



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**Reconstrucción de los estados de carácter
ancestrales de las acacias mirmecófilas**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGA

PRESENTA

JESSICA ADMIN CÓRDOBA DE LEÓN

ASESORA: DRA. SANDRA LUZ GÓMEZ ACEVEDO



LOS REYES IZTACALA, TLALNEPANTLA, ESTADO DE MÉXICO, 2017



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.

Agradecimientos

A mi madre, por su apoyo y amor incondicional e infinito. Mis victorias son las tuyas, mamá.

A mi familia, porque siempre están ahí para mí.

A la Dra. Sandra Gómez, mi tutora, porque además de una guía y un apoyo absoluto, me ha brindado una gran amistad.

Esta investigación fue realizada en el laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales de la Unidad de Morfología y Función en la Facultad de Estudios Superiores Iztacala gracias al financiamiento proporcionado por el Programa UNAM-DGAPA-PAPIIT (IA203515).

Índice

1	Resumen / Abstract	4
2	Introducción	7
2.1	Reconstrucción de los estados de carácter ancestrales	8
2.2	Mutualismo planta-hormiga	13
2.3	Mirmecofilia en las acacias	17
3	Justificación y objetivos	23
3.1	Justificación	24
3.2	Objetivos	25
4	Materiales y métodos	26
5	Resultados	31
5.1	Reconstrucción de las características del ancestro común del grupo mirmecófilo y del grupo externo	32
5.2	Análisis independiente de la naturaleza de las variables	35
5.3	Análisis dependiente de la naturaleza de las variables	54
6	Discusión	70
6.1	Métodos de análisis utilizados	71
6.2	Reconstrucción de las características del ancestro común del grupo mirmecófilo y del grupo externo	72
6.3	Identificación de estados plesiomórficos y apomórficos y cambios observados en los caracteres examinados	73
6.3.1	Caracteres geográficos	76
6.3.2	Caracteres vegetativos	78
6.3.3	Caracteres reproductivos	97
6.3.4	Caracteres bioquímicos	102
6.4	Paleoambientes del Mioceno Superior y del Plioceno Inferior	103
6.5	Influencia del paleoambiente sobre la evolución de los caracteres mirmecofílicos	106
7	Conclusiones	108
8	Perspectivas	110
9	Literatura citada	112

1. Resumen / Abstract

1.1 Resumen

Las huellas que deja la evolución en la distribución de los caracteres entre los organismos actuales han sido una de las herramientas principales para el estudio de la evolución orgánica. La reconstrucción de estados de carácter ancestrales nos ofrece la posibilidad de conocer los cambios que sufren los caracteres en las especies a lo largo del tiempo evolutivo, entender el origen de las adaptaciones a las que dan lugar, comprender su función y discernir la manera en que las interacciones simbióticas que sostienen con otras especies influyen sobre dichos atributos. Las relaciones entre plantas y hormigas proporcionan numerosos ejemplos de mutualismo, uno de ellos corresponde a la interacción obligatoria y altamente especializada entre hormigas y acacias. Las acacias mirmecófilas neotropicales se caracterizan por la presencia de nectarios extraflorales, domacios y cuerpos de Belt, caracteres relacionados con su asociación mutualista con las hormigas. El objetivo del presente estudio fue conocer los posibles cambios evolutivos en los estados de los caracteres más representativos del grupo mirmecófilo de las acacias neotropicales. Para ello, se construyó una base de datos con todos los caracteres y estados de carácter reportados en la literatura; con base en esta recopilación se construyó una matriz de estados de carácter, que después se utilizó para realizar la reconstrucción de los estados ancestrales a través de dos análisis distintos: el de máxima parsimonia y el de máxima verosimilitud. Se encontró que durante la transición del grupo externo al grupo mirmecófilo: los rangos de distribución altitudinal se contrajeron, las hojas se alargaron en un primer paso y luego se hicieron más pequeñas, la cantidad de pares de pinnas por hoja y de pínulas por pinna disminuyeron, la longitud y el ancho de las pínulas aumentaron, la longitud máxima de pecíolo incrementó, la cantidad de nectarios extraflorales por pecíolo también creció y la forma de los nectarios cambió de circulares a columnares (o cilíndricos) y en forma de canoa (o volcán), las estípulas espinescentes se modificaron en domacios y crecieron en longitud, y finalmente las especies perdieron los cianoglucósidos contra la herbivoría. De esta forma, la presión de selección que las relaciones simbióticas ejercen sobre las especies interactuantes se refleja en un conjunto sistemático de sus atributos. Además, los caracteres vegetales que distinguen al sistema mutualista *Acacia* - *Pseudomyrmex*, pudieron haber evolucionado al verse favorecidos por las limitadas condiciones cálido-húmedas que predominaban en los ambientes neotropicales del Mioceno Tardío y el Plioceno Temprano.

1.2 Abstract

The footprints left by evolution on the characters' distribution among current organisms have been one of the main tools in the study of organic evolution. The ancestral character states reconstruction gives us the chance of understanding the characters' changes in species over evolutionary time, determining the origin of the adaptations which they give rise to, comprehending their function and recognizing the way in which symbiotic interactions between them and other species influence these traits. Relationships between plants and ants provide us with many examples of mutualisms, one of them concerns the obligatory and highly specialized interaction between ants and acacias. Neotropical myrmecophilous acacias are characterized by the presence of extrafloral nectaries, domatia and beltian bodies, traits that are directly related to their mutualistic relationship with ants. The aim of this study was to know the possible evolutionary changes of the most representative character and character states in the myrmecophilous group of neotropical acacias. To do this, we built a database of all the characters and character states recorded in literature; based on this dataset we built a character state matrix, which was later used for performing the ancestral states reconstruction through two different methods: the maximum parsimony one and the maximum likelihood one. We found that during the transition from the outer group to the myrmecophilous group: the altitudinal distribution ranges shranked, the leaves lengthened in a first step and the got smaller in comparison to their initial size, the number of pinnae per leaf and leaflets per pinna reduced, the leaflets length and width increased, the petioles length enlarged, the amount of extrafloral nectaries also raised, and their shape changed from circular to columnar (or cylindrical) and canoe (or volcano-shaped), the stipular spines modified in domatia and grew in length, and finally, species lost their cyanoglucoside-compounds against herbivory. Thus, the selection pressures exerted by the symbiotic relationships over the interacting species are reflected in a systematic set of their traits. Furthermore, the vegetative characters that identify the *Acacia* - *Pseudomyrmex* mutualistic system may have evolved favored by the, although limited, warm and moist conditions that prevailed in neotropical environments of the Late Miocene and the Early Pliocene.

2. Introducción

La evolución es un fenómeno biológico difícil de estudiar. Raramente es suficientemente rápida para ser directamente observada y sólo en algunos casos es posible encontrar evidencias físicas, como fósiles o ADN, de estados y eventos pasados. Afortunadamente, la evolución deja sus huellas en la distribución de los caracteres entre los organismos actuales, huellas que han sido una de las principales herramientas para el estudio de la evolución orgánica. Esta aproximación histórica y comparativa es especialmente importante para el estudio de los caracteres adaptativos, pues sólo en un marco de referencia filogenético es que conceptos tan fundamentales como convergencia, paralelismo, y radiación adaptativa se vuelven significativos (Schultz et al., 1996; Pagel et al., 2004; Ronquist, 2004).

Por ello, para entender la evolución, es necesario conocer no sólo las características de los organismos actuales, sino también los presentes en sus ancestros. Dicho conocimiento dependía tradicionalmente del estudio del registro fósil, el cual, a pesar de estar repleto de ejemplos de transformaciones evolutivas, en muchas ocasiones no estaba disponible para muchas taxa y tipos de caracteres. Una alternativa cada vez más popular es la de reconstruir la historia evolutiva de los caracteres de interés de los individuos o bien, inferir las características del ancestro de dichas especies en función de un árbol filogenético (Cunningham et al., 1998; Mooers et al., 1999; Pagel et al., 2004; Ronquist, 2004).

2.1 Reconstrucción de los estados de carácter ancestrales

Los caracteres son definidos como conjuntos individualizados de rasgos (estados) que son el resultado de duplicaciones, fusiones, o adquisiciones externas (novedades) en los taxa; mientras que, los estados de carácter son definidos como rasgos mutuamente excluyentes de un solo conjunto de ellos. En otras palabras, los caracteres son cualquier tipo de rasgos heredables de un organismo y son usualmente descritos en términos de sus estados, por ejemplo: “presencia de cabello” o “ausencia de cabello”, donde “cabello” es el carácter y “presencia” o “ausencia” son sus estados (Freudenstein, 2005; Collins et al., 2009).

La estimación de las características de especies hipotéticas ancestrales en el contexto filogenético es un dominio de la biología comparada filogenética. Los modelos evolutivos y el conjunto de supuestos proporcionados por el método comparado pueden ser utilizados para descubrir, en una manera que podría ser descrita como “paleontología estadística”, la diversidad de caracteres biológicos (secuencias de nucleótidos o aminoácidos, rasgos ecológicos, fenotípicos o biogeográficos) manifestados en las especies ancestrales, así como la naturaleza de los procesos

evolutivos subyacentes (Harvey y Pagel, 1991; Pagel, 1994, 1998, 1999; Omland, 1999; Vanderpoorten y Goffinet, 2006; Revell, 2013; Royer-Carenzi et al., 2013).

Esta es una idea intrigante, pues nos ofrece la posibilidad de vislumbrar el pasado, de descubrir cómo evolucionan los caracteres y de entender su función. El amplio rango de preguntas que pueden ser dirigidas a través de la inferencia de estados ancestrales o trayectorias de cambio de los caracteres clave en los árboles filogenéticos es fascinante. La reconstrucción de los probables estados ancestrales de los organismos ha sido utilizada para revelar homologías entre caracteres; estudiar el conservadurismo morfológico y la homoplasia; comprobar si en algún sistema en específico existe evolución neutral o divergencia funcional; detectar transiciones correlacionadas entre caracteres en linajes coevolutivos; deducir el proceso de selección al que se sujetan ciertos caracteres; examinar el origen de las adaptaciones; inferir proteínas y genes que existieron hace millones de años; evaluar variaciones en las tasas de diversificación; identificar patrones de dispersión pasados; explorar cómo los procesos microevolutivos se vinculan con los patrones macroevolutivos; re-evaluar clasificaciones pasadas; investigar las características antiguas de la vida en la Tierra, así como para evaluar hipótesis ecológicas y evolutivas (Collins et al., 1994; Cunningham et al., 1998; Pagel, 1999a y b; Pagel et al., 2004; Ronquist, 2004; Givnish et al., 2005; Ricklefs, 2007; Horn et al., 2009; Schäffer et al., 2010; Simpson, 2010; Webster et al., 2012; Nürk et al., 2013; Soltis et al., 2013; Royer-Carenzi et al., 2013; de Oliveira et al., 2014; Cunha et al., 2015; Wu et al., 2015).

Así, la reconstrucción de los estados de carácter ancestrales es crucial para un amplio rango de programas de investigación en sistemática y evolución (Omland, 1999). Coddington (1988) argumentó que muchas hipótesis adaptativas pierden su sentido sin información acerca del orden y tiempo de los cambios de estado de carácter. Mientras que, de acuerdo con Schultz et al., (1996) sólo a través del enfoque comparativo e histórico, que esta herramienta nos brinda, conceptos fundamentales como convergencia, paralelismo y radiación adaptativa se vuelven significativos. De la misma forma, Donogue (1989) señaló que las reconstrucciones de los estados de carácter son, a menudo, la única fuente de información acerca de temas importantes, como el número de veces que un estado de carácter ha surgido independientemente.

La reconstrucción de estados ancestrales ofrece un marco de referencia único en el análisis evolutivo, pues complementa los enfoques paleontológicos tradicionales y nos capacita para investigar caracteres que no se fosilizan como la conducta o la fisiología, o bien, examinar grupos taxonómicos donde la evidencia fósil no existe o es excesivamente escasa (Pagel, 1999a y b; Pagel et al., 2004; Vanderpoorten y Goffinet, 2006).

A pesar de su gran importancia, la reconstrucción de los estados de carácter ancestrales plantea un tremendo desafío debido a las limitaciones inherentes de los datos (Omland, 1999). Como Maddison y Maddison (1992) aclararon "...si nuestra meta es reconstruir la secuencia precisa de los cambios evolutivos en el carácter, es necesario caer en la cuenta de que la secuencia precisa de cambios requiere de la estimación de casi tantos parámetros como puntos de datos (observaciones de taxa terminales)."

Algunas de las limitaciones que la reconstrucción de los estados de carácter presenta es que tienden a volverse menos fidedignas hacia la raíz del árbol, aun cuando se conozca completamente la filogenia (Cunningham et al., 1998; Oakley y Cunningham, 2000). Sin embargo, también se ha observado que un incremento en el muestreo de taxones aumenta la exactitud de la estimación de la raíz y de los nodos internos (Maddison, 1995; Salisbury y Kim, 2001). De la misma forma, las tendencias evolutivas pueden reducir la precisión de las reconstrucciones de estados de carácter, especialmente para los métodos que asumen el movimiento Browniano como modelo para cambio de carácter (Schluter et al., 1997; Cunningham et al., 1998; Garland et al., 1999; Oakley y Cunningham, 2000). Asimismo, estudios teóricos y simulaciones previas han demostrado que la precisión de estos análisis es baja cuando las tasas de evolución son altas (Holmquist, 1979; Saitou, 1989; Tatenó, 1990; Maddison y Maddison, 1992; Collins et al., 1994; Frumhoff y Reeve, 1994).

La mayoría de estas limitaciones se relacionan con el hecho de que los taxa existentes representan sólo un subconjunto de la diversidad evolutiva total de cualquier clado, y, por lo tanto, cualquier conclusión basada únicamente en los taxa existentes debe ser tomada con cautela. Las inferencias realizadas a través de la reconstrucción de estados de carácter ancestrales hacen necesariamente una suposición implícita, pero problemática, de que la distribución de los caracteres entre los taxa vivientes registra fielmente los patrones de evolución de los caracteres a lo largo de la historia de ese grupo (Finarelli y Flynn, 2006).

Aunado a lo anterior, la incertidumbre filogenética, es decir, el desconocimiento de si el árbol utilizado en la reconstrucción es una representación válida de las relaciones filogenéticas entre las especies, así como de los grados de divergencia entre ellas, representa otro problema. Distintos árboles dan frecuentemente distintas respuestas a las preguntas de índole comparativo (Pagel y Lutzoni, 2002; Pagel et al., 2004; Ronquist; 2004). Una forma de considerar la incertidumbre filogenética en la reconstrucción de los estados de carácter ancestrales fue proporcionada por el programa Mesquite, que encuentra el modelo que se ajusta mejor para cada árbol y deriva a partir

de ello los estados ancestrales correspondientes. Este procedimiento permite realizar una evaluación de la variación entre árboles (Maddison y Maddison, 2015).

Se han desarrollado distintos métodos para abordar el problema de la reconstrucción de los estados de carácter ancestrales. Dos de los más discutidos y utilizados son el de máxima parsimonia y el de máxima verosimilitud. Ambos se utilizan también frecuentemente para la reconstrucción de las filogenias pues la reconstrucción de los estados de carácter ancestrales a menudo juega un papel importante en los procedimientos utilizados para la inferencia filogenética (Harvey y Pagel, 1991).

Método de máxima parsimonia

En el método de máxima parsimonia, los estados de carácter de los taxa ancestrales son inferidos por separado para cada topología bajo la suposición de que los cambios entre cada estado ocurren en todas las direcciones posibles. El número total de cambios de estados de carácter que expliquen el proceso evolutivo completo para una topología dada es entonces contabilizado. Este cómputo se realiza para todas las topologías potencialmente correctas y la topología que requiera el menor número de cambios, es decir, el menor número de orígenes independientes de los caracteres compartidos, es elegido como el mejor árbol. De esta forma, la parsimonia se construye alrededor de la proposición de que el “mejor árbol” es aquel que describe la evolución de cualquier conjunto particular de caracteres usando el menor número posible de cambios evolutivos de los caracteres bajo escrutinio (Harvey y Pagel, 1991; Nei y Kumar, 2000; Wiley y Lieberman, 2011).

Las dos formas más comunes de parsimonia están directamente relacionadas con la manera en que tratamos las relaciones entre los estados de carácter dentro de una serie de transformación; una de estas formas corresponde a la parsimonia de Fitch (Felsenstein, 1982; Harvey y Pagel, 1991; Wiley y Lieberman, 2011). La parsimonia de Fitch (Fitch, 1971) considera todos los estados de carácter como desordenados. Cuando tres o más estados de carácter existen, una reversión del estado número dos al estado número cero o una transformación del estado cero al dos se cuenta como un solo paso, es decir, cualquier transición de estado a estado es posible. Este tipo de parsimonia se utiliza comúnmente para analizar caracteres morfológicos multiestado (Harvey y Pagel, 1991; Wiley y Lieberman, 2011).

El método de máxima parsimonia para la reconstrucción de los estados de carácter ancestrales a través de la comparación con un grupo externo es muy eficaz cuando el grado de divergencia entre

especies es bajo y es particularmente exitoso en el análisis de caracteres discretos que varían dicotómicamente (Harvey y Pagel, 1991).

Este método se encuentra, en general, embebido en un marco hipotético-deductivo, pues la hipótesis elegida es falsificada por el árbol escogido si alguna regla que especifica dicha hipótesis es violada. Sin embargo, es posible abordar el problema desde un enfoque completamente diferente, al mirar la reconstrucción como un problema estadístico. Un procedimiento estadístico a seguir es el método de máxima verosimilitud (Harvey y Pagel, 1991).

Método de máxima verosimilitud

En el método de máxima verosimilitud se escoge al árbol que tiene la probabilidad más alta de producir el conjunto de datos observados dado un modelo evolutivo específico adoptado por el investigador, la topología del árbol y la longitud de ramas entre nodos. El modelo es utilizado para caracterizar el proceso responsable del cambio en los caracteres y calcular las probabilidades de observar los datos en un árbol específico. Los parámetros a ser considerados no son las topologías, por ello no se estima una topología maximizando la probabilidad de sus parámetros, sino que simplemente se escoge la topología con la probabilidad más alta, bajo la suposición de que es probable que una topología con una buena estimación de la longitud de sus ramas corresponda al árbol verdadero (Harvey y Pagel, 1991; Nei y Kumar, 2000; Wiley y Lieberman, 2011). De esta forma, al igual que los métodos de máxima parsimonia, el método de máxima verosimilitud produce una estimación puntual del mejor árbol dado el criterio de que el modelo ajustado, es decir, los datos ajustados en una topología definida y sus parámetros es el “mejor modelo” (Wiley y Lieberman, 2011).

Los estimadores de máxima verosimilitud tienen la propiedad de ser consistentes en un amplio rango de tasas evolutivas y topologías filogenéticas. Esta propiedad asegura que sea más probable que el estimador arroje los resultados correctos y las varianzas más pequeñas mientras más datos sean recolectados (Harvey y Pagel, 1991; Nei y Kumar, 2000).

Tanto el método de máxima parsimonia como el de máxima verosimilitud en la reconstrucción de los estado de carácter ancestrales han sido utilizadas anteriormente en distintos grupos y para distintos fines, como: el estudio de los patrones de colonización y dispersión del género hawaiano *Psychotria* (Nepokroeff et al., 2003); la reconstrucción del tamaño corporal del orden Caniformia (Finarelli y Flynn, 2006); el análisis de la evolución del área cefálica de un grupo de “arañas asesinas” endémico de Madagascar (Wood et al., 2007); el análisis de los síndromes de

polinización del género *Ruellia* (Tripp y Manos, 2008); el estudio de la morfología de las extremidades de los reptiles del género *Lerista* (Skinner, 2010); la caracterización histórica del mecanismo de la muerte celular programada del suspensor durante el desarrollo embrionario de las leguminosas (Endo, 2012); así como la evaluación de la exactitud de los esquemas actuales de clasificación taxonómica y el rastreo evolutivo de los caracteres diagnósticos del orden Oribatida (ácaros; Schäffer et al., 2010) y de la familia Urticaceae (Wu et al., 2015), entre muchos otros, todos los anteriores con resultados estadísticamente satisfactorios.

De este modo, a través de herramientas como la reconstrucción de los estados de carácter del ancestro común más reciente de un grupo en específico es posible dar respuesta a un sinnúmero de preguntas de índole evolutiva, entre ellas, la influencia de las relaciones simbióticas, como la mirmecofilia, sobre la evolución de los atributos de las especies interactuantes.

2.2 Mutualismo planta-hormiga

Todos los organismos se desarrollan en una compleja red de interacciones ecológicas que influyen significativamente en la evolución de sus caracteres y por lo tanto, en la diversificación y especiación de sus linajes. Dichas interacciones pueden variar en un gradiente que va desde el antagonismo hasta el mutualismo. El mutualismo es una asociación entre organismos de distintas especies que incrementa la adecuación de cada individuo interactuante. En general, el mutualismo se basa en el intercambio de recursos: una de las especies provee típicamente un servicio mientras que, la otra especie provee una recompensa (Howe y Westley, 1989; Bronstein, 1994; Chenuil y McKey, 1996; Fiala et al., 1999).

Las relaciones entre plantas y hormigas proporcionan numerosos ejemplos de mutualismo, variando desde asociaciones oportunistas, facultativas y generalistas, incluyendo protección contra herbívoros y dispersión de semillas, hasta interacciones obligatorias y altamente especializadas como las simbiosis entre hormigas y plantas mirmecófitas (Heil y McKey, 2003; Bronstein et al., 2006; Giladi, 2006; Rico-Gray y Oliveira, 2007; Heil, 2008; Mayer et al., 2014).

Las mirmecófitas poseen una gran variedad de rasgos ecológicos y morfológicos adaptativos, la mayoría de los cuales parecen estar relacionados con su asociación mutualista con las hormigas. Uno de estos rasgos consiste en estípulas espinoscentes, peciolos, tallos, rizomas y tubérculos huecos, o bien hojas modificadas que son usualmente utilizados por las hormigas como espacios de anidamiento y son llamados domacios. Las mirmecófitas producen domacios constitutiva e independientemente de la presencia de las hormigas, aunque la presencia de estas puede ayudar

a ampliar su espacio de anidamiento, por ejemplo al excavar el tejido medular de los tallos o ramas de las plantas (Janzen, 1966, 1967, 1969; Davidson y McKey, 1993; Jolivet, 1996; Jolivet, 1998; Bronstein et al., 2006; Gómez-Acevedo et al., 2010; Mayer et al., 2014).

