitado.		Murciélagos	3(4)	Neotropical. México.	Gibbs y Semir, 2003
<i>Eriotheca ruizii</i> (K. Schum.) A. Robyns	Árbol	Brocha	Copa	Pétalos reflejos.		100 filamentos	Estigma capitado.	Néctar	Abejas	1	Neotropical. Sudamérica.	MacFarlane 2003. Oliveira 1992.
<i>E. gracilipes</i> (K. Schum.) A. Robyns	Árbol	Brocha. Pequeñas cimas axilares.	Copa	Pétalos reflejos.		220-250 filamentos, más largos que el tubo estaminal.	Estigma capitado.	Néctar, poca cantidad	Abejas	1	Neotropical. Sudamérica.	MacFarlane 2003; Robyns, 1963.
<i>E. roseorum</i> (Cuatrec.) A. Robyns	Árbol	Flores pequeñas. Inflorescencia cimosa.	Campanulada o tubular.	Pétalos planos no curvados la porción apical		Tubo estaminal obcónico rosado. 20-25 filamentos	Estigma capitado.	Néctar. 5 nectarios en el receptáculo	Abejas	1	Neotropical	Duarte et al., 2011.

<i>E. pubescens</i> (Mart. & Zucc.) Schott & Endl	Árbol	Flores pequeñas. Inflorescencia cimosa.	Copa.	Pétalos cóncavos.		100-130 filamentos, más largos que el tubo estaminal.	Estigma capitado.	No hay nectarios	Abejas	2	Neotropical	Oliveira, 1992; Duarte et al., 2011.
<i>E. longitubulosa</i> A. Robyns	Árbol	Copa.	Tubo.	Pétalos encurvados en la porción apical.		Tubo estaminal largo. 20-60 filamentos cortos.	Estigma capitado.	Néctar	Esfíngido	1	Neotropical.	MacFarlane 2003; Durarte et al., 2011.
<i>Gyranthera caribensis</i> Pittier	Árbol	Tubo. Inflorescencias cimosas, pedúnculo largo.	Tubular. 20 cm de largo.	Blancos, tubular.	Nocturna	Tubo estaminal 5 lóbulos con numerosas anteras sésiles y retorcidas espiralmente	Estilo alargado. Estigma 5-lobulado.		Murciélagos Esfíngidos	2	Panamá	Pitier, 1914; Janka et al 2008; von Balthazar et al 2006; Palacios, 2012.
<i>Huberodendron patinoi</i> Cuatrec.	Árbol	Copa	tubular	Blancos, del mismo tamaño que los sépalos.		Tubo estaminal. Anteras sésiles.	Estigma 5-lobulado		Murciélagos	3(4)	Costa Rica, Brasil, Bolivia y Perú	Cascante, 1997. Esteves, 2005. Bayer y Kubitzki, 2003.
<i>Neobuchia paullinae</i> Urb.	Árbol	Campana	Campana	Blancos		15 filamentos con anteras retorcidas.	Estilo 12 cm de largo.		Murciélagos	3(4)	Rep. Dominicana y Haití	Urban, 1902; Bayer y Kubitzki 2003.
<i>Pachira aquatica</i> Aubl.	Árbol	Brocha	Copa	Pétalos blancos	Nocturna	200-400 filamentos rosados en la base y blancos en el ápice.	Estilo blanco, estigma 5-lobulado	Néctar	Murciélagos (<i>Leptonycteris yerbabuena</i>)	1	Neotropical	Villa 1966, Stoner 2003; Flemmin et al 2009.
<i>P. quinata</i> (Jacq.) W.S. Alverson	Árbol	Brocha	Copa	Pétalos color blanco pubescentes	Nocturna	100-170 filamentos.	Estilo filiforme. Estigma 5-lobulado.	Néctar	Murciélagos Esfíngidos.	1	Neotropical	Fuchs et al., 2003.
<i>P. insignis</i> (Sw.) Sw. ex Savigny	Árbol	Brocha.	Copa	Blancos		450-700 filamentos blancos, dispuestos en falanges	Estilo sobrepasa a las anteras en longitud. Estigma 5-lobulado.		Murciélagos	3	Neotropical	Robyns, 1963.