Frecuentemente, las mirmecófitas también ofrecen recompensas alimenticias tales como cuerpos alimenticios ricos en nutrientes, nectarios extraflorales en las hojas o la secreción de melaza elaborada a partir de savia que los áfidos recolectan. Los cuerpos alimenticios pueden poseer una composición, forma y posición distinta en la planta dependiendo de la especie. Los nectarios extraflorales son órganos no involucrados en la polinización y dedicados a la secreción de pequeños volúmenes de néctar (alimentos ricos en carbohidratos) que se localizan en un conjunto de tejidos vegetativos y reproductivos de la planta, más comúnmente en las estructuras en desarrollo, incluyendo hojas, flores y frutos nuevos. Los nectarios extraflorales son altamente diversos en estructura y ontogenia. Muchas hormigas asociadas a plantas mirmecófitas también se ocupan de hemípteros trofobiontes que las proveen de ligamaza, o bien, melaza. Dichas estructuras manifiestan el alto nivel de especialización que han adquirido estas plantas a lo largo del tiempo evolutivo (Janzen, 1966, 1967; Elias, 1983; Davidson y McKey, 1993; Jolivet, 1998; Bronstein et al., 2006; Gómez-Acevedo et al., 2010; Mayer et al., 2014).

A cambio de la protección y la fuente alimenticia brindada, las hormigas protegen a las plantas contra la herbívora, los patógenos, otras plantas trepadoras o invasoras que podrían obstruir el desarrollo óptimo de la primera; asimismo, les brindan beneficios como la absorción de compuestos de nitrógeno y carbono provenientes de la descomposición de hormigas muertas y de excretas depositadas en los domacios que también sirven como cámaras de desechos, a esta interacción se le llama mirmecotrofia. Las hormigas muestran generalmente una gran fidelidad a plantas individuales, al anidar en ellas y derivar toda o la mayor parte de sus dietas de los recursos que ellas proveen (Janzen, 1966, 1967, 1969; Beattie, 1989; Treseder et al., 1995; Jolivet, 1996; Sagers et al., 2000; Fischer et al., 2003; Heil y McKey, 2003; Bronstein et al., 2006; Gegenbauer et al., 2012; Mayer et al., 2014).

El fósil de hormiga más antiguo inequívocamente identificado (Hymenoptera; Formicidae) data de hace aproximadamente 100 millones de años y la evidencia sugiere que las hormigas empezaron a diversificar incluso antes de esta fecha, entre el Cretácico Tardío y el Eoceno Temprano (Moreau y Bell, 2013). Las comunidades vegetales también sufrieron cambios espectaculares desde el Cretácico Temprano hasta el Cretácico Tardío (135-65 millones de años aproximadamente), las angiospermas diversificaron y radiaron rápidamente, desplazando a los helechos y las gimnospermas como dominantes ecológicos en la mayoría de los ecosistemas (Friis et al., 2011).

La diversificación y el surgimiento de la dominancia de las angiospermas probablemente desencadenó la de las hormigas, como sucedió con muchos otros grupos de insectos (Grimaldi y Engel, 2005). De esta forma, el registro fósil y el fechado con reloj molecular revelan que las hormigas y las plantas han estado conviviendo por al menos 120 millones de años (Brady et al., 2006; Moreau et al., 2006; Bell et al., 2010; Magallón et al., 2013; Moreau y Bell, 2013). El surgimiento de las angiospermas pudo haber proporcionado nuevos nichos para las hormigas a través del incremento en la disponibilidad de presas como resultado del aumento de la diversidad y abundancia de los insectos herbívoros, o bien a través de un cambio en la dieta de algunos linajes de hormigas del estado ancestral de carnivoría a una dieta basada en gran parte en recursos derivados de las plantas. Estos recursos incluyen a la ligamaza y al néctar extrafloral producido para atraer a las hormigas (y no a los polinizadores), que incidentalmente la protegían contra los herbívoros mientras buscaban néctar y cuerpos alimenticios ricos en nutrientes (Heil, 2007, 2008). En los ecosistemas actuales, muchas especies de hormigas dependen de estos recursos alimenticios derivados de las plantas (Heil y McKey, 2003; Stadler y Dixon, 2008). Por lo que, en la medida en que las angiospermas radiaron y empezaron a dominar, una mayor abundancia de recursos alimenticios de plantas, tanto en la forma de alimentos derivados de la planta como en la forma de insectos herbívoros como presas, atraían mayores cantidades de hormigas a las plantas, incrementando las oportunidades para la evolución de la interacción entre hormigas y plantas (Mayer et al., 2014). Así, las interacciones facultativas mediadas por los recursos alimenticios disponibles en la planta, o bien, las asociaciones parasíticas mediadas por los recursos ofrecidos por homópteros pudieron haber precedido la evolución de las mirmecófitas (McKey, 1989; Davidson y McKey, 1993). Las asociaciones más constantes, duraderas y exclusivas establecidas cuando las hormigas residen en las plantas ha conducido a la especialización de ambos compañeros. Dicha especialización podría incluir el incremento en la tasa del suministro de recursos hacia las hormigas por la plantas y el incremento en la eficacia de la protección de las hormigas. De acuerdo a este escenario coevolutivo desarrollado primeramente por Janzen (1966) y respaldado por un gran cuerpo de estudios, las hormigas que protegen mejor a su huésped y las plantas que invierten más en el mantenimiento de su colonia de hormigas protectoras, deberían de ese modo incrementar su propia sobrevivencia y reproducción (Heil y McKey, 2003).

Algunos de los caracteres que respaldan la larga historia evolutiva de esta interacción incluyen a los elaiosomas, los nectarios extraflorales y los domacios. Los elaiosomas, que son apéndices grasos en las semillas destinados para las hormigas dispersoras, pudieron haber surgido al menos hace 75 millones de años (Dunn et al., 2007). Los nectarios extraflorales, dedicados a la secreción de azúcar para el reclutamiento de hormigas mutualistas, se conocen a partir de fósiles

de hojas de una especie extinta de *Populus* del Oligoceno, es decir, de hace 35 millones de años (Pemberton, 1992) y surgieron independientemente cerca de 457 veces en las plantas vasculares (Weber y Keeler, 2013) y al menos 12 veces en las leguminosas (McKey, 1989). Cabe mencionar que, las especies de hormigas extintas encontradas en el sitio en el que se hallaron los especímenes de *Populus* tienen congéneres actuales que también defienden a las plantas (Pemberton, 1992). Por otro lado, la aparición de los domacios, estructuras destinadas al alojamiento de las hormigas, se estima hace 19 millones de años, es decir en el Mioceno Temprano y con un número mínimo de 158 orígenes (Chomicki y Renner, 2015).

Para los elaiosomas y los nectarios extraflorales, los análisis recientes sugieren que promovieron la diversificación, lo que indica que las relaciones mutualistas con insectos podrían haber influido en los patrones macroevolutivos (Lengyel et al., 2009; Weber y Agrawal, 2014). Por otra parte, algunos otros autores han propuesto que a pesar de que los cuerpos alimenticios y los nectarios extraflorales promueven la evolución de estas interacciones, la provisión del espacio de anidamiento, es decir, los domacios, son el factor más importante para el desarrollo de las relaciones mirmecofíticas obligadas, al promover una mayor constancia en la interacción, y por lo tanto un incremento en la eficacia de la protección (Fiala y Maschwitz, 1992a, b; Heil y McKey, 2003).

De acuerdo con la última revisión realizada existen 3941 especies distribuidas en 745 géneros pertenecientes a 108 familias de angiospermas (aproximadamente un cuarto de todas las familias vegetales existentes) y al menos 11 géneros dispuestos en 4 familias de helechos en los que es posible encontrar nectarios extraflorales, y las simulaciones sugieren que existe incluso una cantidad aún mayor (Weber y Keeler, 2013). Los nectarios extraflorales son especialmente abundantes en tres subclases de la clase Magnoliopsida: Dilleniidae, Rosidae y Asteridae (Elias, 1983), y algunas familias (como las leguminosas, donde podemos encontrar 1069 especies portadoras de nectarios extraflorales) y géneros son particularmente ricos en especies que los portan (McKey, 1989; Schupp y Feener, 1990; Weber y Keeler, 2013). En cuanto a los cuerpos alimenticios una estimación aproximada sugiere que existen al menos 90 géneros en 34 familias de angiospermas en las que podemos encontrar estas estructuras, sin embargo, el número real aún es desconocido (O'Dowd, 1980; Solano et al., 2005; Dutra et al., 2006; Webber et al., 2007a,b; Buono et al., 2008; Paiva et al., 2009; Mayer et al., 2014).

Las interacciones especializadas son considerablemente raras, pero aun así se encuentran en más de 100 géneros de angiospermas tropicales (Davidson y McKey, 1993) y en al menos 20 familias

(O'Dowd, 1982). Los domacios se conocen en al menos 681 especies de mirmecófitas, distribuidas en 159 géneros y 50 familias; pero la cantidad real podría llegar a ser de hasta 1139 especies, incluyendo aquellas que aún no han sido documentadas (Chomicki y Renner, 2015). Las plantas portadoras de domacios se encuentran presentes en una familia de helechos, ausentes en las gimnospermas y generalmente distribuidas en las angiospermas y aunque están ausentes en las eudicotiledóneas basales, las eudicotiledóneas más derivadas contienen a la mayoría de especies mirmecófitas, siendo Rubiaceae la familia con la mayor abundancia de estas especies (162 especies), seguida de la familia Melastomataceae (144 especies; Chomicki y Renner, 2015). En la familia Leguminosae es posible encontrar entre 36 y 65 especies portadoras de domacios, aunque se desconoce la cantidad real debido a la presencia registros dudosos (McKey, 1989).

Las simbiosis mirmecofíticas son a menudo componentes conspicuos y ecológicamente importantes de las comunidades tropicales, ya sea como un factor dominante del sotobosque (Morawetz et al., 1992; Fonseca y Ganade, 1996), como hierbas abundantes en áreas extensas (como las acacias mirmecofíticas de Centroamérica; Janzen, 1974) o como especies pioneras (Whitmore, 1967; Folgarait y Davidson, 1994; Ferguson et al., 1995; Davies et al., 1998). De esta forma, la mirmecofilia se conoce en formas de vida tan distintas como árboles, arbustos, hierbas y lianas y se distribuyen en ambientes tropicales, templados y áridos de todo el mundo (Schupp y Feener, 1990), aunque la evidencia apunta a que este tipo de mutualismos son mucho más abundantes y diversos en las regiones tropicales de Australasia, África y América. Tanto las hormigas como las mirmecófitas alcanzan su mayor riqueza en los trópicos de América, de la misma forma es este continente el que alberga la mayor variedad en las relaciones mirmecofíticas, seguida de Asia y finalmente de África, el cual es el más pobre. La riqueza que podemos encontrar en los Neotrópicos puede deberse a una rápida y reciente radiación de los géneros de mirmecófitas endémicas neotropicales. De esta forma, los valores estimados de la riqueza de especies mirmecofíticas es aproximadamente tres veces más grande en las regiones Neotropicales que en las Paleotropicales, y la diversidad local máxima (diversidad alfa) podría ser hasta dos veces más alta (Davidson y McKey, 1993; Jolivet, 1998; Mayer et al., 2014). Para todas estas plantas, los mutualismos de protección son un ingrediente importante de su éxito ecológico (Heil y McKey, 2003).

2.3 Mirmecofilia en las acacias

El género *Acacia* es el único taxón conocido cuyas especies mirmecófilas se presentan tanto en la región Neotropical como en la Paleotropical (McKey y Davidson, 1993). *Acacia* Miller *sensu lato* es

un género compuesto por aproximadamente 1450 especies, distribuidas en tres subgéneros: subg. *Acacia*, subg. *Aculeiferum*, y subg. *Phyllodineae*. De todas estas especies, sólo cuatro africanas y 15 neotropicales (todas pertenecientes al subg. *Acacia*) son mirmecófitas (Janzen, 1974; Rico-Arce, 2003; Lewis et al., 2005; Gómez-Acevedo et al., 2010).

El subgénero monofilético *Acacia* pudo haberse originado hace aproximadamente 14.88 ± 1.98 millones de años; edad que corresponde al Mioceno. La monofilia de este subgénero sugiere que las características propias de este grupo, como la presencia de estípulas espinescentes y de nectarios extraflorales se produjeron sólo una vez durante la evolución del género *Acacia* (Heil et al., 2004b; Gómez, 2010; Gómez-Acevedo et al., 2010).

El subgénero *Acacia* comprende 161 especies con distribución pantropical, de las cuales 73 pertenecen al continente africano, 60 corresponden al americano, 36 al asiático y 9 al australiano. Este subgénero se integra por dos grupos informales bien definidos: uno que contiene a las especies del Viejo Mundo (o bien, Paleotropicales) y el otro con las especies del Nuevo Mundo (o bien, Neotropicales) cada uno posee una edad promedio estimada de 12.34 ± 2.25 y 10.85 ± 2.97 millones de años respectivamente. Por esta razón se ha propuesto que las últimas resultaron de una radiación separada de aquella que dio origen a las primeras (Guinet y Vassal, 1978; Miller y Bayer, 2003; Gómez, 2010; Gómez-Acevedo et al., 2010).

Las cuatro especies de acacias mirmecófilas del Viejo Mundo (*A. bussei*, *A. drepanolobium*, *A. luederitzii* y *A. seyal*) poseen domacios y nectarios extraflorales, pero carecen de cuerpos alimenticios. Los estudios que analizan las especies de esta región, se centran principalmente en *A. drepanolobium*, cuyas ramas se encuentran densamente armadas con estípulas espinescentes de hasta 60 mm de longitud que tienen una base bulbosa y hueca que es utilizada como una cámara de anidamiento por las hormigas simbióticas. Las hojas de estas especies portan de 1 a 3 nectarios extraflorales a lo largo de su raquis central. Esta especie es comúnmente habitada por cuatro especies de hormigas (*Crematogaster sjostedti*, *C. nigriceps*, *C. mimosae* y *Tetraponera penzigi*) y a pesar de que un organismo en específico es dominado por una única colonia, típicamente múltiples especies coexisten dentro de este hábitat en escalas espaciales muy finas. *C. sjostedti* también habita en *A. seyal*, un árbol mirmecófilo paleotropical mucho menos abundante (Young et al., 1997; Stanton et al., 1999; Stanton et al., 2005). Además de albergar a las hormigas, las especies africanas también albergan a una diversa y abundante microfauna sin ningún equivalente en Centroamérica (Jolivet, 1998).

Las especies del Nuevo Mundo han sido colocadas en siete grupos informales distintos, todos sustentados por pequeñas diferencias morfológicas, estos conjuntos son: *A. acuífera* (Clarke y

Seigler, 1991; Clarke et al., 2009); *A. constricta* (Clarke et al., 1990); *A. choriophylla* (Clarke et al., 1989); *A. farnesiana* (Clarke et al., 1989); *A. macracantha* (Seigler y Ebinger, 1988); *A. rigidula* (Lee et al., 1989), y el grupo mirmecófilo (Janzen, 1974).

Las acacias mirmecófilas neotropicales son monofiléticas y están íntimamente relacionadas con el grupo *A. macracantha* (que también es monofilético) por ancestría común. Dicho ancestro pudo haber existido durante el Mioceno, hace aproximadamente 7.02 ± 1.95 millones de años, de manera que la edad de divergencia del grupo *A. macracantha* se ubica entre 2.00 ± 1.17 millones de años y 4.57 ± 2.14 millones de años, esto es, durante el Plioceno; mientras que, la edad correspondiente al grupo mirmecófilo se localiza alrededor de 5.44 ± 1.93 millones de años, o sea, a finales del Mioceno (Gómez, 2010; Gómez-Acevedo et al., 2010).

Las 15 especies de acacias mirmecófilas neotropicales (*A. allenii*, *A. cedilloi*, *A. chiapensis*, *A. cookii*, *A. cornigera*, *A. collinsii*, *A. gentlei*, *A. globulifera*, *A. hindsii*, *A. hirtipes*, *A. janzenii*, *A. mayana*, *A. melanoceras*, *A. ruddiae* y *A. sphaerocephala*) son arbustos o árboles con hojas compuestas bipinnadas que se caracterizan por tener: (1) estípulas espinescentes grandes y huecas que las hormigas vacían y limpian a través de un agujero de entrada que cavan en la punta de estas estípulas espinescentes mientras aún esta inmaduro y relativamente suave; (2) puntas de los folíolos modificadas en corpúsculos amarillos compuestos por lípidos (1-10% del peso seco), proteínas y aminoácidos libres (8-14% del peso seco), carbohidratos (3-11% del peso seco) y agua (18-24% del peso seco), llamados cuerpos de Belt, los cuales son cosechados por las hormigas y destinados principalmente para las larvas; (3) nectarios peciolares enormemente agrandados que secretan continuamente el néctar que constituye la principal fuente de agua y carbohidratos para las hormigas adultas; (4) producción anual de hojas y la retención de estas por la mayoría de los individuos, garantizando una fuente de alimento relativamente continua para las hormigas, dado que tanto los cuerpos de Belt, como los nectarios extraflorales consisten en derivados foliares; y (5) pérdida de la mayoría de los caracteres químicos (alcaloides y glicósidos cianogénicos) y estructurales que protegen a las acacias de la mayoría de los herbívoros (Rehr et al., 1973; Janzen, 1974; Heil et al., 2004a).

Cabe señalar que dentro del grupo mirmecófilo es posible distinguir un pequeño clado formado por *A. cedilloi*, *A. collinsii*, *A. globulifera*, *A. hindsii* y *A. hirtipes*, que carecen de cualquier sinapomorfía morfológica particular y no comparten una preferencia por el hábitat (Clarke et al., 2000; Gómez, 2010; Gómez-Acevedo et al., 2010).

Las acacias mirmecófilas difieren ecológicamente de las otras acacias en que, en sus hábitats naturales, no pueden sobrevivir hasta la madurez reproductiva sin las actividades protectoras de

una gran colonia de hormigas mutualistas obligadas. Las acacias mirmecófilas crecen tanto entre la vegetación natural como entre la perturbada por el hombre, y tanto en los estadíos primarios como en los secundarios de la sucesión. *A. cornigera*, *A. hindsii* y *A. collinsii* han invadido exitosamente pastizales densos, bordes de caminos o carreteras y terrenos baldíos, y pueden llegar a ser un componente principal de la biomasa en el proceso de sucesión de 1 a 5 años. Mientras que, *A. allenii*, *A. melanoceras* y *A. ruddiae* están aparentemente en peligro de extinción debido a que no pueden mantener una población reproductiva si no se encuentran en la selva tropical primaria no perturbada (Janzen, 1974).

En contraste con la mayoría de las acacias, las mirmecófilas habitan originalmente sitios naturalmente perturbados en los bosques, ya sea deciduos o perennifolios, con 2 a 5 metros de precipitación anual. La habilidad para competir con la vegetación que crece rápidamente en los hábitats más húmedos es el resultado directo de las actividades protectoras de las hormigas mutualistas, al lograr situar a la acacia en un micro hábitat altamente aislado y de esta forma, permitir que los meristemas (que gozan habitualmente de dureza estructural para su protección) sean blandos y aumenten su tasa de crecimiento. Irónicamente, esta alta tasa de crecimiento probablemente no sería probablemente posible en sitios más secos, y en estos sitios la planta no sería capaz de mantener a la colonia de hormigas debido a la pérdida de hojas durante la época de sequía (Janzen, 1974).

Cabe mencionar que algunas de las acacias mirmecófilas poseen las hojas más grandes que cualquier otra especie de acacia, característica que podría ser útil en los ambientes nublados que se presentan más comúnmente en los sitios húmedos que en los secos. En los hábitats más secos, muchas de las hojas más grandes caen durante la temporada seca y luego grupos axilares de hojas muy pequeñas proveen a la colonia de néctar y cuerpos de Belt (Janzen, 1974). Sin embargo, también es necesario señalar que en la región neotropical, las acacias extienden el síndrome mirmecofítico hacia las zonas semiáridas de México, Centroamérica y Paraguay, aunque sólo en México producen cuerpos beltianos (Jolivet, 1998).

Se distribuyen principalmente en las regiones costeras desde el centro de México hasta el noroeste de Colombia. De acuerdo a autores como Pedley (1986) y Rico-Arce (2003) la mirmecofilia en las acacias ha alcanzado su mayor desarrollo entre las especies de Mesoamérica, ya que, además de ser la más rica en acacias mirmecófilas obligadas, es en esta región donde podemos encontrar varios niveles de complejidad en la interacción.

Estas especies pueden encontrarse al nivel del mar en al menos una parte de su rango de distribución altitudinal, mientras que, los límites altitudinales superiores se encuentran entre 800 y

1200 m s. n. m., dependiendo de las condiciones de humedad y temperatura de estos niveles altitudinales; entre más húmedo y frío se vuelva un transecto altitudinal, más rápidamente desaparecen las especies mirmecófilas de la vegetación (Janzen, 1974).

Las acacias mirmecófilas florecen durante 4 a 8 semanas en la temporada seca, son polinizadas por abejas no específicas y es posible que necesiten entrecruzarse obligatoriamente. Las abejas son ocasionalmente atacadas por las hormigas. Sin embargo, algunas especies cuentan con estrategias específicas para evitar el conflicto entre hormigas mutualistas y polinizadores, una de ellas consiste en la separación espacial y/o temporal de los simbioses (Janzen, 1974).

Las vainas pequeñas permanecen en el receptáculo hasta la siguiente temporada de sequía, creciendo y madurando por varios meses antes de la siguiente cosecha de flores. Las semillas son dispersadas por aves que, o bien, se comen la vaina entera, o sólo se comen el conjunto de semillas embebidos en la pulpa dulce y húmeda. Las acacias mirmecófilas parecen ser las únicas especies de acacias neotropicales con semillas dispersadas por aves (Janzen, 1974).

Las acacias neotropicales mantienen una relación estrecha y exclusiva con las hormigas del grupo neotropical *Pseudomyrmex ferrugineus*, grupo compuesto por 10 especies (*P. ferrugineus*, *P. flavicornis*, *P. janzenii*, *P. mixtecus*, *P. nigrocinctus*, *P. particeps*, *P. peperi*, *P. satanicus*, *P. spinicola* y *P. veneficus*), de las cuales nueve son muy agresivas y defienden vigorosamente a las plantas, mientras que, el resto provee una defensa nula o muy pobre (Ward, 1993). Particularmente, este grupo de hormigas no se relaciona con ningún otro grupo de plantas y su rango de distribución colectivo, que va desde el este y oeste de México hasta Centroamérica y el norte de Colombia, es muy semejante al de las acacias mirmecófilas (Janzen, 1966; Ward, 1991). De acuerdo con Ward (1993) la especiación del grupo *Pseudomyrmex ferrugineus* ocurrió como una respuesta al aislamiento geográfico y, en este mismo sentido, Janzen (1966, 1974) propuso que las acacias y las hormigas han experimentado un proceso de coevolución difusa, en lugar de uno de especiación estricta, pues las especies de *Acacia* pueden interactuar con más de una especie de *Pseudomyrmex* y viceversa. A pesar de que las hormigas no son específicas a una especie de acacia, sí lo son a su forma de vida (Janzen, 1974).

Comúnmente sólo una colonia de *Pseudomyrmex ferrugineus* habita un individuo de *Acacia cornigera* en específico. Las obreras de las colonias pequeñas (menos de 50 individuos) sólo abandonan los domacios el tiempo suficiente para coleccionar alimento de los nectarios extraflorales y los cuerpos alimenticios. Cuando la colonia crece y llega a poseer de 50 a 100 individuos, todas las hojas de su hospedero comienzan a ser patrulladas. Finalmente, cuando la colonia cuenta con 200 a 400 individuos, las obreras se vuelven más agresivas y atacan tanto a hormigas de colonias

vecinas como a otros insectos que se posen sobre su hospedero (Janzen, 1967). Además las colonias de esta especie presentan una división de labores bien definida de acuerdo a su edad. Las hormigas más viejas son las encargadas de defender a la colonia por ser las más agresivas, mientras que, las más jóvenes cuidan a las larvas (Janzen, 1966).

Otra de las adaptaciones que caracterizan al sistema mutualista neotropical *Pseudomyrmex-Acacia* es la composición del néctar. Los nectarios extraflorales de *A. cornigera* secretan simultáneamente sacarosa e invertasa, una enzima cuya función es hidrolizar a este carbohidrato, dando lugar a la glucosa y la fructosa como productos finales de este proceso. Las hormigas de este sistema, a diferencia de sus congéneres, carecen de esta enzima en su sistema digestivo, por lo que, su presencia en el néctar que consumen es favorable para ellas, a la vez que funciona como una especie de candado para evitar la participación de “cheaters” o “tramposos” en este sistema (Heil et al., 2005). Además de estos compuestos, el néctar producido en dichas estructuras contiene proteínas relacionadas con la patogénesis, como glucanasas, quitinasas y peroxidasas que probablemente protegen a la planta y a la colonia de infecciones parasíticas (Heil et al., 2010).

Es necesario destacar que las acacias mirmecófilas neotropicales y el grupo *A. macracantha* están estrechamente relacionados entre sí por ancestría común; es decir que el grupo *A. macracantha* corresponde al grupo hermano del grupo mirmecófilo (Gómez, 2010; Gómez-Acevedo et al., 2010). En este sentido, Janzen (1974) reportó que la hibridación entre ellos suele ser más común que entre las distintas especies de acacias pertenecientes al grupo mirmecófilo y Gómez (2010) resaltó la existencia del intercambio de flujo génico entre ellos. Por esta razón, el primer conjunto, es decir, el grupo *A. macracantha*, será considerado como el grupo externo para la reconstrucción de los estados de carácter ancestrales del segundo conjunto, es decir, del grupo mirmecófilo.

3. Justificación y objetivos

3.1 Justificación

A pesar de que anteriormente se han hecho buenas diagnósis y descripciones del sistema mutualista neotropical *Acacia-Pseudomyrmex* (Janzen, 1966, 1967, 1974), los estudios sobre la dinámica evolutiva de esta interacción son escasos (McKey, 1989; Davidson y McKey, 1993; Heil y McKey, 2003) y lo son aún más los que buscan esclarecer las trayectorias evolutivas de los caracteres bajo selección.

Algunos autores han especulado acerca del posible origen de estas adaptaciones con base en observaciones de las características de los organismos actuales (McKey, 1989), otros teorizan acerca de las preadaptaciones a partir de las cuales dichos caracteres pudieron haber surgido y de los cambios que debieron haber sufrido (Davidson y McKey, 1993), mientras que, otros lo hacen acerca de los costos y los beneficios de las interacciones y la forma en que estos moldean a los caracteres, así como de la especialización de las relaciones y el papel de las presiones de selección que dicha especialización ejerce sobre los caracteres (Heil y McKey, 2003). En general, todos reflexionan sobre la influencia que estos rasgos pudieron haber tenido en el origen de las interacciones, o bien, el efecto que las últimas pudieron haber ejercido sobre las primeras (McKey, 1989; Davidson y McKey, 1993; Heil y McKey, 2003).

Sin embargo, ninguno ha logrado esclarecer cómo era el ancestro de las acacias mirmecófilas neotropicales, o bien, dilucidar la historia de cambio de los caracteres, así como cuándo y bajo qué condiciones ambientales e históricas surgieron y evolucionaron los caracteres de interés. El surgimiento y las trayectorias de cambio que caracteres tan interesantes como los presentes en este sistema han seguido a lo largo de su evolución, así como la influencia que las interacciones ecológicas de los organismos que los portan tienen sobre dichas trayectorias es una pregunta que puede ser abordada a través del uso de las herramientas que el método comparado nos proporciona.

La reconstrucción de los estados de carácter ancestrales del grupo mirmecófilo de las acacias neotropicales puede ser una de las posibles aproximaciones en la búsqueda de la respuesta a esta pregunta, y eventualmente en el entendimiento de este fenómeno al menos en este grupo en específico. Cabe destacar que la reconstrucción de los estados de carácter ancestrales ha sido utilizada anteriormente en distintos grupos y con distintos objetivos, pero todos con el fin último de responder preguntas de índole evolutiva y con resultados estadísticamente satisfactorios.

3.2 Objetivos

Debido a lo anterior, el presente estudio tiene como objetivo principal conocer los posibles cambios evolutivos en los estados de los caracteres más representativos del grupo mirmecófilo de las acacias neotropicales. Para alcanzar este objetivo, se plantearon los siguientes objetivos secundarios:

- Reconstruir los estados ancestrales de los caracteres geográficos, morfológicos (vegetativos y reproductivos) y bioquímicos más representativos de las acacias mirmecófilas neotropicales.
- Inferir, a través de la comparación de los estados ancestrales y los derivados, cómo han evolucionado los caracteres bajo la influencia de la asociación mutualista con las hormigas.
- Conocer el contexto paleoambiental en el que dichos estados se encontraban inmersos, que bien podría corresponder a aquel en el que los caracteres actuales pudieron haberse desarrollado.

4. Materiales y métodos

Se realizó una búsqueda bibliográfica de los caracteres geográficos, morfológicos y bioquímicos de las especies pertenecientes al grupo mirmecófilo de las acacias, así como de las correspondientes al grupo *A. macracantha*, el cual es considerado como el grupo externo. Es necesario mencionar que como resultado de dicha revisión bibliográfica se encontró que las siguientes fuentes corresponden a las únicas descripciones morfológicas y taxonómicas certeras de las especies estudiadas, y por ende, fueron únicamente estas fuentes las consultadas para la subsecuente construcción de la base de datos: Janzen (1974), Seigler y Ebinger (1988, 1995), Clarke y Seigler (1991) y Rico-Arce (2001, 2007). Dado que no existían reportes previos acerca del diámetro de inflorescencia de las especies *A. hirtipes* y *A. cedilloi*, se procedió a realizar la medición de dicho parámetro en los ejemplares depositados en el Herbario Nacional de México (MEXU).

Con base en la información recopilada se construyó una base de datos de los caracteres conocidos para cada una de las especies consideradas. A partir de esta base se elaboró una matriz de estados de carácter considerando algunos de los atributos más representativos. Dichos atributos se seleccionaron procurando cubrir todas las características geográficas, vegetativas, reproductivas y bioquímicas posibles, y adquiriendo, así, una visión integral de los cambios en los estados de carácter que sufrieron dichas especies a lo largo de su historia evolutiva. De este modo, se pretendía averiguar si, además de las modificaciones ya conocidas en los caracteres directamente asociados a la mirmecofilia, había ocurrido algún cambio en otros caracteres aparentemente no relacionados con ella, y si existía alguna relación entre dichos cambios y la simbiosis mirmecofítica. Así mismo, cabe mencionar que los caracteres seleccionados corresponden a aquellos para los cuales había información disponible y completa para todas (o la mayoría) de las especies examinadas.

Se seleccionaron un total de 23 caracteres para la construcción de dicha matriz. Los caracteres seleccionados fueron los siguientes: altitud (mínima y máxima); hábito; altura máxima; longitud máxima de hoja; pares de pinnas por hoja (mínimo y máximo); pares de pinnulas por pinna (mínimo y máximo); longitud de pinnulas (mínima y máxima); ancho de pinnulas (mínimo y máximo); longitud máxima de pecíolo; forma de los nectarios extraflorales; número de nectarios extraflorales por pecíolo; presencia de estípulas espinescentes modificadas o no modificadas; longitud de estípulas espinescentes; tipo de inflorescencia; diámetro de la inflorescencia; forma del fruto y dehiscencia del mismo.

Para la reconstrucción de los estados de carácter se utilizó el árbol filogenético propuesto por Gómez-Acevedo et al., (2010). Con el fin de evitar confusiones, la nomenclatura corresponde a la siguiente: el ancestro común del grupo mirmecófilo y del grupo externo (nodo A), el ancestro del

grupo mirmecófilo (nodo B), y finalmente el ancestro del grupo *A. macracantha* (nodo C). Para un primer análisis, todos los caracteres se trataron de la misma forma, independientemente de su naturaleza discreta o continua, es decir, se trató a los caracteres discretos como tales, mientras que, a los caracteres continuos se les convirtió en discretos. Por ello, se determinaron de 2 a 3 estados para cada carácter dependiendo de sus atributos. La definición de dichos estados en el caso de los caracteres continuos se llevó a cabo agrupando los estados más cercanos o parecidos entre sí, es decir, asociando a los estados que se solapanaban entre sí bajo una misma categoría. Los estados de carácter para cada carácter se enlistan en la tabla 1.

Tabla 1. Codificación y puntuación de los caracteres en este estudio.

Caracteres	Estados de carácter
<i>Caracteres geográficos</i>	
1. Altitud mínima (m s. n. m.)	0: 0 a 100; 1: más de 100
2. Altitud máxima (m s. n. m.)	0: 100 a 500; 1: 700 a 1200; 2: más de 1500
<i>Caracteres vegetativos</i>	
3. Hábito	0: árbol, 1: árbol-arbusto*
4. Altura máxima (m)	0: 1 a 6; 1: 6.1 a 12; 2: más de 12
5. Longitud de hoja (cm)	0: 14 a 20; 1: 20.1 a 30; 2: más de 30
6. Pares de pinnas por hoja (mínimo)	0: 1 a 5; 1: 5.1 a 10; 2: más de 10
7. Pares de pinnas por hoja (máximo)	0: 10 a 20; 1: 20.1 a 30; 2: más de 30
8. Pares de pínulas por pinna (mínimo)	0: 5 a 15; 1: 15.1 a 25; 2: más de 25
9. Pares de pínulas por pinna (máximo)	0: 20 a 30; 1: 30.1 a 50; 2: más de 50
10. Longitud mínima de pínula (mm)	0: 0.5 a 5; 1: 5.1 a 10; 2: más de 10
11. Longitud máxima de pínula (mm)	0: 0.5 a 10; 1: 10.1 a 20; 2: más de 20
12. Ancho mínimo de pínula (mm)	0: 0.1 a 1; 1: más de 1

13. Ancho máximo de pínula (mm)	0: 0.1 a 1.9; 1: 2 a 2.9; 2: más de 2.9
14. Longitud máxima de pecíolo (mm)	0: 10 a 15; 1: 15.1 a 20; 2: más de 20
15. Forma de nectarios extraflorales	0: volcán; 1: canoa; 2: columnar
16. Número de nectarios extraflorales por pecíolo	0: 1; 1: 2 a 7; 2: 4 a 14
17. Estípulas espinescentes	0: no modificadas; 1: modificadas
18. Longitud de estípulas espinescentes (mm)	0: menos de 50; 1: 50 a 75; 2: más de 75

Caracteres reproductivos

19. Tipo de inflorescencia	0: en espiga; 1: en cabezuela; 2: dedal
20. Diámetro de inflorescencia (mm)	0: 0.1 a 5; 1: más de 5
21. Forma de fruto	0: terete o cilíndrico casi terete; 1: comprimido a ligeramente cilíndrico; 2: aplanado
22. Dehiscencia del fruto	0: indehiscente; 1: dehiscente

Caracteres bioquímicos

23. Metabolitos secundarios	0: sin cianogénicos; 1: S-proacacipetalina; 2: R-epiproacacipetalina
------------------------------------	--

*Las especies que tienen una forma de vida correspondiente al estado de carácter árbol-arbusto pueden desarrollarse presentando cualquiera de estos dos hábitos.

En un segundo análisis, se discriminó a los caracteres dependiendo de su naturaleza discreta o continua. Las variables continuas se analizaron de forma independiente a las variables discretas, con el fin de no categorizar los valores de las primeras en rangos definidos y de esta forma, obtener un análisis más fino. Las matrices resultantes se utilizaron para realizar la reconstrucción de los estados de carácter ancestrales. Considerando que los diferentes métodos analíticos presentan diversas ventajas y limitaciones, en este estudio se ejecutaron tanto el método de máxima parsimonia como el de máxima verosimilitud para la reconstrucción de los estados de carácter. Ambos análisis fueron realizados en el programa Mesquite 3.04 (Maddison y Maddison, 2015). En la reconstrucción realizada con el método de máxima parsimonia los estados de carácter

fueron tratados como desordenados, es decir, se utilizó la parsimonia de Fitch. Asimismo, se empleó el modelo Markov k-state de 1 parámetro (Mk1) para la reconstrucción bajo el método de máxima verosimilitud, con la misma probabilidad para cualquier cambio de carácter.

Con los resultados obtenidos se establecieron los estados de carácter plesiomórficos y apomórficos del grupo mirmecófilo y se compararon entre sí con el fin de apreciar los cambios que dichos caracteres sufrieron durante la transición del grupo externo al grupo mirmecófilo.

Se realizó una búsqueda y síntesis bibliográfica sobre el contexto paleoambiental en el que se desarrollaron los distintos linajes del grupo mirmecófilo y sus estados de carácter actuales. Para ello, se rastrearon todos los reportes posibles que correspondieran a la caracterización o descripción cualitativa de lo ocurrido en el Neotrópico durante el periodo temporal comprendido entre finales del Mioceno e inicios del Plioceno (edad correspondiente a la diversificación del grupo externo y el grupo mirmecófilo). La búsqueda se llevó a cabo de septiembre a diciembre del 2016 en el servicio de información científica ISI Web of Knowledge, el motor de búsqueda Google Scholar y el catálogo de tesis de la UNAM. La investigación cubrió los estudios publicados entre 1970 y 2016 e incluyó todas las combinaciones y derivaciones de los siguientes términos: paleoenvironment, paleoclimate, paleoecology, paleobotany, upper/late Miocene, lower/early Pliocene, Miocene/Pliocene boundary, neotropical, New World. Las publicaciones resultantes de dicha búsqueda fueron cuidadosamente examinadas, extrayendo la información útil de cada una de ellas. Más adelante, los datos comunes a todas o la mayoría de ellas se sintetizaron en un breve resumen. Posteriormente, con base en el conocimiento disponible de las características paleoambientales del Neotrópico y las condiciones bajo las que actualmente se desarrollan las acacias mirmecofilas, se infirió cuáles de estas variables pudieron haber influido sobre la evolución de dichos caracteres, así como la forma en que pudieron haberlo hecho.

5.Resultados

5.1 Reconstrucción de las características del ancestro común del grupo mirmecófilo y del grupo externo

De acuerdo a los análisis llevados a cabo, el ancestro común del grupo mirmecófilo y del grupo *A. macracantha* (nodo A) se distribuía en un rango altitudinal mínimo de 0 a 25 m s. n. m. y en un rango máximo de 820 a 1060 m s. n. m., poseía un hábito correspondiente a la combinación de árbol-arbusto y tenía una altura máxima de 11.8 a 14.4 m. La longitud máxima de sus hojas era de 29.6 a más de 32.2 cm. Presentaba de 5 a más de 30 pares de pinnas por hoja y de 15 a más de 50 pares de pínulas por pinna. Sus pínulas medían de 2.64 a 8.58 mm de largo y de 0.6 a 1.96 mm de ancho. Sus pecíolos tenían una longitud máxima de 15 a 17.5 mm. Sus nectarios extraflorales eran circulares y presentaba de 1 a raramente 2 por pecíolo. La longitud de sus estípulas espinescentes variaba entre 46 y 55 mm. Sus inflorescencias eran en forma de cabezuela y medían de 10.3 a 11.2 mm de diámetro. Sus frutos eran indehiscentes y utilizaba la S-proacacipetalina como defensa bioquímica contra la herbivoría. El análisis no arrojó resultados definitivos con respecto a si poseía estípulas espinescentes modificadas o no modificadas y a la forma de su fruto.

Los estados de carácter presentes tanto en el ancestro común del grupo mirmecófilo y del grupo externo *A. macracantha* (nodo A), como en los ancestros de cada uno de estos grupos en particular (nodos B y C), de acuerdo a los resultados obtenidos a través de ambos análisis, el independiente y el dependiente de la naturaleza de las variables, se resumen en la tabla 2. Seguido de ello se presentan y discuten detalladamente los resultados alcanzados por medio de cada uno de los análisis ejecutados.

Tabla 2. Estados de carácter observados en el ancestro común del grupo mirmecófilo y del grupo *A. macracantha* (nodo A), en el ancestro del grupo mirmecófilo (nodo B) y en el ancestro del grupo *A. macracantha* (nodo C). Los datos pertenecientes a un mismo carácter y nodo, ubicados en la primera fila de cada carácter corresponden a los resultados del análisis independiente de la naturaleza de las variables, mientras que, los localizados en la segunda fila corresponden a los resultados del análisis dependiente de la naturaleza de las variables, es decir, de los caracteres continuos.

Carácter	Nodo A	Nodo B	Nodo C
<i>Caracteres geográficos</i>			
Altitud mínima (m s. n. m.)	0 a 100	0 a 100	0 a 100
	0 a 25	0 a 25	0 a 25
Altitud máxima (m s. n. m.)	más de 1500 ó 100 a 500	100 a 500	más de 1500
	820 a 1060	340 a 580	1300 a 1540
<i>Caracteres vegetativos</i>			
Hábito	árbol-arbusto	árbol-arbusto	árbol
Altura máxima (m)	6.1 a 12	6.1 a 12	6.1 a 12
	11.8 a 14.4	9.2 a 11.8	11.8 a 14.4
Longitud máxima de hoja (cm)	20.1 a 30 ó más de 30	más de 30	20.1 a 30
	29.6 a 32.2	32.2 a 34.8	24.4 a 27
Pares de pinnas por hoja (mínimo)	5 a 10	5 a 10	5 a 10
Pares de pinnas por hoja (máximo)	más de 30	más de 30	más de 30
Pares de pínulas por pinna (mínimo)	15 a 25	15 a 25	15 a 25
Pares de pínulas por pinna (máximo)	más de 50	más de 50	más de 50
Longitud mínima de pínula (mm)	0.5 a 5	0.5 a 5	0.5 a 5
	2.64 a 3.56	3.56 a 4.48	1.72 a 2.64
Longitud máxima de pínula (mm)	0.5 a 10	0.5 a 10	0.5 a 10
	6.52 a 8.58	8.58 a 10.64	4.46 a 6.52
Ancho mínimo de pínula (mm)	0.1 a 1	0.1 a 1	0.1 a 1
	0.6 a 0.75	0.9 a 1.05	0.45 a 0.6

Ancho máximo de pínula (mm)	1 a 1.9	2 a 2.9	1 a 1.9
	1.62 a 1.96	1.96 a 2.3	1.28 a 1.62
Longitud máxima de pecíolo (mm)	10 a 15	15 a 20	10 a 15
	15 a 17.5	17.5 a 20	12.5 a 15
Forma de nectarios extraflorales	circular	columnar o canoa	circular
Número de nectarios por pecíolo	1 a raramente 2	1 a raramente 2	1 a raramente 2
Estípulas espinescentes	¿?	modificadas	no modificadas
Longitud de estípulas espinescentes (mm)	más de 75 o menos de 50	más de 75	menos de 50
	46 a 55	64 a 73	28 a 37

Caracteres reproductivos

Tipo de inflorescencia	cabezuela	cabezuela	cabezuela
Diámetro de inflorescencia (mm)	más de 5	más de 5	más de 5
	10.3 a 11.2	10.3 a 11.2	10.3 a 11.2
Forma de fruto	¿?	¿?	¿?
Dehiscencia del fruto	indehiscente	¿?	indehiscente

Caracteres bioquímicos

Metabolitos secundarios	S-proacacipetalina	S-proacacipetalina	S-proacacipetalina
-------------------------	--------------------	--------------------	--------------------

5.2 Análisis independiente de la naturaleza de las variables

En el primer análisis realizado, es decir, el independiente de la naturaleza de los caracteres, la reconstrucción de los estados de carácter de los 23 atributos en el árbol filogenético más reciente (Gómez-Acevedo et al., 2010) no resultó en ningún conflicto entre los análisis de máxima parsimonia y máxima verosimilitud, es decir, los estados de carácter de las topologías resultantes en ambos análisis coincidían entre sí. Sin embargo algunos estados de carácter del análisis de máxima parsimonia resultaron ambiguos en comparación con los obtenidos a través del análisis de máxima verosimilitud, este es el caso de la altura máxima, el ancho máximo de las pínulas, la longitud máxima del pecíolo, el diámetro de la inflorescencia, la forma del fruto, la dehiscencia del fruto y los metabolitos secundarios presentes.

Dado que los resultados de ambos análisis utilizados arrojaron la misma información y que el método de máxima verosimilitud, a diferencia del de máxima parsimonia, proporciona los valores probabilísticos asociados a cada posible estado de carácter, a continuación se describirán los resultados obtenidos a través de este. Los decimales indicados entre paréntesis corresponden a las probabilidades de encontrar un estado de carácter determinado en los nodos descritos enseguida.

Altitud (mínima y máxima)

Los resultados del análisis de reconstrucción sugieren que la distribución altitudinal del nodo A correspondía al rango de 0 a 100 m s. n. m. (0.9365) para la altitud mínima y de más de 1500 m s. n. m. (0.4523), o bien de 100 a 500 m s. n. m. (0.4266) para la altitud máxima. Asimismo, es probable que el nodo B se distribuyera de 0 a 100 m s. n. m. (0.9698) en su altitud mínima y de 100 a 500 m s. n. m. (0.8250) en su altitud máxima, mientras que, el nodo C se distribuyera de 0 a 100 m s. n. m. (0.9783) en su altitud mínima y en una altitud mayor a 1500 m s. n. m. (0.8617) para su altitud máxima (Figura 1).

Forma de vida

En cuanto a la forma de vida ancestral, los resultados del análisis de reconstrucción indican que la forma de vida del nodo A tiene una probabilidad de 0.6143 de haber correspondido a la combinación de árbol-arbusto y solo una probabilidad de 0.3856 de haber presentado únicamente una forma de vida de árbol. El nodo B poseía muy probablemente un hábito correspondiente a la combinación árbol-arbusto (0.9248), mientras que, el nodo C poseía probablemente una forma de vida de árbol (0.6803; Figura 2a).

Altura máxima

Los resultados del análisis de reconstrucción señalan que existe una probabilidad de 0.6463 de que el nodo A mostrara una altura máxima de 6.1 a 12 m, una probabilidad de 0.1773 de que su altura máxima correspondiera al rango de 1 a 6 m y una probabilidad de 0.1762 de que fuera mayor a 12 m. De la misma forma existe una probabilidad de 0.8132 y 0.6369 de que los nodos B y C respectivamente mostraran una altura máxima de 6.1 a 12 m (Figura 2b).