<i>P. glabra</i> Pasq.	Árbol	Brocha	Copa	Pétalos verdosos y Blancos por fuera, extrorsos.	nocturna	210-270 filamentos. Blancos.	Estilo Blanco, estigma con 5 lóbulos, a la altura de las anteras.	Néctar.	Murciélagos	2	Nativa de Brasil. Cultivada en África tropical.	Baker, 1960.
<i>Pseudobombax ellipticum</i> (Kunth) Dugand	Árbol	Brocha	Copa	Pétalos extrorsos.	nocturna, flores siguen produciendo néctar a la mañana siguiente	Numerosos filamentos color rosa.	Estilo más largo que los filamentos. Retorcido en el ápice. Estigma 5-lobulado.	Polen y néctar	Murciélagos Aves	1	Neotropical	Carvalho-Sobrinho, 2006; Eguiarte et al 1987. Stoner 2002; Lobo 2003; Sánchez-Casas y Álvares 2000; Riechers 2003; Rodríguez-Peña 2007
<i>P. marginatum</i> (A. St.-Hil., Juss. & Cambess.) A. Robyns	Árbol	Brocha	Campana	Pétalos blancos reflejo.		500 filamentos repartidos en 5 falanges.		Néctar	Murciélagos	2	Neotropical	Machado y Lopes, 2004; Carvalho-Sobrinho, 2006.
<i>P. grandiflorum</i> (Cav.) A. Robyns	Árbol	Brocha	Cupuliforme o subtubuliforme	Pétalos blancos reflejos.	Nocturna	250-300 filamentos unidos en un tubo estaminal.	Estilo piloso, stigma capitado o 5-lobulado.	Polen y néctar	Murciélagos	1	Brasil	Peterle 2007. Barros, Rui y Fabián 2013
<i>Rhodognaphalon schumannianum</i> A. Robyns	Árbol	Brocha	Campana. Persistente	Pétalos adnados al tubo estaminal, carnosos.		150 filamentos, 5 falanges.	Estilo filiforme.	Receptáculo con glándulas de néctar	Murciélagos	3(4)	Paleotropical	Robyns, 1963.
<i>Scleronema micranthum</i> (Ducke) Ducke	Árbol	Inflorescencia axilar, con pocas y pequeñas flores	Campana	Pétalos reflejos		30 filamentos			Esfíngidos	3(4)	Neotropical (Brasil, Guyana, Perú)	Pennington et al., 2004.

<i>Spirotheca rosea</i> (Seem.) P.E. Gibbs & W.S. Alverson	Epífita estranguladora , Árbol	Tubular	Tubular	Pétalos color rosa o rojizo.	Diurna. Flor permanece abierta 3 a 5 días	5 filamentos. Anteras espiraladas, tetratedadas	Estilo filiforme, estigma capitado, 5- lobulado.	Néctar copioso	Aves	1	Neotropical. Costa Rica, Panamá, Col. Ecu. Perú y Bol.	Gibbs y Alverson, 2006; Rocca y Sazima, 2008, 2010; Buzato, 2000. Santos 1967
<i>Septotheca tessmannii</i> Ulbr.	Árbol	Inflorescenci a cimosa. Flores pequeñas tubulares (3- 4 cm).	Fusionado, tubular, 3 lóbulos. Persistente.	Pépalos blancos unidos formando un tubo.		Tubo estaminal con 5 lóbulos, muchas anteras sésiles, septadas.	Estilo delgado, 5 lobado.		Murciélagos	3(4)	Perú, Brasil: Amazonia	Pennington et al., 2004; Bayer y Kubitzki, 2003.
<i>Abutilon hybridum</i> hort. ex Voss	Arbusto	Campana	Campana	Pétalos rojizos. Campana.		Tubo estaminal rojo. Anteras libres en ápice.	Estilos 10, estigmas capitados.	Néctar	Aves	1	Pantropical	Abid et al., 2010
<i>Camptostemon schultzii</i> Mast.	Mangla r	Inflorescenci a axilar, flores pequeñas.	Campanula- do	Cinco pétalos Blancos (amarillos al madurar)		Un tubo estaminal con 20 filamentos libres.	Dos estigmas.		Abejas	3(4)	Asia y Australia	Bayer y Kbitzki, 2003.
<i>Gossypium hirsutum</i> L.	hierba	Campana	Epicaliz. Sépalos gruesos con una base ancha.	Corola amarilla con los pétalos formando una copa		Tubo estaminal del mismo largo que la corola. Termina en 5 puntas estériles. Unidades del androecio arregladas en 20 filas.	Estilo apenas sobrepasa el androceo.3- 5 estigmas decurrentes.	Polen y néctar	Abejas	1	Cosmopolita	Fryxell, 1993; Naik, 2011.