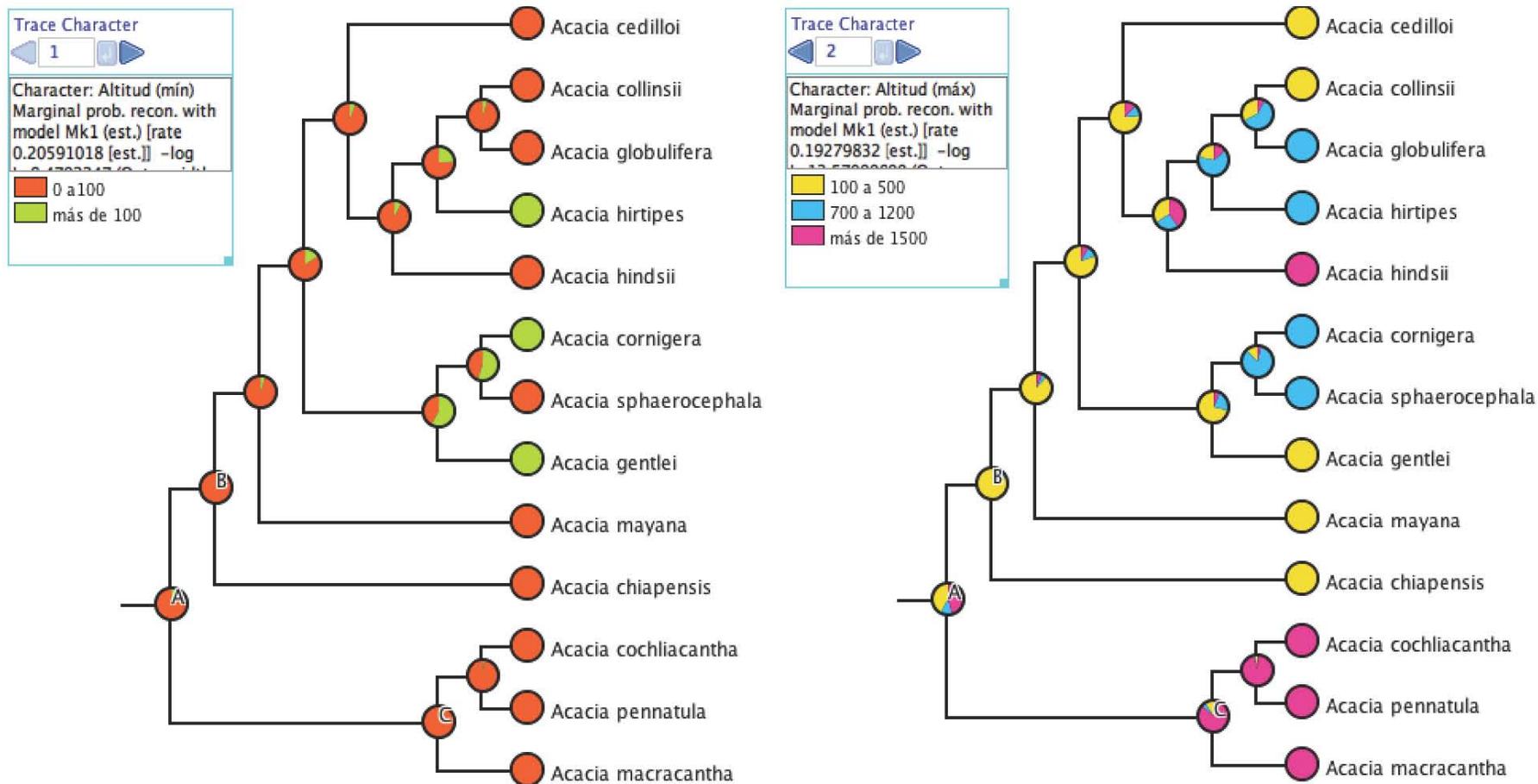


Figura 1. Reconstrucción de la distribución altitudinal mínima (a) y máxima (b) del grupo mirmecófilo de las acacias y del grupo externo *A. macracantha*.

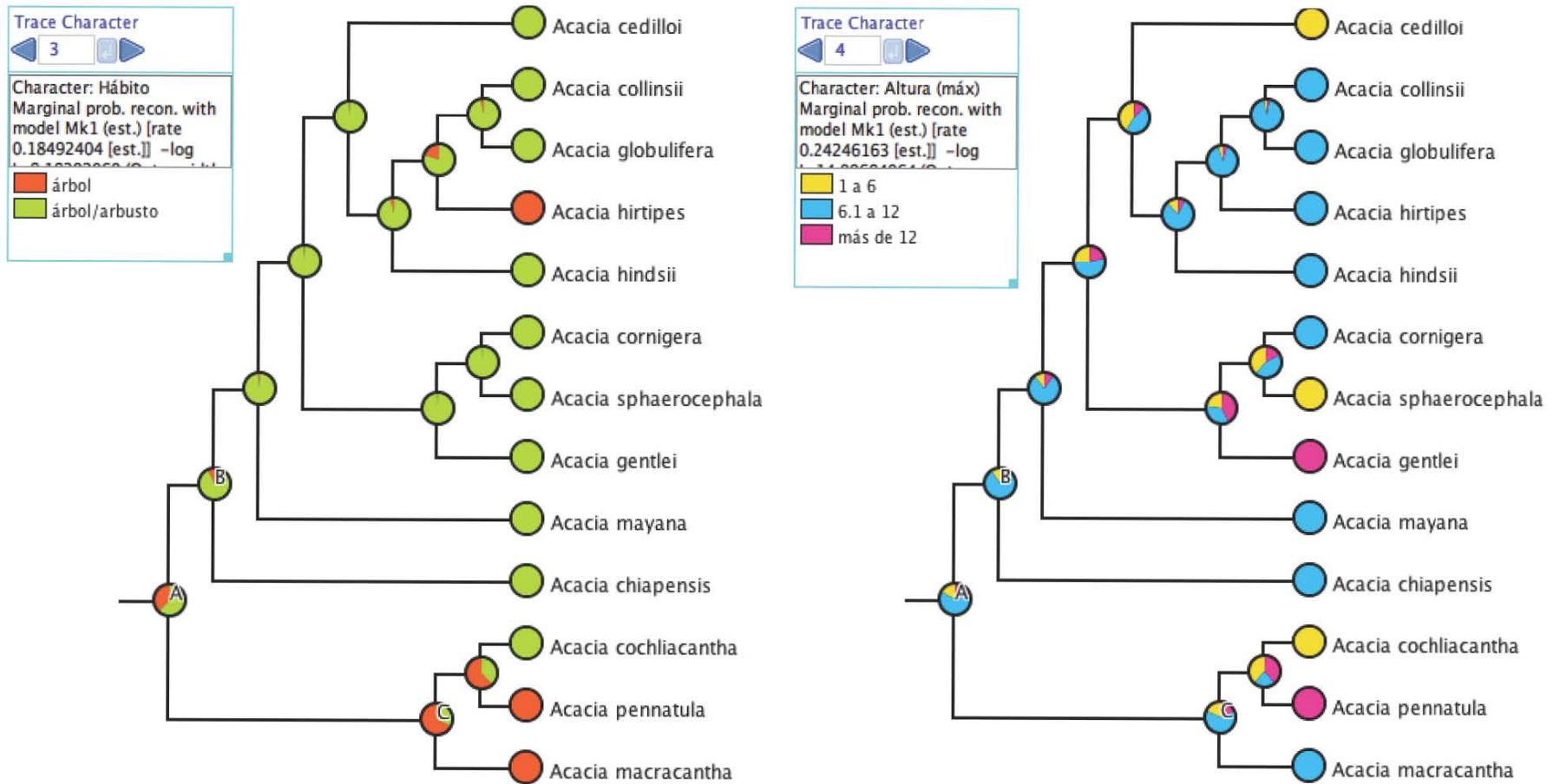


Figura 2. Reconstrucción de la forma de vida (a) y la altura máxima (b) del grupo mirmecófilo de las acacias y del grupo externo *A. macracantha*.

Longitud máxima de hoja

El nodo A tiene la misma probabilidad de haber mostrado hojas con una longitud máxima de 20.1 a 30 o de más de 30 cm (0.4189 y 0.4271 respectivamente). Mientras que, es más probable que el nodo B mostrara una longitud máxima de hoja de más de 30 cm (0.7814), el grupo *A. macracantha* pudo haberse desprendido de un ancestro (nodo C) con una longitud de hoja máxima de 20.1 a 30 cm (0.7660; Figura 3).

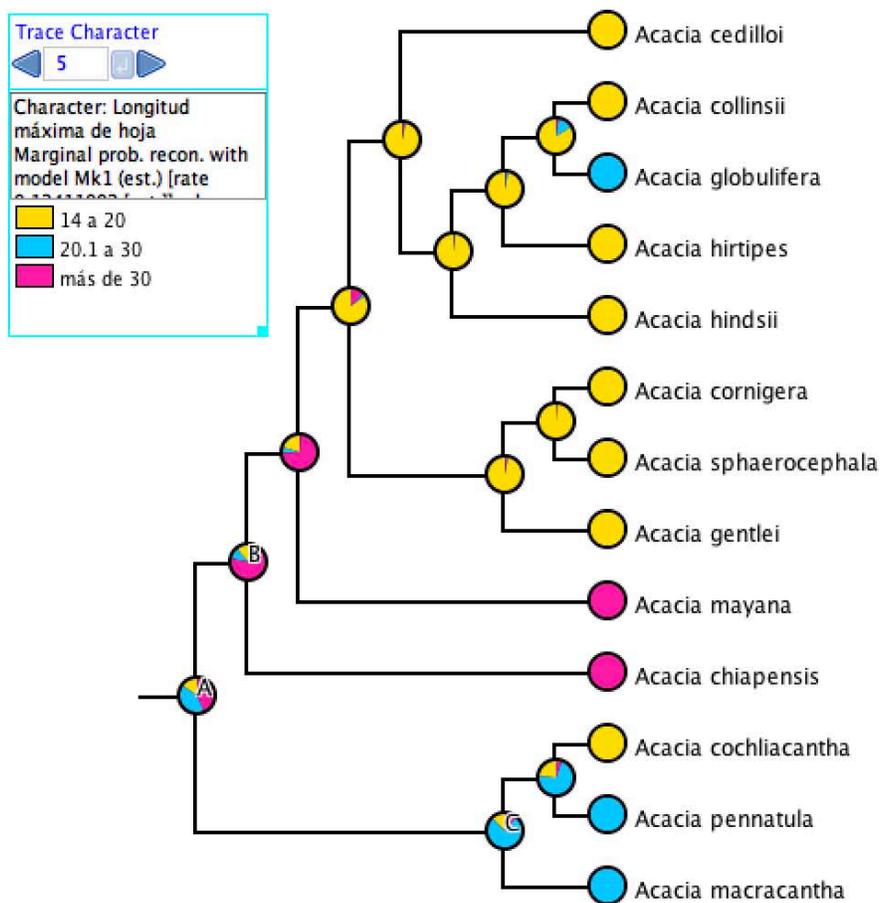


Figura 3. Reconstrucción de la longitud máxima de hoja del grupo mirmecófilo de las acacias y del grupo externo *A. macracantha*.

Pares de pinnas por hoja (mínimo y máximo)

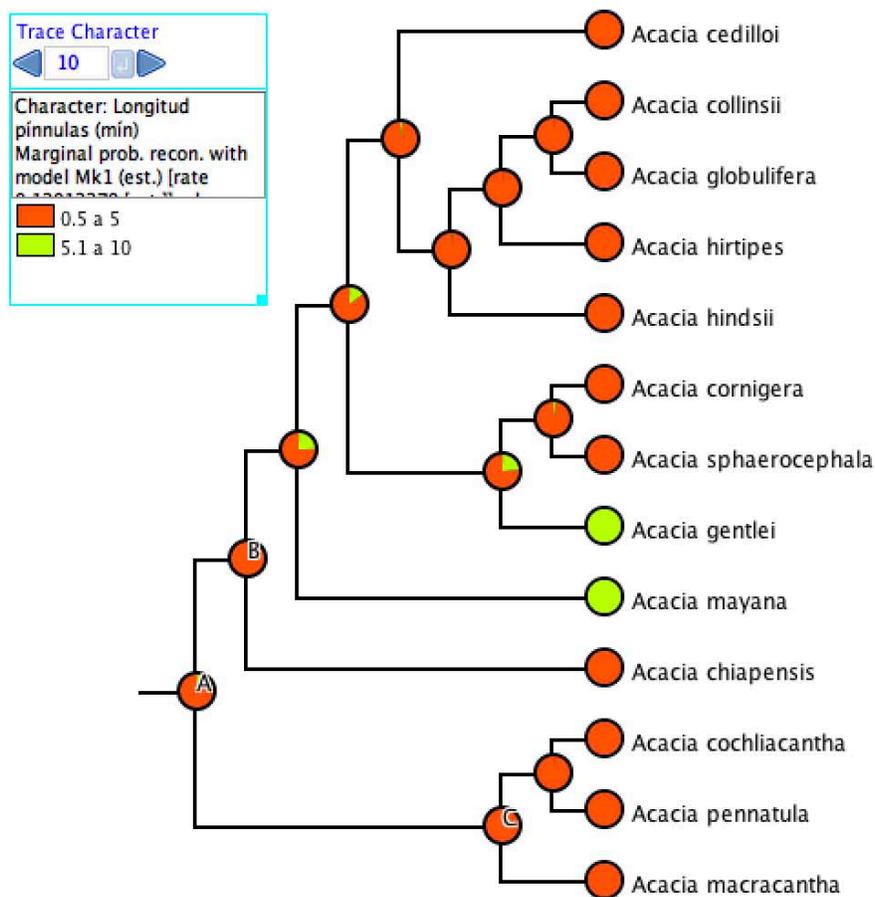
Es muy probable que el número de pares de pinnas por hoja que poseía el nodo A se encontrara en el rango de 5 a 10 pares (0.8928) para sus valores mínimos y de más de 30 pares (0.7483) para sus valores máximos. Los nodos B y C parecen también seguir este patrón, pues para los dos los valores mínimos son de 5 a 10 pares (con probabilidades de 0.9547 y 0.9220 respectivamente) y los valores máximos de más de 30 pares (con probabilidades de 0.7087 y 0.8665 respectivamente; Figura 4).

Pares de pínulas por pinna (mínimo y máximo)

Los resultados del análisis de reconstrucción señalan que existe una probabilidad de 0.6942 de que el nodo A mostrara de 15 a 25 pares de pínulas por pinna en su valor mínimo y una probabilidad de 0.5305 de que mostrara más de 50 pares en su valor máximo, o bien una probabilidad de 0.3991 de que ostentara de 30 a 50 pares para este mismo valor del rango. Como en el carácter anterior, ambos ancestros, tanto el nodo B como el nodo C coinciden con este modelo, pues la probabilidad de que tengan de 15 a 25 pares de pínulas por pinna en su valor mínimo es de 0.8292 y 0.6786 respectivamente y la probabilidad de que posean más de 50 pares de pínulas por pinna en su valor máximo es de 0.5521 y 0.5436 respectivamente. Sin embargo, en el extremo superior del rango se observa que para ambos ancestros las probabilidades de tener de 30 a 50 pares de pínulas por pinna (0.4013 y 0.4137 respectivamente) no difieren mucho de los valores estimados para la siguiente categoría (es decir, más de 50 pares; Figura 5).

Longitud de pínulas (mínima y máxima)

La longitud de pínulas del nodo A se encontraba muy probablemente en el rango de 0.5 a 10 mm, con una probabilidad de 0.9572 para el valor mínimo y de 0.9011 para el valor máximo. Asimismo, tanto el nodo B como el nodo C poseían una longitud de pínulas en el rango de 0.5 a 10 mm, con una probabilidad de 0.9478 y 0.8975 para los valores mínimo y máximo del grupo mirmecófilo y de 0.9931 y 0.9787 para los valores mínimo y máximo del grupo externo (Figura 6).



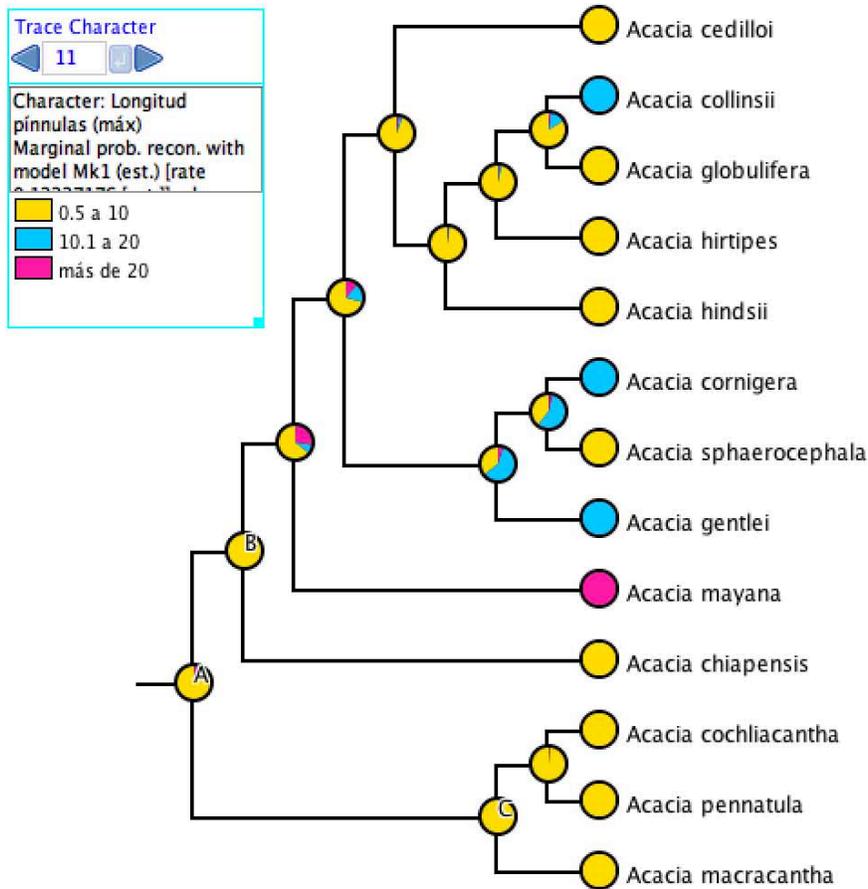


Figura 6. Reconstrucción de la longitud mínima (a) y máxima (b) de las pinnulas del grupo mirmecófilo de las acacias y del grupo externo *A. macracantha*.

Ancho de pinnulas (mínimo y máximo)

El ancho de las pinnulas del nodo A se encontraba muy probablemente en el rango de 0.1 a 1.9 mm, con una probabilidad de 0.9566 para el valor mínimo y de 0.4604 para el valor máximo. El nodo B, por otro lado, poseía pinnulas de 0.1 a 2.9 mm de ancho, con una probabilidad de 0.9471 para el valor mínimo y de 0.5537 para el valor máximo. Entre tanto que el nodo C poseía pinnulas de 0.1 a 1.9 mm de ancho (valores parecidos a los del ancestro común), con una probabilidad de 0.9930 para el valor mínimo y de 0.8132 para el valor máximo (Figura 7).

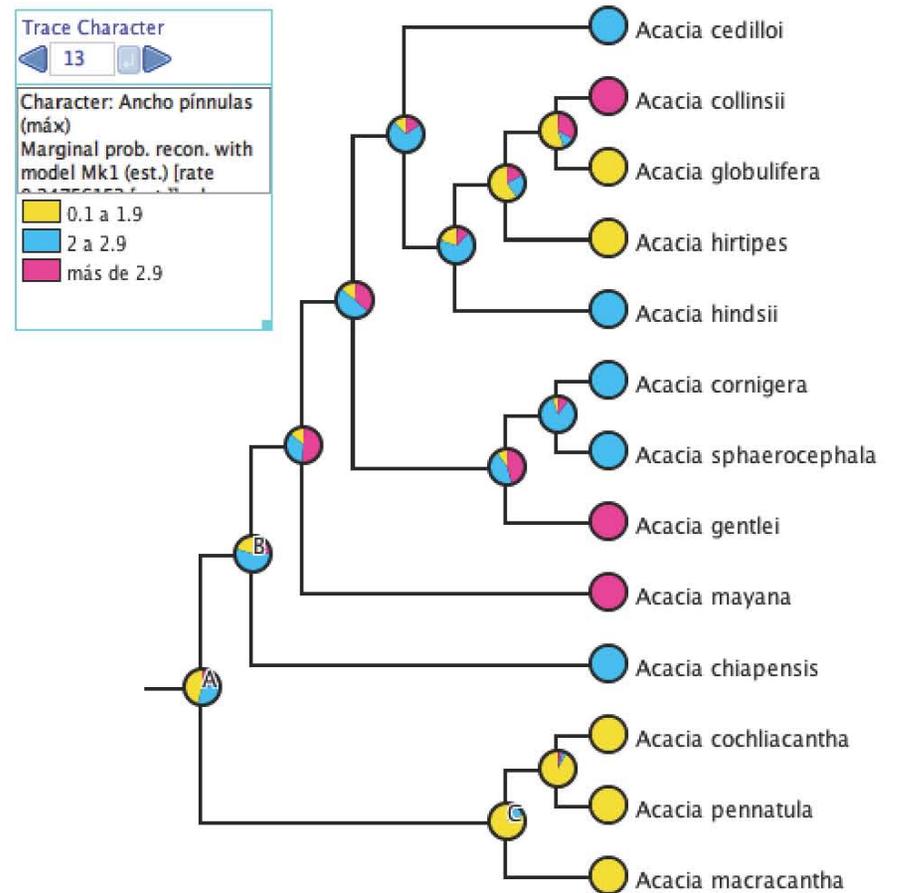
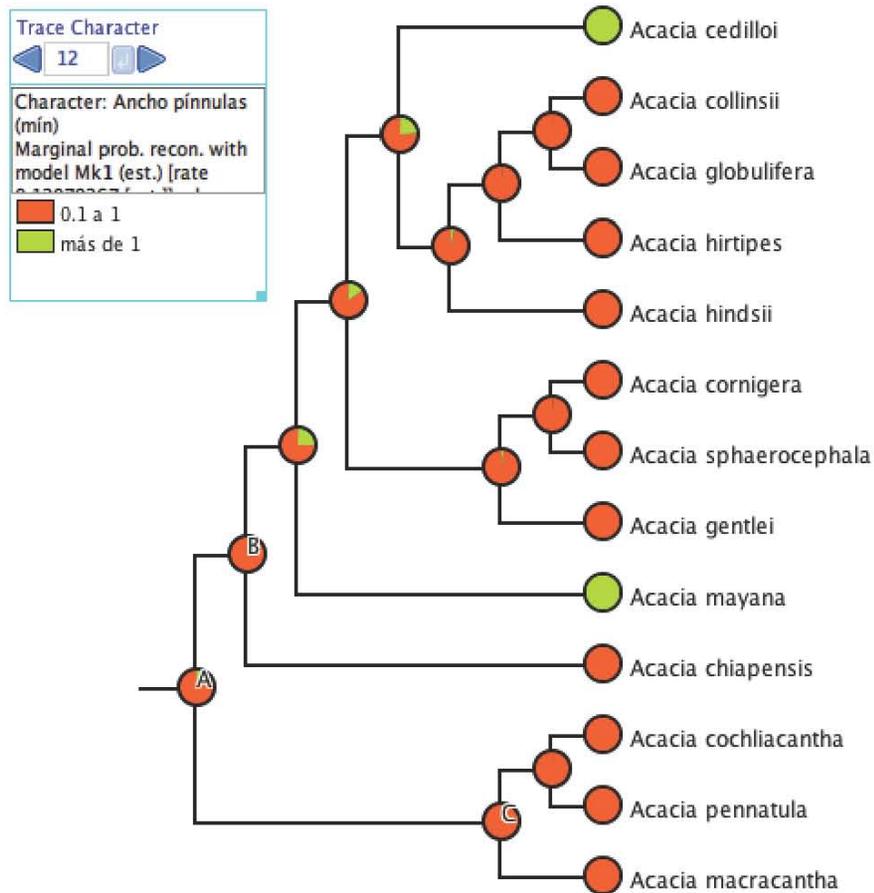


Figura 7. Reconstrucción del ancho mínimo (a) y máximo (b) de las pinnulas del grupo mirmecófilo de las acacias y del grupo externo A. *macracantha*.