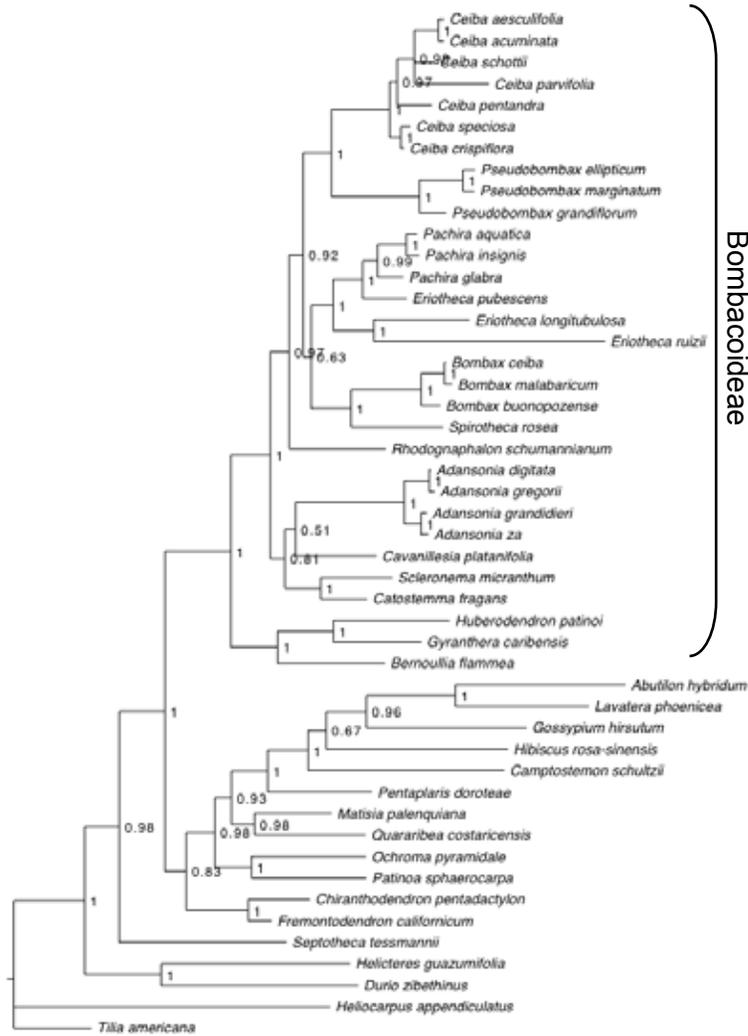
<i>Hibiscus rosa-sinensis</i> L.	arbusto	Campana	Epicaliz consiste en 5-6 lóbulos. Sépalos unidos dos tercios.		Diurna	El tubo estaminal se extiende más allá de las inserciones de las unidades del androceo y termina en cinco puntas estériles.	Estilos 5.	Néctar	Aves	2	Pantropical	Prendergast, 1982
<i>Matisia palenquiana</i> (A. Robyns) W.S. Alverson	Árbol	Flores pequeñas tubulares.	Tubo	Tubo	Nocturna	Tubo estaminal con 5 lóbulos y anteras sésiles.	Estilo simple con estigma capitado.		Murciélagos	3(4)	Neotropical	Pennington et al., 2004.
<i>Quararibea costaricensis</i> W.S. Alverson	Árbol	Flores pequeñas tubulares.	Tubo	Tubo	Nocturna	Tubo estaminal con muchas anteras sésiles.	Estilo simple con estigma capitado.	Néctar	Murciélagos	2	Neotropical	Baker, 1998; Macfarlane et al., 2003; Pennington et al., 2004.
<i>Ochroma pyramidale</i> (Cav. ex Lam.) Urb.	Árbol	Campana. Flores grandes.	Campanulado	Pétalos Blancos adnados a la base del tubo estaminal, carnosos, reflexos, Blancos o crema;	Nocturna	El androceo consiste en un tubo estaminal largo, con 5 lóbulos. Anteras sésiles,	Estilo filiforme-clavado, expandido en un amplio estigma espiral 5-sulcado.	Néctar	Murciélagos Mamíferos no voladores	1	Neotropical	Baker 1998; Mora et al., 1999.
<i>Patinoa sphaerocarpa</i> Cuatrec.	Árbol	Tubo	Tubo	Pétalos reflejos	Nocturna	Tubo estaminal con lóbulos lineares, cada uno con muchas anteras monotecas sésiles no septadas.	Ovario 5-locular, numerosos óvulos		Murciélagos	3	Neotropical	Pennington et al., 2004; von Balthazar et al 2006.
<i>Chiranthodendron pentadactylon</i> Larreat.	Árbol	Periantode un solo verticilo en forma de copa			Diurna	Tubo estaminal unilateralmente dividido,	Estilo curvado hacia los lóbulos del androceo.	Néctar	Aves	1	Neotropical	Toledo, 1977.

		pubescente y rojizo.				cinco lóbulos.						
<i>Fremontodendron californicum</i> (Torr.) Coville	Árbol	Periantode un solo verticilo en forma de disco, color amarillo.			Diurna	Tubo estaminal corto con cinco lóbulos del androceo que llevan largas, retorcidas y extrorsas unidades del androceo (por no decir anteras)	Estigma estrecho.		Abejas	3	Norteamérica	Bayer y Kubitzki, 2003; von Balthazar 2006.
<i>Sterculia apetala</i> (Jacq.) H. Karst.	Árbol	Flores muchas en racimo. Pequeñas. Unisexuales.	Cáliz fusionado. Sépalos amarillos con una mácula rojiza	Pétalos ausentes.		Tubo estaminal amarillo. 14 filamentos.	Estilos 5, estigmas capitados 5-lobulado.		Abejas	1	Neotropical	Ribeiro, 2007.
<i>Dombeya wallichii</i> (Lindl.) Baill.	Árbol	Inflorescencia cimosa	Sépalos fusionados en la base	Pétalos rosados	Diurna	5 estambres, presencia de estaminodios.	Estilo lobado o dividido.		Abejas	3 (4)	Paleotropical (Neotropical introducida)	Humeau et al., 2000.
<i>Tilia americana</i> L.	Árbol	Disco. Flores pequeñas.	Sépalos pubescentes	5 pétalos	Diurna (afternoon or early evening). Protándrica..	Estambres muchos y presencia de estaminodios.	Hercogamia. Estilo rollizo.	Néctar	Abejas	1		Anderson, 1976.
<i>Helicteres guazumifolia</i> Kunh.	arbusto	Flores pequeñas, tubulares.	Cáliz rojo, valvado.	La corola simpétala (23mm). Pétalos rojos.	6:00 y termina a las 18:00	Tubo estaminal sobre sale donde quedan libres los filamentos que también son rojos.	El estigma sobrepasa al tubo estaminal.	Néctar copioso	Aves	1	Neotropical	Baker, 1975; Cardoso y Sazima, 2003; Goldber, 2009.