Longitud máxima de pecíolo

La longitud máxima de pecíolo del nodo A se encontraba probablemente en el rango de 10 a 15 mm (0.5061). Mientras que, el nodo B poseía probablemente un pecíolo con una longitud máxima de 15 a 20 mm (0.5354). En contraste, el nodo C poseía un pecíolo con una longitud máxima de 10 a 15 mm (0.8551), es decir, poseía el carácter plesiomórfico que también se encontraba en el nodo A (Figura 8a).

Forma de los nectarios extraflorales

La forma ancestral de los nectarios extraflorales (es decir, la presente en el nodo A) es circular con una probabilidad de 0.5318 y el cambio a las formas columnar (o cilíndrico) y de volcán (o canoa) es una apomorfía del grupo mirmecófilo. Así, la forma presente en el nodo B corresponde a la columnar con una probabilidad de 0.4731, o bien a la de canoa con una probabilidad de 0.3357. Mientras que, el nodo C tenía nectarios extraflorales con la forma plesiomórfica, es decir nectarios circulares, con una probabilidad de 0.9280 (Figura 8b).

Número de nectarios extraflorales por pecíolo

La cantidad ancestral de nectarios extraflorales por pecíolo es de 1 a raramente 2 con una probabilidad de 0.9274 y el incremento en el número de nectarios de 1 a 7 y de 4 a 14 es una apomorfía del grupo mirmecófilo. A pesar de esto, la cantidad más probablemente presente en el nodo B es de 1 a 2 (0.8722), así como la cantidad observada en el nodo C (0.9956), es decir que en ambos ancestros se encuentra presente el carácter plesiomórfico que también vemos en el ancestro común (Figura 8c).

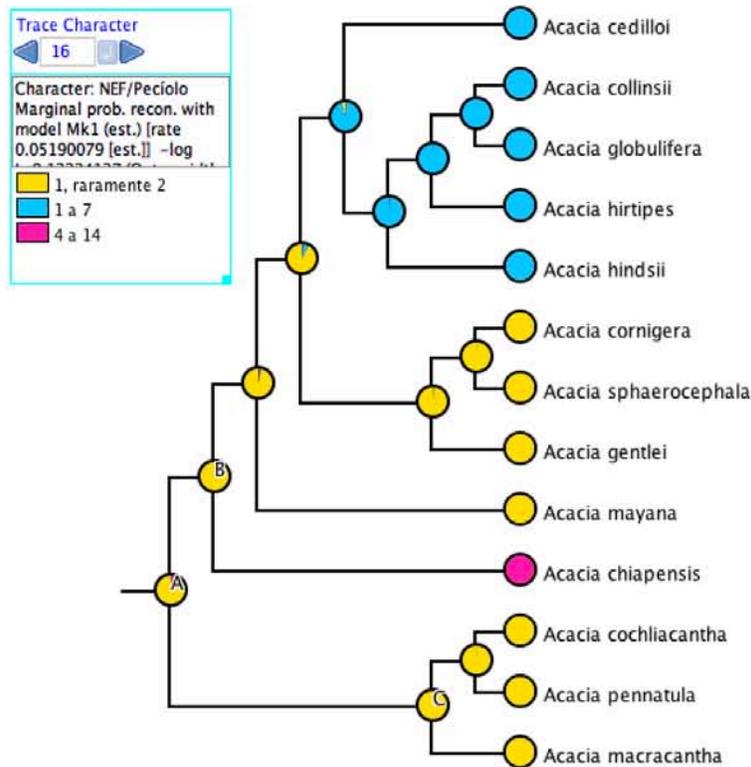


Figura 8. Reconstrucción de la longitud máxima del pecíolo (a), de la forma de los nectarios extraflorales (b) y de la cantidad de nectarios (c) del grupo mirmecófilo de las acacias y del grupo externo *A. macracantha*.

Estípulas espinescentes (modificadas o no modificadas)

El estado de carácter correspondiente a las estípulas espinescentes no modificadas pudo haber estado presente en el nodo A con una probabilidad de 0.5000, mientras que, el otro estado, el de las estípulas modificadas, pudo haberse presentado en él con una probabilidad de 0.4999. El nodo B poseía estípulas modificadas con una probabilidad de 0.9770, mientras que, el nodo C poseía estípulas no modificadas con una probabilidad de también 0.9771 (Figura 9a).

Longitud de las estípulas espinescentes

La longitud de las estípulas espinescentes del nodo A es confusa, pues el análisis indica que existe una probabilidad de 0.5025 de que dicha longitud sea de más de 75 mm y una probabilidad de 0.4225 de que sea de menos de 50 mm. Por otra parte, el nodo B tiene una probabilidad de 0.9500 de que sus estípulas espinescentes tuvieran más de 75 mm de longitud, mientras que, el nodo C tiene una probabilidad de 0.8335 de que sus estípulas tuvieran menos de 50 mm de longitud (Figura 9b).

Tipo de inflorescencia

El tipo de inflorescencia ancestral corresponde a la inflorescencia en cabezuela con una probabilidad de 0.8996 y el cambio a las formas de espiga y dedal es una apomorfía del grupo mirmecófilo. Sin embargo, el nodo B también poseía una inflorescencia en forma de cabezuela con una probabilidad de 0.8417, así como el nodo C, quien poseía este mismo tipo de inflorescencia con una probabilidad de 0.9891 (Figura 10a).

Diámetro de la inflorescencia

El diámetro de inflorescencia tanto del nodo A, como de los nodos B y C es de más de 5 mm, por lo tanto, se considera que el estado plesiomórfico de este carácter corresponde a esta medida. Las probabilidades de encontrar este estado en los nodos A, B y C son de 0.8973, 0.9438 y 0.9584 respectivamente (Figura 10b).

Forma del fruto

La forma ancestral del fruto también es confusa, pues el análisis indica que existe la misma probabilidad de que haya sido terete (o cilíndrico casi terete), comprimido a ligeramente cilíndrico o aplanado, es decir que existe una probabilidad de 0.3333 para cada una de estas opciones. Este también es el caso tanto de los nodos B y C como del resto de los ancestros pertenecientes a esta filogenia (Figura 11a).

Dehiscencia del fruto

El fruto del nodo A era indehisciente con una probabilidad de 0.6799, o bien dehiscente con una probabilidad de 0.3200, mientras que, el fruto del nodo C era de indehisciente con una probabilidad de 0.9099. Por otra parte, el nodo B poseía frutos dehiscentes con una probabilidad de 0.5002 y frutos indehiscientes con una probabilidad de 0.4997 (Figura 11b).

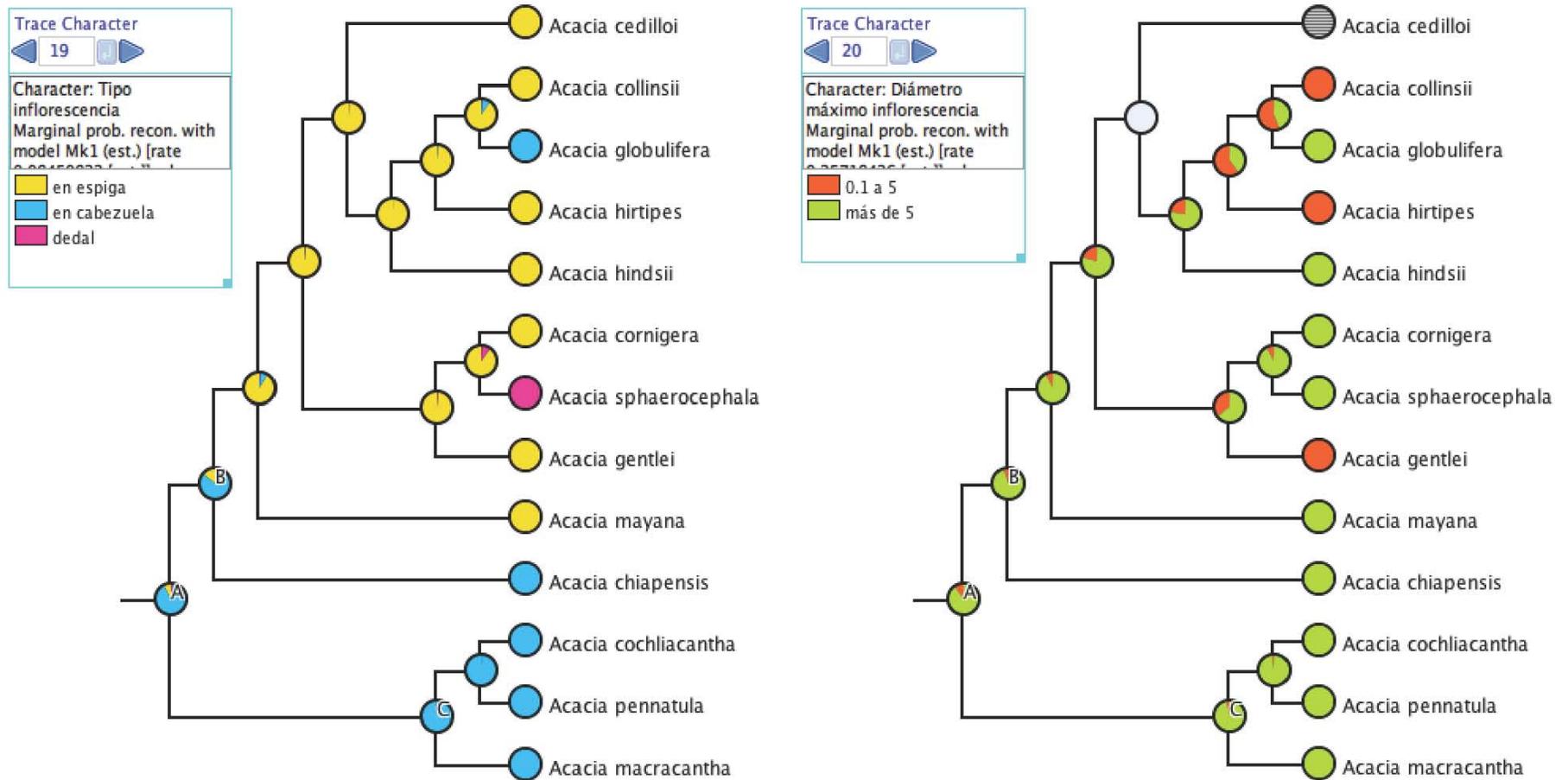


Figura 10. Reconstrucción de los tipos (a) y el diámetro (b) de las inflorescencia del grupo mirmecófilo de las acacias y del grupo externo *A. macracantha*. La especie en rayas y el nodo en gris corresponden a estados de carácter desconocidos.

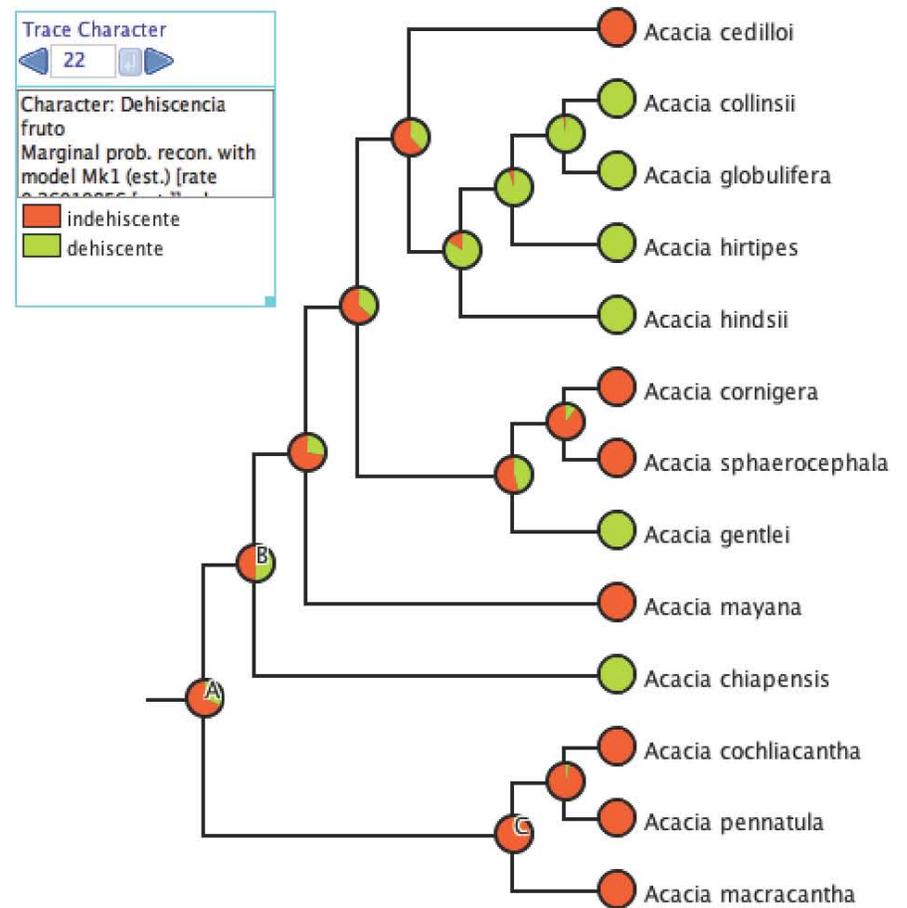
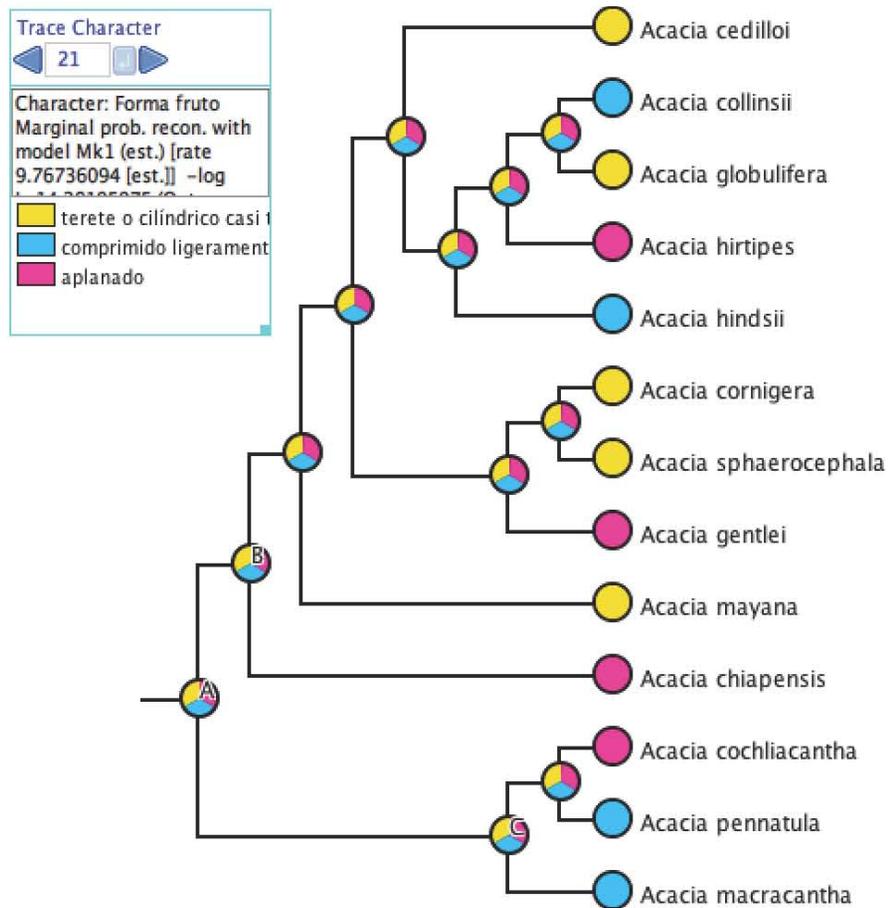


Figura 11. Reconstrucción de la forma (a) y la dehiscencia o indehiscencia (b) del fruto del grupo mirmecófilo de las acacias y del grupo externo *A. macracantha*.

Metabolitos secundarios

El tipo de metabolitos secundarios presentes en el nodo A era la S-proacacipetalina con una probabilidad de 0.7340, o bien la ausencia de estos con una probabilidad de 0.1957. Mientras que, el nodo C tiene una probabilidad de 0.8480 de haber presentado la S-proacacipetalina como defensa y una probabilidad de 0.1201 de no haber presentado ningún metabolito. En comparación, existe una probabilidad del 0.6951 de que hayamos encontrado la S-proacacipetalina en el nodo B y una probabilidad de 0.2556 de que este no haya poseído metabolitos (Figura 12).

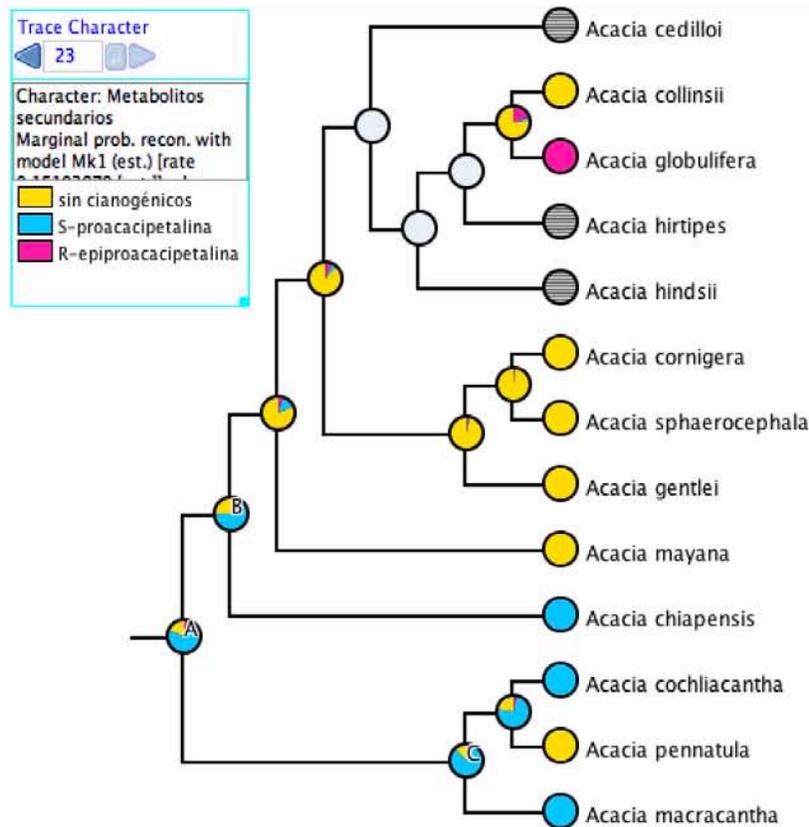


Figura 12. Reconstrucción del tipo de metabolitos secundarios presentes en el grupo mirmecófilo de las acacias y el grupo externo *A. macracantha*. Las especies en rayas y los nodos en gris corresponden a estados de carácter desconocidos.

5.3 Análisis dependiente de la naturaleza de las variables

Por otra parte, en el segundo análisis realizado, es decir, cuando se distinguió entre caracteres discretos y continuos para la reconstrucción de los 17 atributos en el árbol filogenético más reciente (Gómez-Acevedo et al., 2010), los resultados de los análisis de las variables discretas (tanto el de máxima parsimonia como el de máxima verosimilitud) fueron exactamente iguales a los obtenidos en el primer análisis. Lo anterior se debe a que se utilizaron las mismas categorías en los estados de carácter tanto para el primer como para el segundo análisis.

En cuanto a las variables continuas, sólo el análisis de máxima parsimonia pudo ser ejecutado en el programa, por tanto, no se realizó el análisis de máxima verosimilitud en este caso. Los resultados del análisis de máxima parsimonia de los caracteres continuos de esta prueba coinciden con los obtenidos a través de la primera, es decir, a través del análisis independiente de la naturaleza de las variables; con la distinción de que los de esta prueba, es decir, los del análisis dependiente de la naturaleza de las variables, son mucho más precisos que los de la primera. Por ello, a continuación se describirán y compararán dichos resultados.

Altitud mínima

La altitud mínima a la que probablemente se distribuía el nodo A es de 0 a 25 m s. n. m., de acuerdo al análisis de máxima parsimonia de caracteres continuos. Dicho valor concuerda con lo obtenido en el primer análisis, cuyo resultado corresponde al rango de 0 a 100 m s. n. m. Este resultado es válido también para los nodos B y C (Figura 13).

Altitud máxima

La distribución altitudinal máxima más probable del nodo A es de 820 a 1060 m s. n. m., de acuerdo al análisis de máxima parsimonia de caracteres continuos. En contraste con el primer análisis, donde los resultados son de 100 a 500 m s. n. m., o bien, de más de 1500 m s. n. m., esta prueba arrojó una conclusión más precisa. En comparación, el nodo B tiene una distribución altitudinal máxima de 340 a 580 m s. n. m., de acuerdo con el último análisis realizado. Este resultado coincide parcialmente con el obtenido a través del primer análisis, que fue de 100 a 500 m s. n. m. Por otra parte, el nodo C posee una distribución altitudinal máxima de 1300 a 1540 m s. n. m., mientras que, en el primer análisis esta distribución corresponde a más de 1500 m s. n. m. Como en el caso del nodo A, el segundo análisis arrojó resultados más concisos para los nodos B y C que el primer análisis (Figura 14).