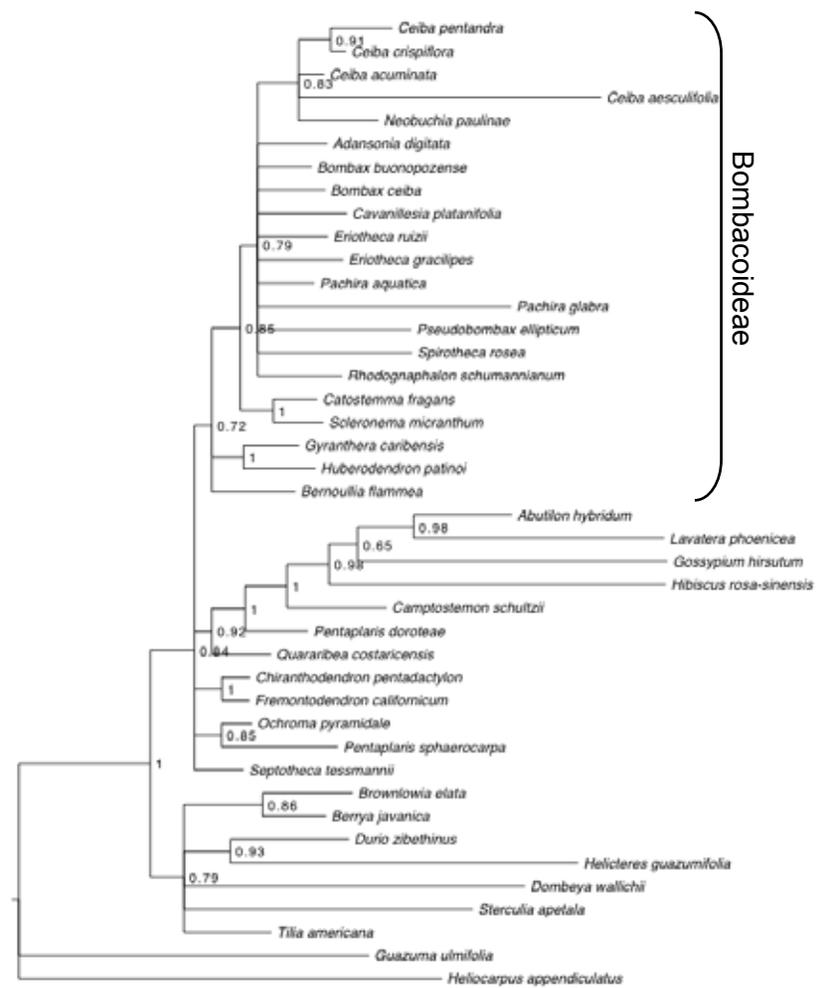
<i>Durio zibethinus</i> Rumph. ex Murray	Árbol	Inflorescencias			Crepúsculo			Néctar	Murciélagos	1	Pantropical (Neotropical cultivada)	Baker 1969; Baker 1998.
<i>Brownlowia elata</i> Roxb.		Pequeña brocha.	Campanula- do	Pétalos extrorsos amarillos.		Numerosos filamentos, más cortos que los pétalos.	Estilo y estigma simples. Hercogamia.	Néctar	Abejas	3(4)	Viejo Mundo	Bayer y Kubitzki, 2003;
<i>Guazuma ulmifolia</i> Lam.		Flores pequeñas, inflorescencia en panícula	Vedoso, piloso	Los pétalos curvados hacia adentro. Color crema.		Tubo estaminal rojo, termina en 5 ramas con 3 estambres c/u.	Estilo y estigma simples.	Néctar en cámaras	Abejas	2	Neotropical	Westerkamp et al., 2006. Pennington y Sarukhán, 2005.
<i>Heliochrysis appendiculatus</i> Turcz.	Árbol. Dioica.	Panículas terminales Flores amarillentas	4 sépalos de 4mm de largo.	4 pétalos de 3mm de largo		De 20-30, filamentos, en la base se unen en una columna.	Flores femeninas más pequeñas y sin estambres. Estilo de hasta el doble del largo del ovario y dividido en 2 ramas.		Esfíngidos	3	Neotropical	Pennington y Sarukhan, 2005.

Apéndice 4. Análisis filogenético de cada marcador con inferencia bayesiana. Árboles de consenso de 50%.

Probabilidades Posteriores asociadas a los nodos.