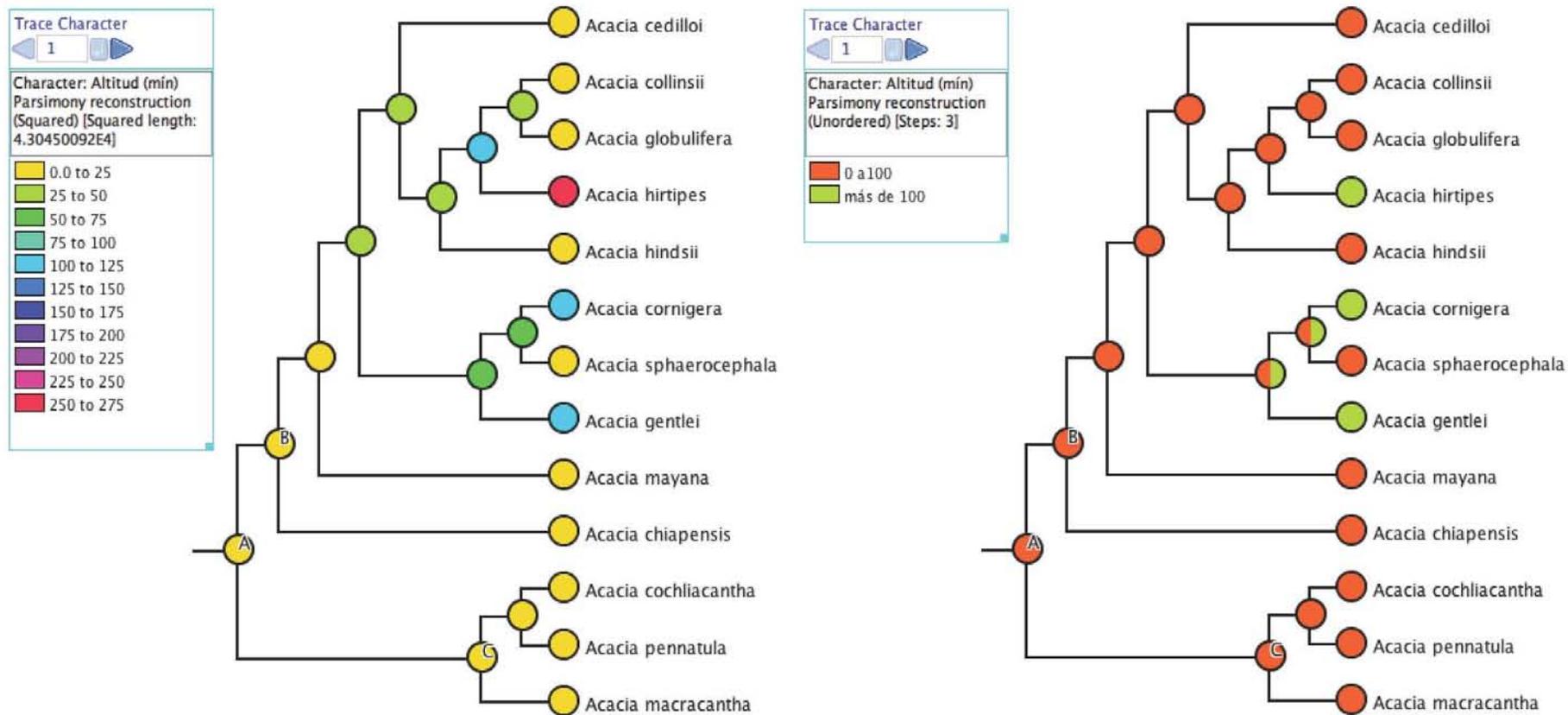


Figura 13. Reconstrucción de la distribución altitudinal mínima del grupo mirmecófilo de las acacias y del grupo externo *A. macracantha* por el análisis de máxima parsimonia para caracteres continuos (a) y para caracteres discretos (b).

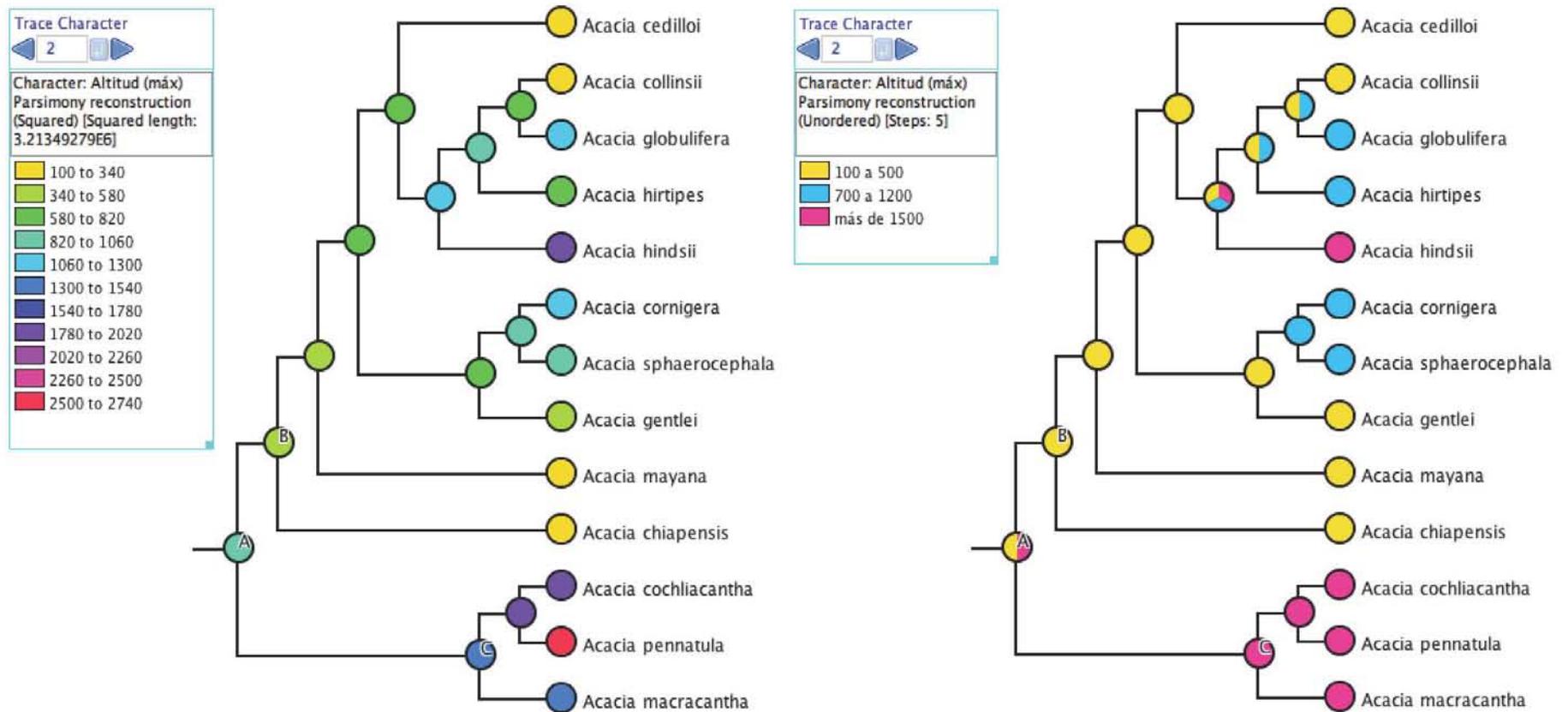


Figura 14. Reconstrucción de la distribución altitudinal máxima del grupo mirmecófilo de las acacias y del grupo externo *A. macracantha* por el análisis de máxima parsimonia para caracteres continuos (a) y para caracteres discretos (b).

Altura máxima

La altura máxima que más probablemente presentaba el nodo A es de 11.8 a 14.4 m de acuerdo al segundo análisis, mientras que, de acuerdo al primero corresponde al rango de 6.1 a 12 m. El nodo B, en contraste, poseía probablemente una altura máxima que variaba desde 9.2 a 11.8 m, resultado que sí coincide con el obtenido en el primer análisis. Finalmente, el nodo C presentó valores iguales a los del nodo A tanto en el primer como en el segundo análisis (Figura 15).

Longitud máxima de hoja

La longitud máxima de hoja del nodo A se encontraba probablemente en el rango de 29.6 a 32.2 cm. Este resultado coincide con el obtenido a través del primer análisis, donde la longitud máxima de hoja del nodo A variaba entre 20 y más de 30 cm. En comparación, el nodo B poseía hojas de 32.2 a 34.8 cm de longitud máxima, resultado compatible con el obtenido en el primer análisis, donde este ancestro poseía hojas de más de 30 cm de longitud. Finalmente, el nodo C poseía hojas de 24.4 a 27 cm de longitud, resultado concordante con el obtenido en el primer análisis, es decir, de 20 a 30 cm de longitud. Para este carácter, como para los anteriores, los resultados de este análisis son más precisos en comparación con los del primer análisis (Figura 16).

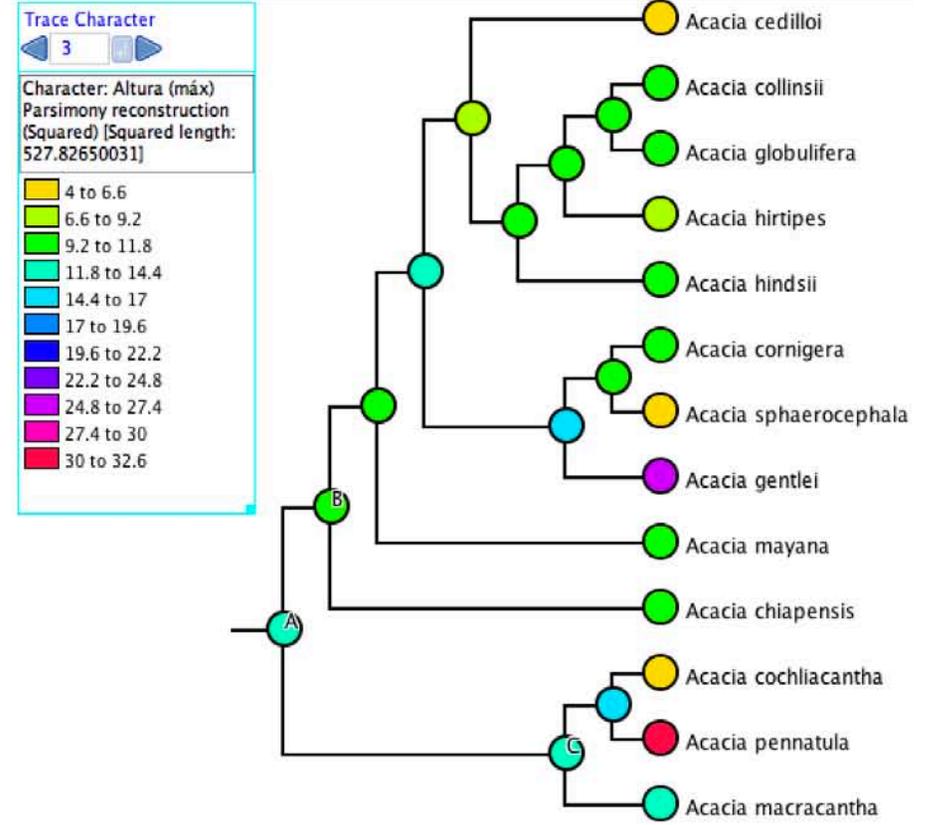
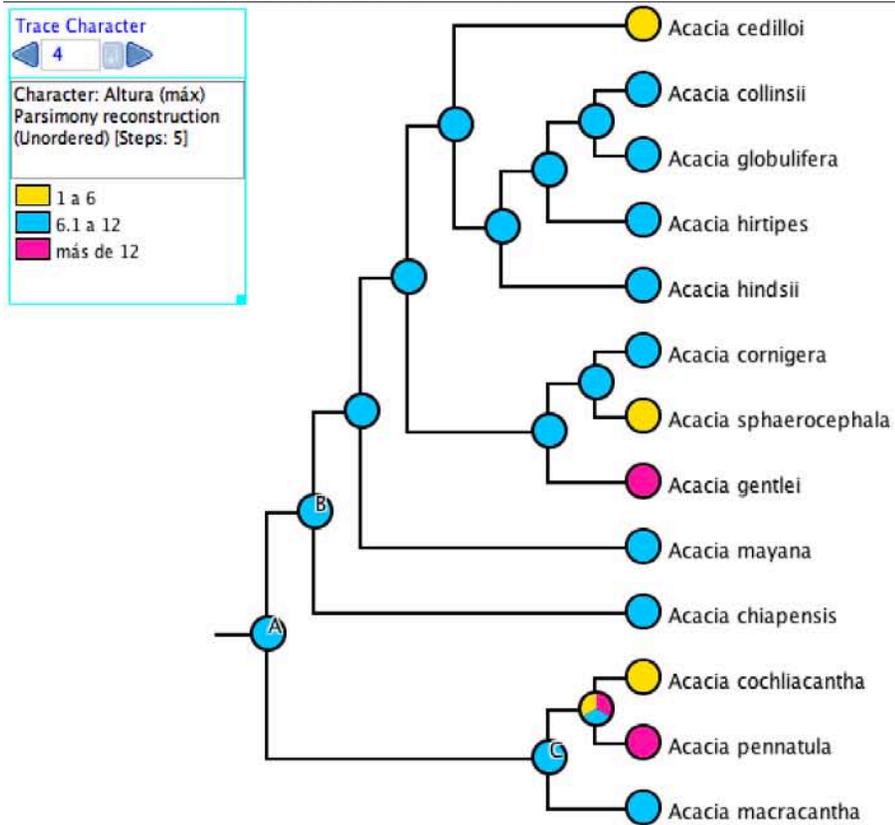


Figura 15. Reconstrucción de la altura máxima del grupo mirmecófilo de las acacias y del grupo externo *A. macracantha* por el análisis de máxima parsimonia para caracteres continuos (a) y para caracteres discretos (b).

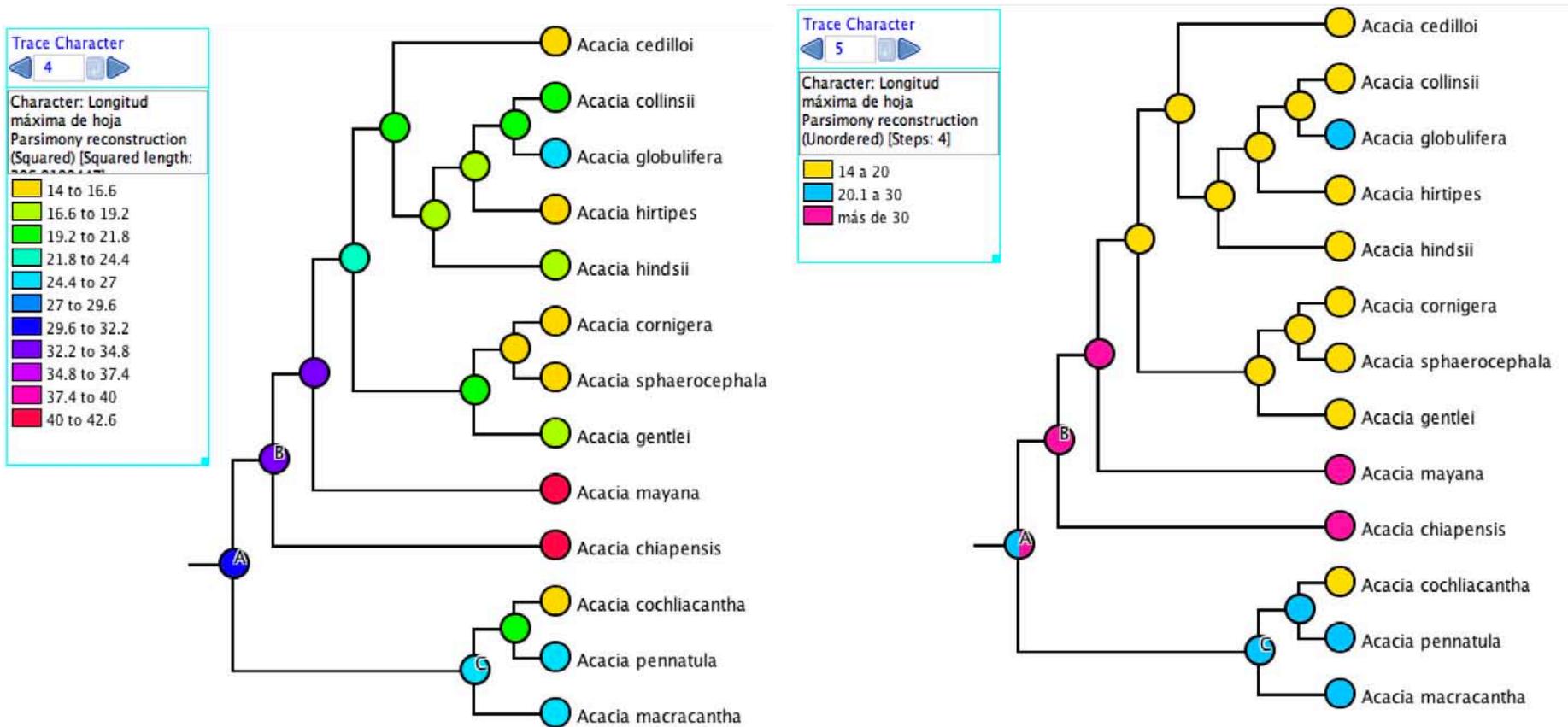


Figura 16. Reconstrucción de la longitud máxima de hoja del grupo mirmecófilo de las acacias y del grupo externo *A. macracantha* por el análisis de máxima parsimonia para caracteres continuos (a) y para caracteres discretos (b).

Longitud mínima de pínulas

El nodo A poseía pínulas con una longitud mínima de 2.64 a 3.56 mm de longitud. Este resultado coincide con el obtenido en el primer análisis donde esta medida variaba entre 0.5 y 5 mm de longitud. En cambio, el nodo B poseía pínulas de 3.56 a 4.48 mm de longitud mínima. Este resultado también coincide con el del primer análisis, donde la longitud mínima de las pínulas del nodo B variaba entre 0.5 y 5 mm. Mientras que, el nodo C poseía pínulas 1.72 a 2.64 cm de longitud mínima, resultado que también coincide con lo obtenido en el primer análisis, donde su longitud mínima se encontraba entre 0.5 y 5 mm. Los resultados de la reconstrucción de este carácter también son más claros en comparación con los obtenidos a través del primer análisis (Figura 17).

Longitud máxima de pínulas

El nodo A poseía probablemente pínulas de 6.52 a 8.58 mm de longitud máxima. Dicho valor coincide con el resultado del primer análisis, donde la longitud máxima de pínulas se encontraba entre 0.5 y 10 mm de longitud máxima. El nodo B presentaba pínulas de 8.58 a 10.64 mm de longitud máxima. Este resultado también coincide con el obtenido en el primer análisis, donde los valores de la longitud máxima de pínulas del nodo B variaban entre 0.5 y 10 mm. Por otro lado, el nodo C tenía pínulas con una longitud máxima entre 4.46 y 6.52 mm; valor que, como en los dos casos anteriores, concuerda con el resultado del primer análisis, donde la longitud máxima de pínulas varía entre 0.5 y 10 mm. Estos resultados, como los anteriores, son más exactos que los del primer análisis (Figura 18).

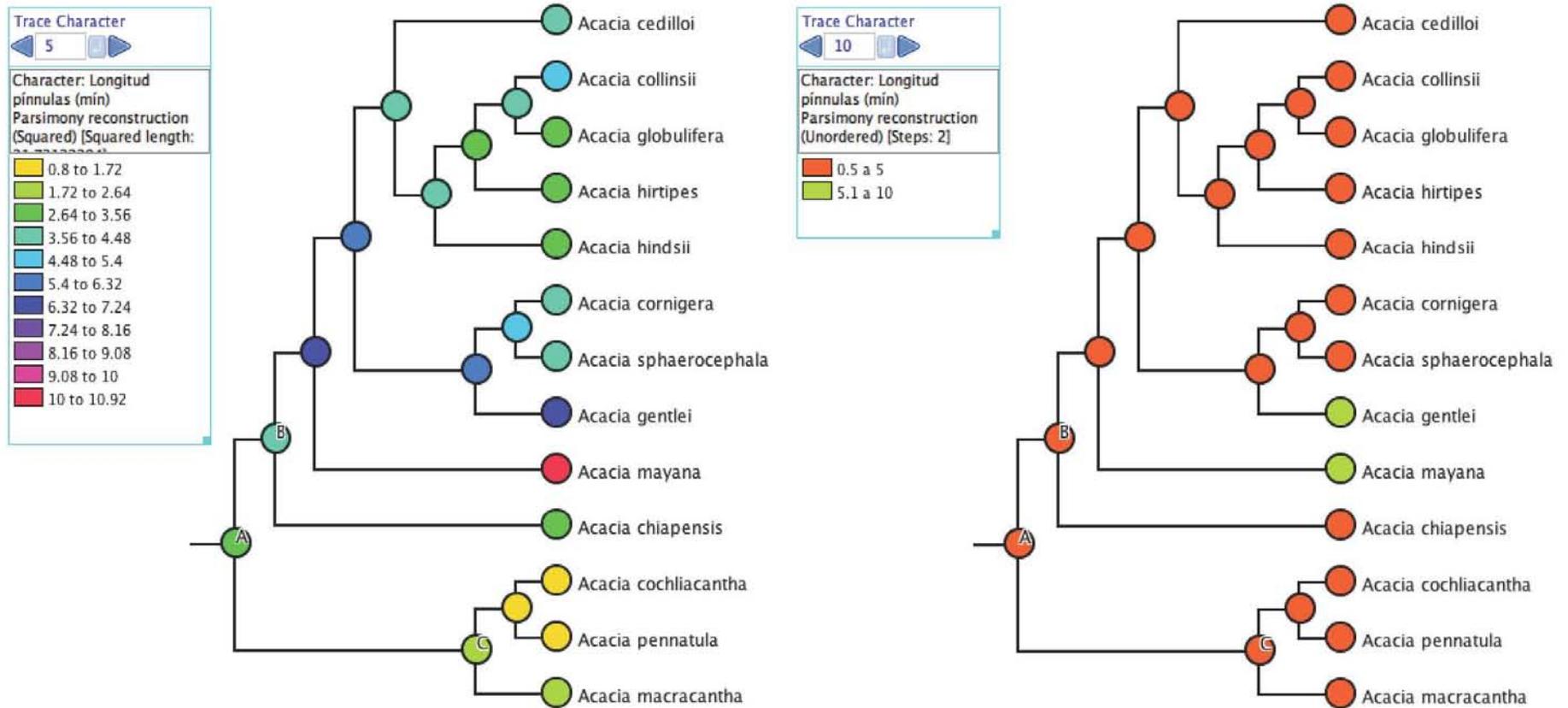


Figura 17. Reconstrucción de la longitud mínima de pinnulas del grupo mirmecófilo de las acacias y del grupo externo *A. macracantha* por el análisis de máxima parsimonia para caracteres continuos (a) y para caracteres discretos (b).