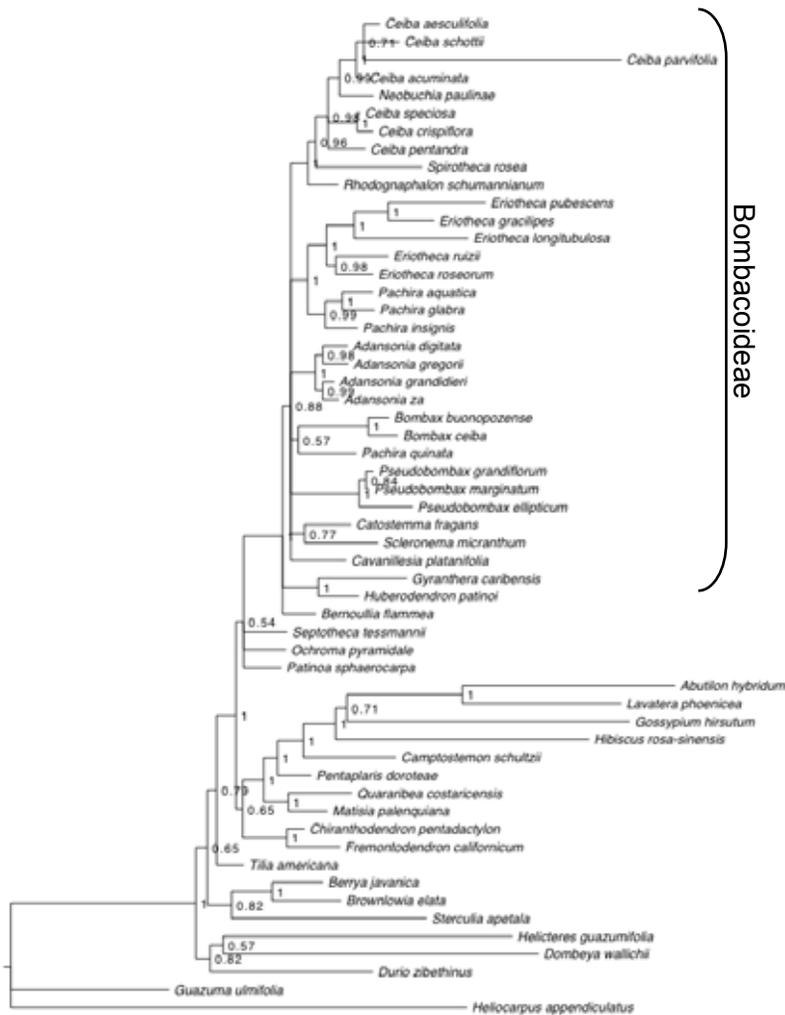


ITS

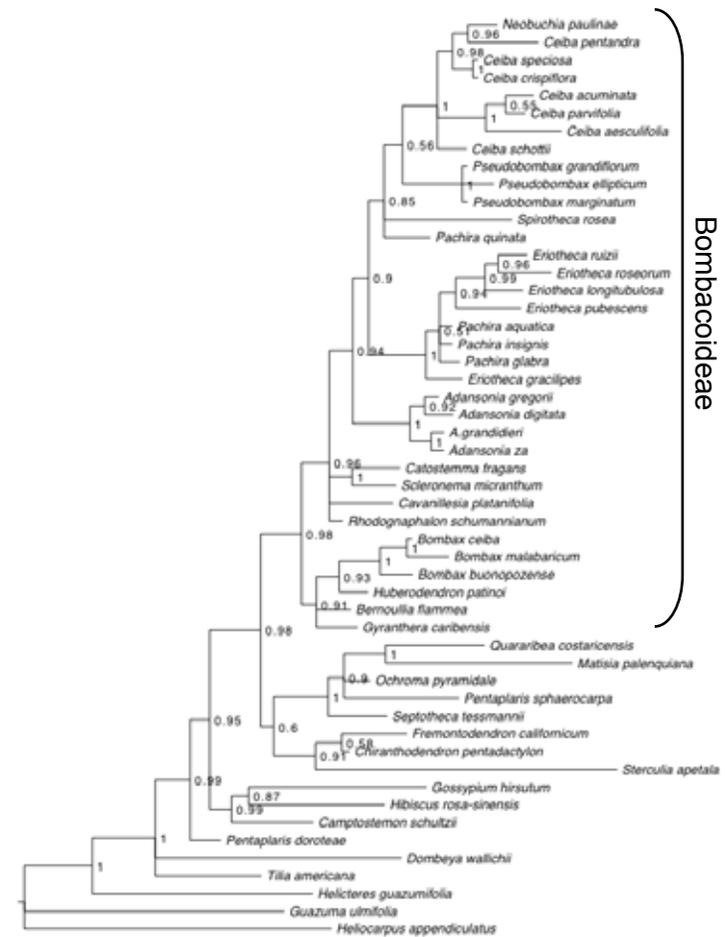


ndhF

Apéndice 4 (Continuación). Análisis filogenético de cada marcador con inferencia bayesiana. Árboles de consenso de 50%. Probabilidades Posteriores asociadas a los nodos.



trnK-matK



trnL-trnF