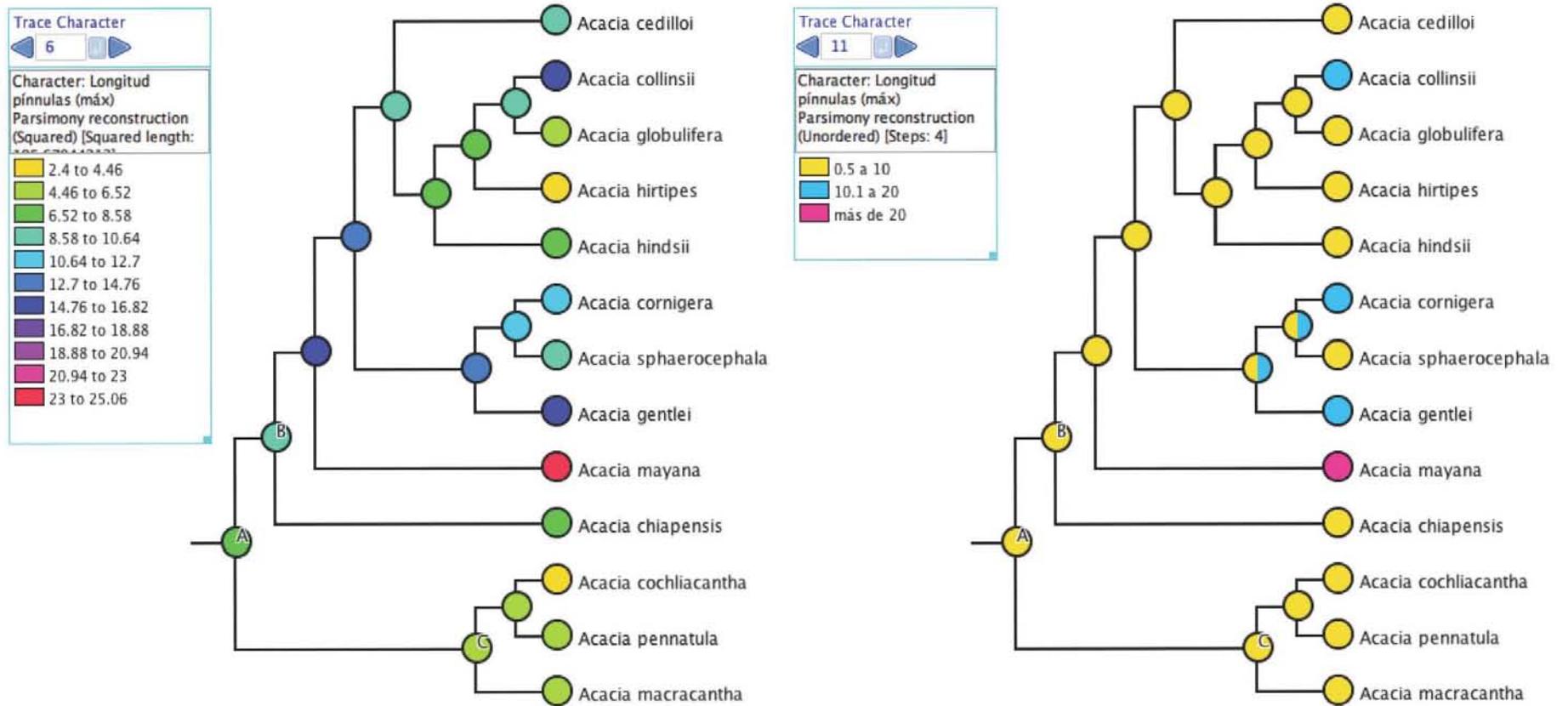


Figura 18. Reconstrucción de la longitud máxima de pinnulas del grupo mirmecófilo de las acacias y del grupo externo *A. macracantha* por el análisis de máxima parsimonia para caracteres continuos (a) y para caracteres discretos (b).

Ancho mínimo de pínulas

El nodo A presentaba pínulas de mínimo 0.6 a 0.75 mm de ancho, valor que coincide con los resultados del primer análisis donde dicha medida variaba entre 0.1 y 1 mm. En comparación, el nodo B poseía pínulas con un ancho mínimo de 0.9 a 1.05 mm, resultado que coincide parcialmente con el del primer análisis, donde el ancho mínimo de las pínulas del nodo B se encontraba entre 0.1 y 1 mm. En contraste, el nodo C tenía pínulas cuyo ancho mínimo variaba entre 0.45 y 0.6 mm. Dicho valor también coincide con el obtenido en el primer análisis, donde el ancho mínimo de pínulas corresponde al rango de 0.1 a 1 mm. Como en los casos anteriores, este análisis arrojó resultados más precisos que los del primero (Figura 19).

Ancho máximo de pínulas

El nodo A posee pínulas con un ancho máximo que varía entre 1.62 y 1.96 mm. Este resultado concuerda parcialmente con el obtenido en el primer análisis, donde el ancho máximo de las pínulas del nodo A se encontraba entre 0.1 y 2.9 mm. El nodo B presenta pínulas con un ancho máximo de entre 1.96 y 2.3 mm. Este valor también coincide parcialmente con los resultados del primer análisis, donde las pínulas del nodo B poseen un ancho máximo que varía entre 2 y 2.9 mm. En contraste, el nodo C ostenta pínulas cuyo ancho máximo se encuentra entre 1.28 y 1.62 mm; medida que sí coincide con los resultados del primer análisis, donde el ancho máximo de las pínulas del nodo C variaba entre 0.1 y 1.9 mm. En todos los casos, los resultados del segundo análisis son más exactos y más claros que los del primero (Figura 20).

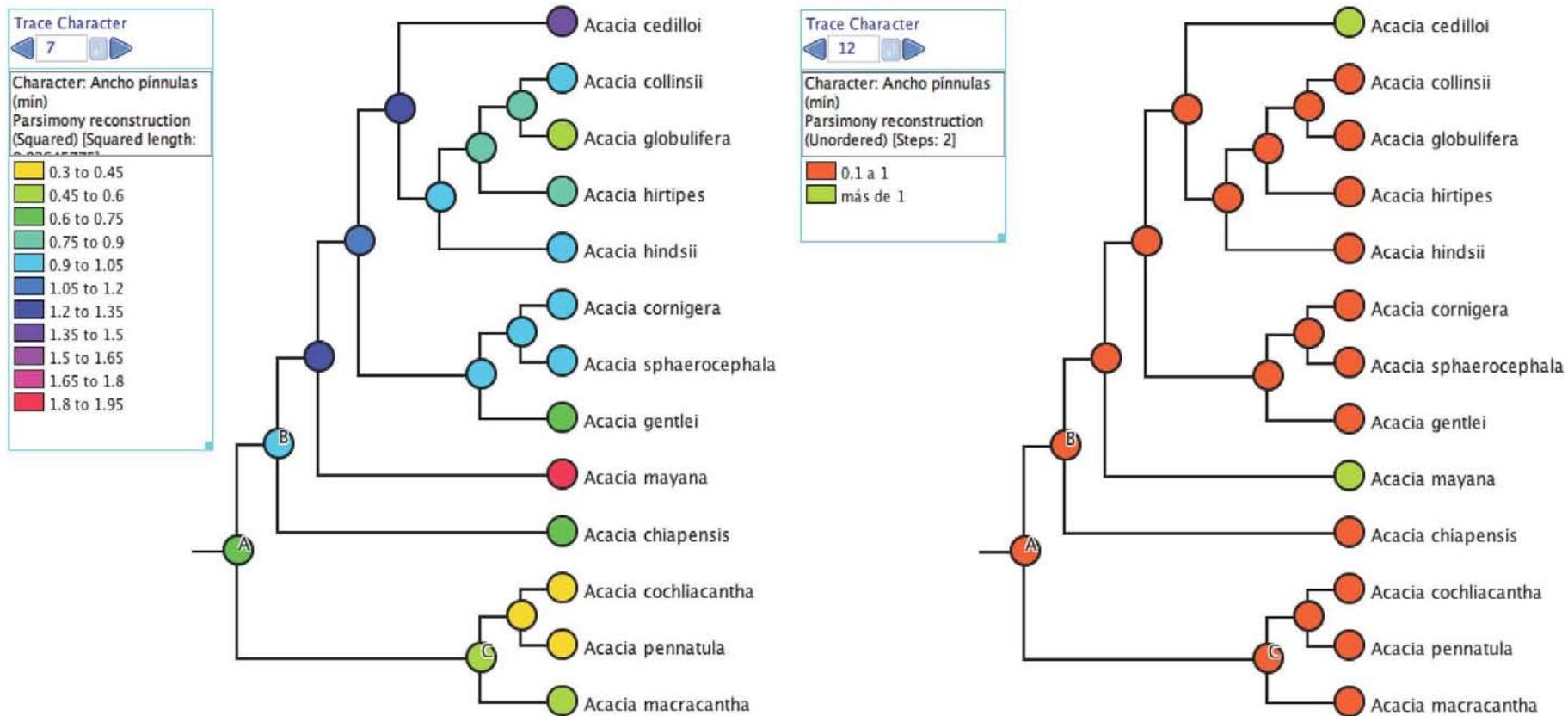


Figura 19. Reconstrucción del ancho mínimo de pinnulas del grupo mirmeecófilo de las acacias y del grupo externo *A. macracantha* por el análisis de máxima parsimonia para caracteres continuos (a) y para caracteres discretos (b).

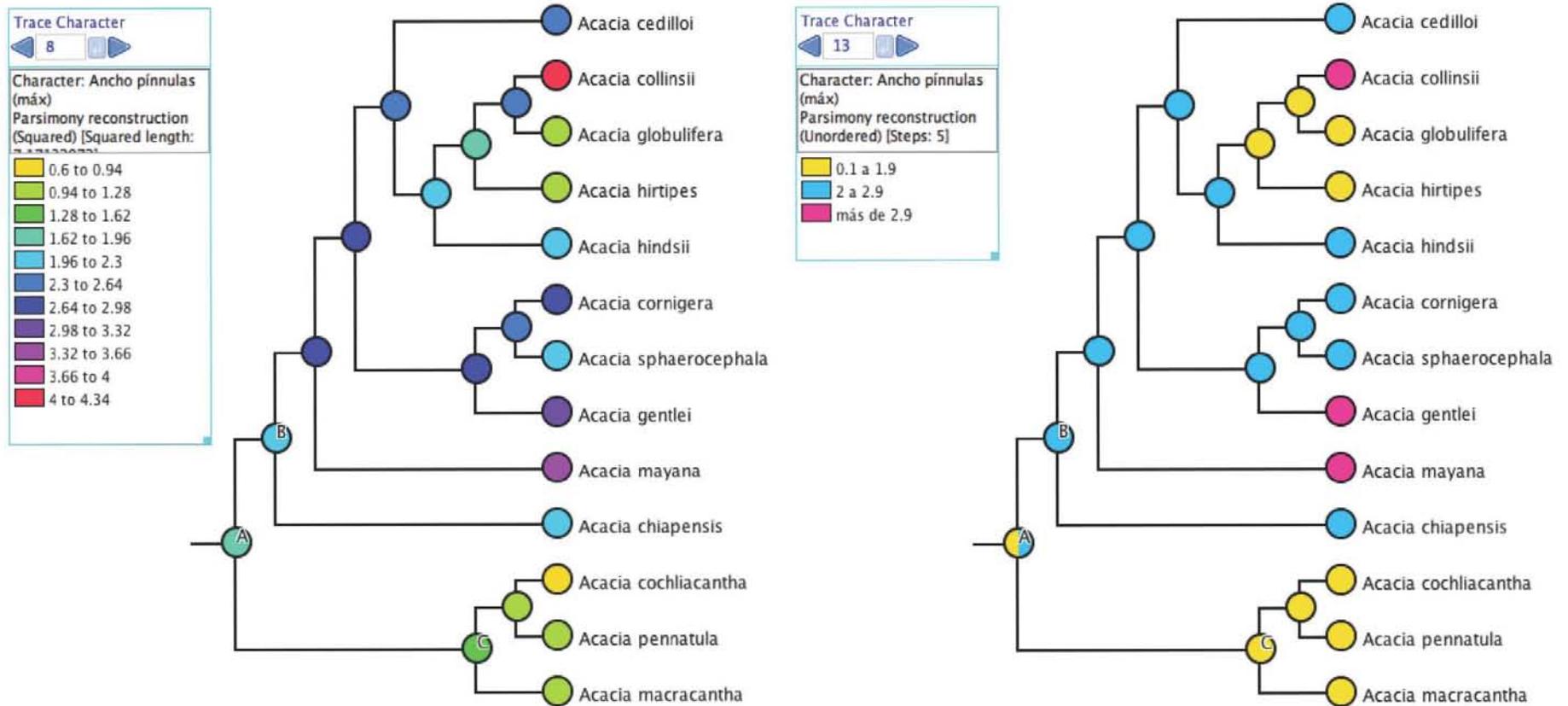


Figura 20. Reconstrucción del ancho máximo de pinnulas del grupo mirmecófilo de las acacias y del grupo externo *A. macracantha* por el análisis de máxima parsimonia para caracteres continuos (a) y para caracteres discretos (b).

Longitud máxima de pecíolo

La longitud máxima de pecíolo nodo A varía entre 15 y 17.5 mm. Esta medida concuerda con el resultado del primer análisis, donde la longitud máxima de pecíolo del nodo A se encontraba entre 10 y 20 mm. El nodo B, en contraste, poseía pecíolos de 17.5 a 20 mm de longitud máxima. Este resultado también coincide con el obtenido en el primer análisis, donde el valor de la longitud máxima de pecíolo del nodo B oscilaba entre 10 y 20 mm. Por otra parte, el nodo C presenta pecíolos con una longitud máxima que fluctúa entre 12.5 y 15 mm, dimensión que, al igual que los dos casos anteriores, concuerda con lo obtenido a través del primer análisis, donde la longitud máxima de pecíolo del nodo C corresponde al rango entre 10 y 15 mm. El resultado de la reconstrucción de este carácter a través del análisis de variables continuas también es más preciso que el logrado a través del primer análisis (Figura 21).

Longitud máxima de estípulas espinescentes

El nodo A presentaba probablemente estípulas espinescentes con una longitud máxima que variaba entre 46 y 55 mm. Este resultado coincide parcialmente con el obtenido a través del primer análisis, donde la longitud máxima de las estípulas espinescentes del nodo A se encontraba en el rango de menos de 50 a más de 75 mm. Específicamente en este caso los valores obtenidos a través del segundo análisis son mucho más claros que los alcanzados a través del primero, ya que estos eran un poco confusos. El nodo B, en cambio, poseía estípulas espinescentes que oscilaban entre 64 y 73 mm de longitud máxima. En contraste con este resultado, el logrado a través del primer análisis indica que la longitud máxima de las estípulas espinescentes del nodo B era mayor a 75 mm. Por otra parte, el nodo C gozaba de estípulas espinescentes cuya longitud máxima se encontraba entre 28 y 37 mm. Este resultado, sí coincide con el obtenido a través del primer análisis, donde la longitud máxima de las estípulas espinescentes del nodo C era menor a 50 mm (Figura 22).

Diámetro máximo de inflorescencia

Tanto el nodo A, como los nodos B y C presentaban probablemente una inflorescencia con un diámetro máximo que variaba entre 10.3 y 11.2 mm; resultado que concuerda con el valor obtenido a través del primer análisis, donde el diámetro máximo los tres nodos (A, B y C) era mayor a 5 mm (Figura 23).

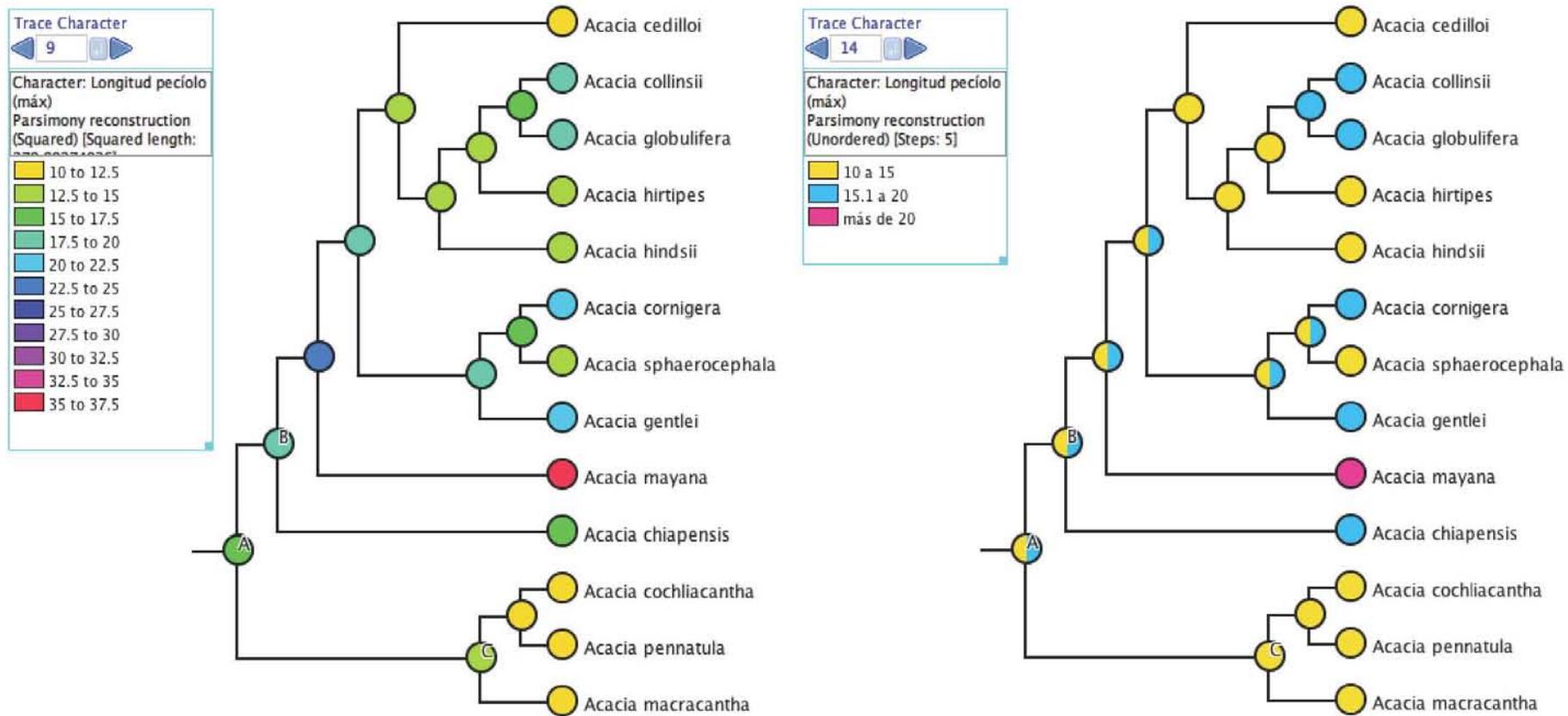


Figura 21. Reconstrucción de la longitud máxima de peciolo del grupo mirmecófilo de las acacias y del grupo externo *A. macracantha* por el análisis de máxima parsimonia para caracteres continuos (a) y para caracteres discretos (b).

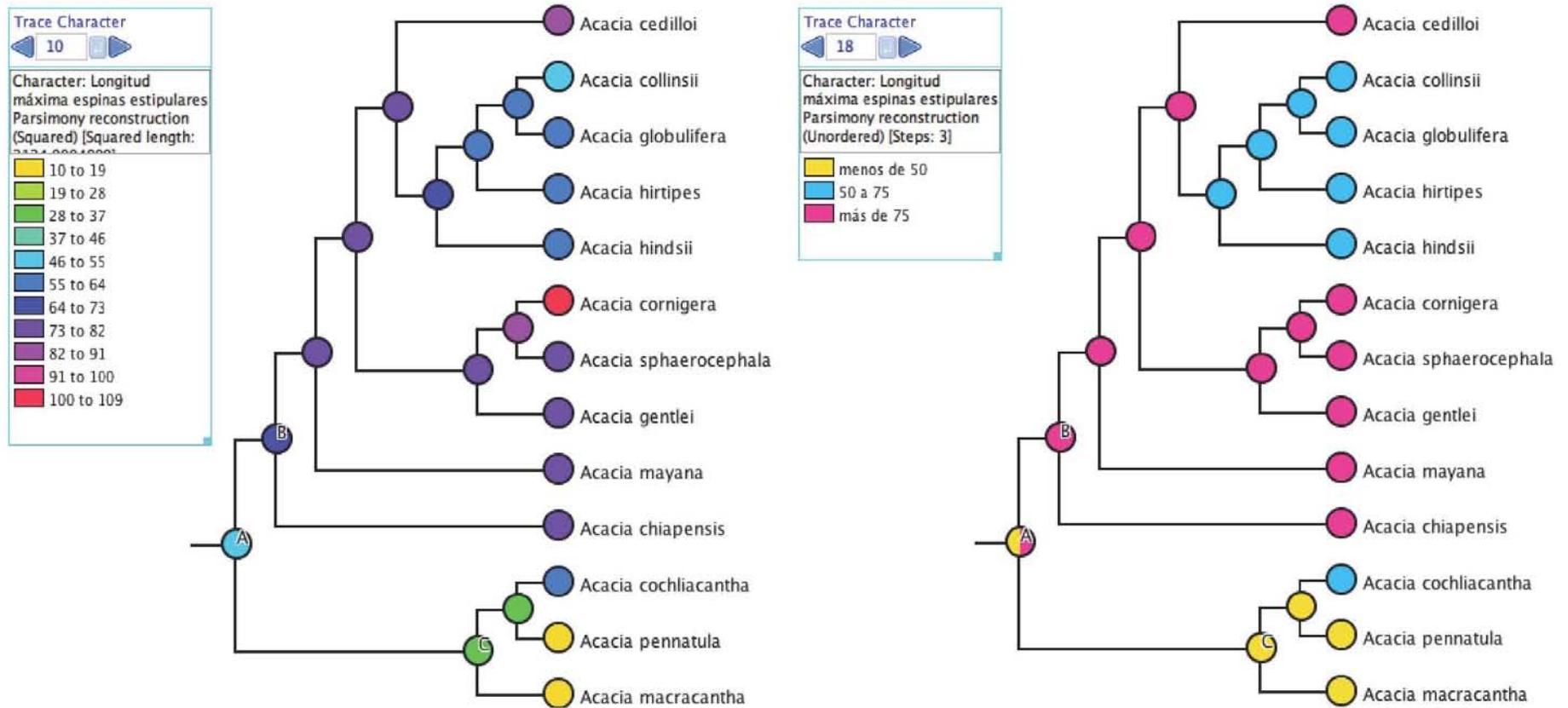


Figura 22. Reconstrucción de la longitud máxima de las estípulas espinescentes del grupo mirmecófilo de las acacias y del grupo externo *A. macracantha* por el análisis de máxima parsimonia para caracteres continuos (a) y para caracteres discretos (b).

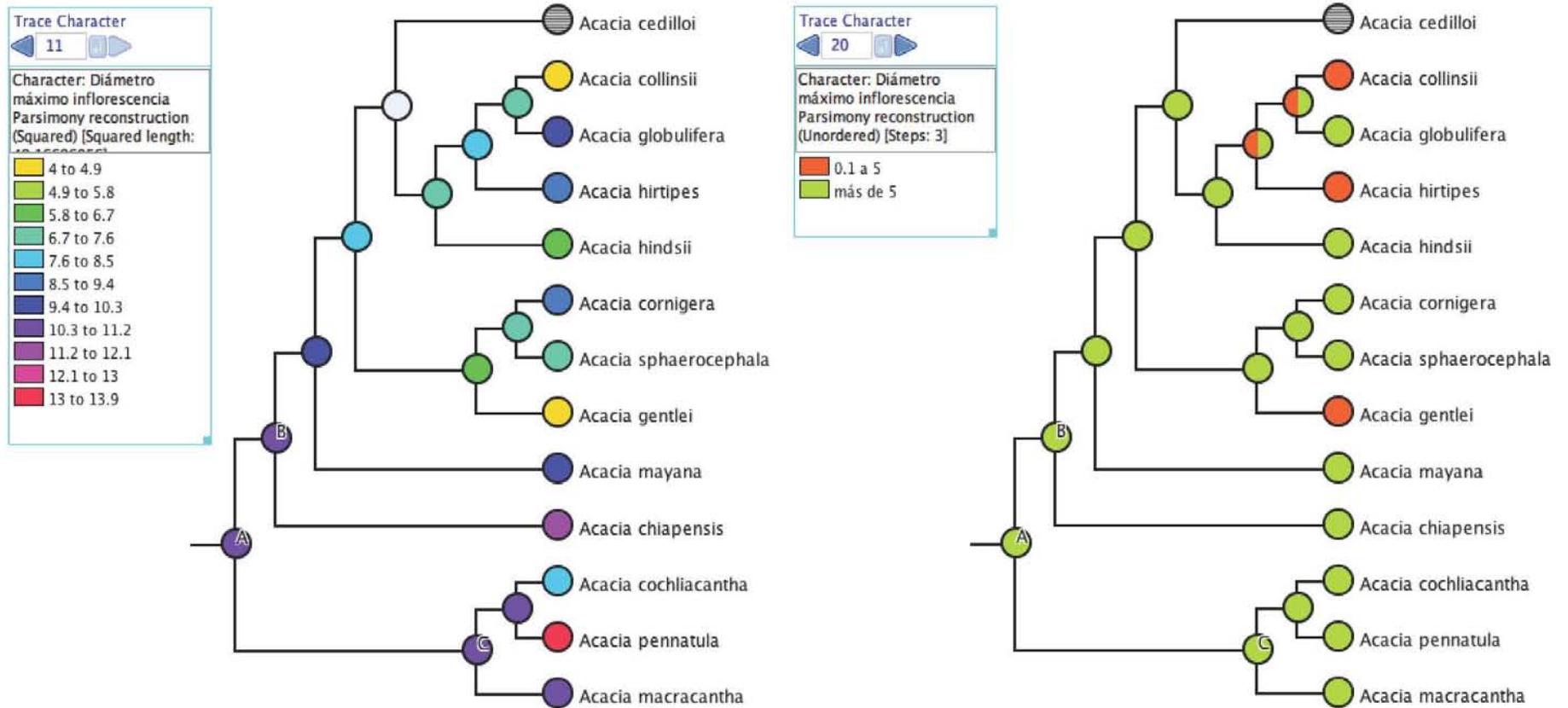


Figura 23. Reconstrucción del diámetro máximo de las inflorescencias del grupo mirmecófilo de las acacias y del grupo externo *A. macracantha* por el análisis de máxima parsimonia para caracteres continuos (a) y para caracteres discretos (b). La especie en rayas y el nodo en gris corresponden a estados de carácter desconocidos.

6. Discusión

6.1 Métodos de análisis utilizados

Las reconstrucciones basadas en el análisis de máxima verosimilitud utilizan un modelo explícito de evolución de los caracteres para estimar las probabilidades de todos los posibles estados ancestrales en cada nodo del árbol. Tales probabilidades están determinadas por un número de factores: el modelo de evolución utilizado, la distribución de los estados de carácter en los taxones terminales, la tasa de evolución de los caracteres y la longitud de las ramas internas en el árbol (Cunningham et al., 1998). Una de las fortalezas de este método es que revela la cantidad de incertidumbre en la reconstrucción de cada estado de carácter, incluso cuando dichos estados son reconstruidos inequívocamente bajo el método de máxima parsimonia (Nepokroeff et al., 2003). En este estudio, la reconstrucción realizada a través del análisis de máxima verosimilitud resultó congruente con la obtenida por medio del análisis de máxima parsimonia; sin embargo, algunos de los resultados alcanzados a través del de máxima parsimonia eran ambiguos en comparación con los conseguidos por medio del de máxima verosimilitud, lo que confirma algunas de las ventajas de este último método.

Cabe destacar que en las reconstrucciones es necesario considerar la direccionalidad de las trayectorias de cambio de los estados de carácter, ya que el patrón evolutivo influido por la selección positiva es a menudo único y puede ser diferente de aquel en el que no hay un cambio adaptativo. Esta tendencia puede afectar al análisis de máxima verosimilitud, por lo que, las probabilidades posteriores calculadas por dicha aproximación podrían no ser realistas (Harvey y Pagel, 1991; Nei y Kumar, 2000). Sin embargo, en el análisis realizado en este estudio, la probabilidad de cometer un error debido a este tipo de tendencias fue reducida al considerar simultáneamente los resultados del análisis de parsimonia.

En los análisis realizados a través del método de máxima parsimonia se utilizó el modelo de Fitch, una forma de análisis, que como se mencionó anteriormente, considera a los estados de carácter como desordenados (Harvey y Pagel, 1991; Wiley y Lieberman, 2011). Esta forma de parsimonia se empleó para el análisis de cada uno de los caracteres revisados en este estudio, incluyendo aquellos que parecen necesitar de modificaciones ordenadas, como la transformación de 1 nectario por pecíolo a 4, 7 o 14 nectarios. Sin embargo, para todos los caracteres aquí analizados se desconoce el modelo evolutivo al que cada uno de ellos se apega, por lo tanto, el uso de la parsimonia de Fitch para el análisis de estos caracteres se justifica bajo los supuestos de que (1) el propósito del presente estudio era simplemente explorar los posibles resultados de dicha reconstrucción y que (2) la parsimonia de Fitch es eficaz en el tratamiento de caracteres morfológicos multiestado (Harvey y Pagel, 1991; Wiley y Lieberman, 2011).

De esta forma, tanto el método de máxima parsimonia como el de máxima verosimilitud tienen ciertas ventajas y desventajas, por lo que, de acuerdo a nuestras observaciones, la mejor aproximación para la reconstrucción de los estados de carácter ancestrales consiste en considerar ambos análisis simultáneamente.

6.2 Reconstrucción de las características del ancestro común del grupo mirmecófilo y del grupo externo

El ancestro común del grupo mirmecófilo y del grupo externo tiende a mostrar estados de carácter con valores intermedios en comparación con los presentados por los ancestros del grupo mirmecófilo y del grupo *A. macracantha* por separado, o bien tiende a exhibir estados de carácter más parecidos a los observados en el grupo externo (Tabla 2, Figuras 1-23). Lo anterior, puede sugerir que las características que definen al grupo mirmecófilo de las acacias neotropicales surgieron y se desarrollaron después de que los linajes de este y del grupo *A. macracantha* divergieron y durante la división sucesiva de las ramas que dieron origen a cada una de las especies que integran al primer grupo. De esta manera, una fecha aproximada del origen de estos caracteres podría derivarse de la edad de divergencia del grupo mirmecófilo, es decir, hace aproximadamente 5.44 ± 1.93 millones de años, en otras palabras, a finales del Mioceno (Gómez, 2010; Gómez-Acevedo et al., 2010).

Esta observación coincide con lo reportado por Chomicki et al., (2015), quienes indican que las acacias neotropicales del grupo mirmecófilo y las hormigas pertenecientes al grupo *Pseudomyrmex ferrugineus* han experimentado una radiación separada pero temporalmente concordante, o bien, un proceso de co-radiación o co-diversificación, que comenzó hace aproximadamente 5 millones de años.

Otra evidencia que favorece esta interpretación son las cualidades específicas de *A. chiapensis*, especie localizada en la base del grupo mirmecófilo, capaz de sobrevivir en ausencia de hormigas mutualistas, aunque en su hábitat natural se encuentra mayormente asociada con ellas. Su habilidad para sobrevivir en ausencia de este insecto mutualista se debe a la presencia de compuestos cianogénicos (o tal vez, incluso alcaloides) en las hojas de esta especie (Rehr et al., 1973). Además comparte otras características con el grupo externo *A. macracantha*, como la cantidad de pares de pinnas por hoja y de pínulas por pinna, la baja producción de cuerpos

Beltianos y un pobre desarrollo de este tipo de recursos alimenticios, la escasa cantidad de estípulas espinescentes presentes, y el tipo y diámetro de su inflorescencia (Janzen, 1974).

En contraste, para el caso particular de los domacios y de los nectarios extraflorales, Chomicki y Renner (2015), así como Chomicki et al., (2015), realizaron una reconstrucción de los estados ancestrales de estos caracteres, rastreando su origen hasta el ancestro del grupo mirmecófilo (el nodo B en este estudio). En comparación, en este análisis, a pesar de haberse localizado el origen de los domacios (estípulas espinescentes modificadas) en el nodo B, también se reconoció que el ancestro común del grupo mirmecófilo y del grupo externo (el nodo C) ya poseía de 1 a raramente 2 nectarios por pecíolo y que además estos tenían una forma circular, lo que indica que en este grupo los nectarios extraflorales tienen una historia evolutiva más profunda que la que tienen los domacios.

Para el resto de los caracteres aquí estudiados no se ha hecho con anterioridad ninguna reconstrucción similar para ningún grupo cercano al subgénero *Acacia*, o al menos a la familia Mimosoideae. Por ello, a continuación se identificarán y discutirán los cambios observados en cada uno de los caracteres considerados y sus estados, así como las posibles implicaciones de dichos cambios.

6.3 Identificación de estados plesiomórficos y apomórficos y cambios observados en los caracteres examinados

De acuerdo a los resultados de la reconstrucción de estados de carácter ancestrales, los estados plesiomórficos y apomórficos de cada carácter corresponden a los enlistados en la tabla 3; de la misma forma, en esta tabla se pueden apreciar los cambios que sufrieron dichos caracteres durante la transición del grupo externo al grupo mirmecófilo.

Tabla 3. Cambios observados en los caracteres estudiados.

Carácter	Estado plesiomórfico	Estado apomórfico
<i>Caracteres geográficos</i>		
Altitud mínima (m s. n. m.)	0 a 25	100 a 125; 250 a 275
Altitud máxima (m s. n. m.)	más de 1500	100 a 500; 700 a 1200
	más de 1300	100 a 1300
<i>Caracteres vegetativos</i>		
Altura máxima (m)	9.2 a 11.8 ó 11.8 a 14.4	4 a 9.2 ó 4 a 11.8
Longitud máxima de hoja (cm)	20 a 30	más de 30; 14 a 20
	24.4 a 27	40 a 42.6; 14 a 21.8
Pares de pinnas por hoja (mínimo)	5 a 10	1 a 5
Pares de pinnas por hoja (máximo)	más de 30	10 a 20; 20 a 30
Pares de pínulas por pinna (mínimo)	15 a 25	5 a 15
Pares de pínulas por pinna (máximo)	más de 50	30 a 50; 20 a 30
Longitud mínima de pínulas (mm)	0.5 a 5	5 a 10
	0.8 a 2.64	2.64 a 5.4
Longitud máxima de pínulas (mm)	0.5 a 10	10 a 20; más de 20
	2.4 a 6.52	6.52 a 16.82
Ancho mínimo de pínulas (mm)	0.1 a 1	más de 1
	0.3 a 0.6	0.6 a 1.05
Ancho máximo de pínulas (mm)	0.1 a 1.9	2 a 2.9; más de 2.9
	0.6 a 1.28	1.96 a 3.66
Longitud máxima de pecíolo (mm)	10 a 15	15 a 20; más de 20

	10 a 12.5	12.5 a 22.5
Forma de los nectarios extraflorales	circular	columnar (cilíndrico); canao (volcán)
Número de nectarios por pecíolo	1 a raramente 2	1 a 7; 4 a 14
Estípulas espinescentes	no modificadas	modificadas
Longitud de estípulas espinescentes (mm)	menos de 50	más de 75; 50 a 75
	10 a 19	46 a 64; 73 a 91

Caracteres reproductivos

Forma de la inflorescencia	cabezuela	espiga; dedal
Diámetro de la inflorescencia (mm)	más de 5	0.1 a 5
	10.3 a 13.9	4 a 10.3
Dehiscencia del fruto	indehiscente	dehiscente

Caracteres bioquímicos

Metabolitos secundarios	S-proacacipetalina	sin cianogénicos; R-epiproacacipetalina
-------------------------	--------------------	--

Los cambios de estados de carácter que percibimos a través de este análisis pueden deberse a una gran variedad de factores que bien podrían estar relacionados con la interacción entre las especies y su ambiente abiótico y biótico, es decir que algunos de estos cambios podrían estar asociados a la mirmecofilia ya sea directa o indirectamente. Por esta razón, a continuación examinaremos cada una de estas modificaciones y su posible relación, o bien, su posible desconexión con la mirmecofilia.

6.3.1 Caracteres geográficos

Rangos de distribución altitudinal

En el análisis independiente de la naturaleza de las variables del límite inferior del rango altitudinal, *A. cornigera*, *A. gentlei* y *A. hirtipes* poseen, a diferencia del resto, una altitud mínima mayor a 100 m s. n. m. Es probable que el ancestro de *A. cornigera* y *A. gentlei* se encontrara también en una altitud mínima mayor a 100 m s. n. m. (0.5723), mientras que, el ancestro de *A. hirtipes* se distribuyera en una altitud mínima de 0 a 100 m s. n. m. (0.7566). La distribución altitudinal mínima mayor a 100 m s. n. m. es derivada con respecto a la distribución de 0 a 100 m s. n. m.

En contraste, en el análisis dependiente de la naturaleza de las variables, sólo *A. cornigera* y *A. gentlei* poseen una distribución altitudinal mínima de 100 a 125 m s. n. m. y es probable que el ancestro de estas especies se distribuyera en un rango de 50 a 75 m s. n. m. Por otro lado, *A. hirtipes* posee una distribución altitudinal mínima de 250 a 275 m s. n. m. Su ancestro tuvo, probablemente, una distribución que variaba entre 100 y 125 m s. n. m. Al igual que en el primer análisis, los niveles altitudinales mínimos más altos son derivados con respecto a los más cercanos al nivel del mar, los cuales son los ancestrales.

En el primer análisis realizado del límite superior del rango altitudinal, *A. cedilloi*, *A. chiapensis*, *A. collinsii*, *A. gentlei* y *A. mayana* se distribuyen en una altitud máxima de 100 a 500 m s. n. m.; mientras que, *A. cornigera*, *A. globulifera*, *A. hirtipes* y *A. sphaerocephala* poseen una distribución máxima de 700 a 1200 m s. n. m. Ambas distribuciones representan caracteres apomórficos con respecto al carácter plesiomórfico del grupo *A. macracantha*, de más de 1500 m s. n. m.

A. hindsii, a diferencia del resto de las especies del grupo mirmecófilo, se distribuye a más de 1500 m s. n. m., lo que podría representar una regresión al carácter ancestral, es decir un carácter homoplásico. Es igualmente probable que el ancestro de *A. hindsii* (que también es el ancestro de *A. collinsii*, *A. globulifera* y *A. hirtipes*) se distribuyera de 100 a 500, de 700 a 1200 o a más de 1500 m s. n. m.

En contraste, en el segundo análisis realizado, es posible observar que las distintas especies del grupo mirmecófilo se distribuyen en un gradiente altitudinal máximo que varía desde 100 m s. n. m. hasta 1300 m s. n. m. *A. cedilloi*, *A. chiapensis*, *A. collinsii* y *A. mayana* se distribuyen a las altitudes más bajas, es decir, de 100 a 340 m s. n. m. Su ancestro común más reciente corresponde al ancestro del grupo mirmecófilo. *A. gentlei* se distribuye de 340 a 580 m s. n. m., mientras que, su ancestro lo hace de 580 a 820 m s. n. m. *A. hirtipes* posee una distribución de 580 a 820 m s. n. m., mientras que, su ancestro poseía probablemente una de 820 a 1060 m s. n. m. *A.*

sphaerocephala, al igual que su ancestro, se distribuye de 820 a 1060 m s. n. m. *A. cornigera* y *A. globulifera* lo hacen de 1060 a 1300 m s. n. m.; mientras que, altitud máxima de su ancestro común más reciente corresponde al rango de 580 a 820 m s. n. m. Los niveles altitudinales máximos más elevados, es decir, los mayores a 1300 m s. n. m. corresponden al carácter plesiomórfico, mientras que, los más bajos, es decir, los menores a 1300 m s. n. m. corresponden al carácter apomórfico.

En este análisis, como en el primero, *Acacia hindsii* es la única especie cuyos valores salen de este rango y se parecen más a los que el grupo externo presenta, por ende, este podría considerarse como un caso de homoplasia. Su ancestro se distribuía probablemente de 1060 a 1300 m s. n. m. Los resultados de ambos análisis concuerdan entre sí, con la singularidad de que los del segundo análisis son más exactos que los del primero.

De esta forma, la distribución altitudinal de las acacias se redujo durante la transición del grupo *A. macracantha* al grupo mirmecófilo, pues de distribuirse de 0 a más de 1300 o 1500 m s. n. m. pasaron a distribuirse de 0 a máximo 1300 m s. n. m., dependiendo de las condiciones de humedad y temperatura (Figura 13 y 14; Tabla 3).

De acuerdo a Janzen (1966, 1974) cuanto más frío se vuelve un transecto altitudinal, más rápidamente desaparecen las acacias mirmecófilas de la vegetación, pues a pesar de que el clima frío no mata a las hormigas, restringe su patrullaje hasta llegar al punto en el que la planta queda cubierta por la creciente vegetación y/o es severamente defoliada por insectos fitófagos bien adaptados a dichas condiciones climáticas. Además las plantas sufren de un crecimiento más lento en los climas más fríos, lo que provoca que la colonia muera por la privación de comida causada por la falta de productos foliares, como son los cuerpos beltianos.

Asimismo, la complejidad y la cantidad de interacciones planta-insecto por unidad de área decrece gradualmente conforme uno se mueve de los trópicos hacia áreas más elevadas. Este fenómeno se encuentra asociado con la reducción gradual de la biomasa existente producida a lo largo del año, así como al incremento en las fluctuaciones del ambiente físico y a la disminución de su predictibilidad. Lo anterior se debe en parte a la incapacidad de algunas especies de tolerar las presiones físicas del ambiente y en parte también a la disminución de la riqueza y abundancia de especies, y por lo tanto de su diversidad genética, en áreas con mayores elevaciones. De este modo, la falta de uniformidad y las fluctuaciones del ambiente físico causan la ruptura de las relaciones interespecíficas y resultan hostiles para las especies individuales (Janzen, 1966).

6.3.2 Caracteres vegetativos

Forma de vida

Es posible que el carácter ancestral sea el hábito arborescente y que el derivado sea la combinación de árbol-arbusto, pues todos los elementos del grupo mirmecófilo (excepto *A. hirtipes*) poseen este carácter. Sin embargo no en todos los elementos del grupo externo se encuentra el carácter ancestral pues *A. cochliacantha* puede presentarse tanto en la forma de árbol como de arbusto. De este modo, debido a la continuidad del estado de carácter árbol-arbusto, no es posible distinguir una tendencia o patrón de cambio en este atributo a lo largo de la filogenia, y por lo tanto tampoco es posible definir si dicha tendencia se encuentra, o no, relacionada con la mirmecofilia.

Altura máxima

De acuerdo al análisis independiente de la naturaleza de las variables, *A. cedilloi*, *A. cochliacantha* (del grupo externo) y *A. sphaerocephala* poseen una altura máxima de 1 a 6 m, mientras que, *A. gentlei* y *A. pennatula* (en el grupo externo) poseen una altura mayor a 12 m. La altura máxima mejor representada en ambos clados es la de 6.1 a 12 m. Sin embargo, a pesar de que esta altura es la mejor distribuida en el árbol, se considera que los tres caracteres son ancestrales, siendo el de 6.1 a 12 m el más probable.

En cambio, de acuerdo al análisis dependiente de la naturaleza de las variables, *A. cedilloi*, *A. cochliacantha* y *A. sphaerocephala* tienen una altura máxima de 4 a 6.6 m. Su ancestro común más reciente corresponde al ancestro común del grupo mirmecófilo y el grupo externo, es decir al nodo *A. A. hirtipes* tiene una altura máxima de 6.6 a 9.2 m, mientras que, su ancestro pudo haber tenido una altura máxima de 9.2 a 11.8 m. *A. macracantha*, como su ancestro, posee una altura máxima que varía de 11.8 a 14.4 m.

A. gentlei es la especie más alta del grupo mirmecófilo, pudiendo alcanzar tallas de 24.8 a 27.4 m. Su ancestro conseguía probablemente llegar a tallas de 14.4 a 17 m. *A. pennatula* llega a alturas de 30 a 32.6 m, mientras que, su ancestro lo hace de 14.4 a 17 m.

En este análisis, como en el anterior, es difícil identificar al carácter plesiomórfico y al apomórfico, pues tanto los valores más bajos como los más altos del rango de altura máxima que pueden alcanzar estas especies se encuentran representados en el grupo externo. Sin embargo, la talla más frecuente es la de 9.2 a 11.8 m, por tanto, es posible que esta medida corresponda al carácter

plesiomórfico. En este caso en especial, el segundo análisis arrojó mejores resultados en comparación con el primero.

De esta forma, no es posible definir claramente un patrón de cambio en la altura máxima que las especies del grupo mirmecófilo pueden alcanzar en comparación con las especies del grupo externo, pues la definición del estado plesiomórfico y del estado apomórfico es ambigua. En este análisis se consideraron los valores entre 9.2 y 11.8 como el estado ancestral debido a que era el mejor distribuido en la filogenia. Sin embargo, de acuerdo a Harvey y Pagel (1991) el estado de carácter más común en un grupo puede también corresponder al estado derivado. Por ello, una segunda opción a considerar es la de escoger al estado que el grupo externo presenta como el ancestral, valor que en este análisis corresponde al intervalo entre 11.8 y 14.4 m. De esta forma, los estados derivados pueden corresponder ya sea al rango de 4 - 9.2 m, o bien de 4 - 11.8 m (Tabla 3).

Siguiendo esta línea de análisis, en la transición del grupo *A. macracantha* al grupo mirmecófilo las especies tendieron a disminuir el valor de dicho carácter. Es decir, el límite superior del rango de altura máxima pasó de 9.2 - 14.4 m a 4 - 11.8 m. Este resultado contrasta con la descripción de Janzen (1966), quien reporta que las acacias mirmecófilas neotropicales varían desde pequeños arbustos hasta árboles de 30 m de alto. Sin embargo, de acuerdo a los registros recopilados aquí, la especie más alta del grupo mirmecófilo es *A. gentlei*, que alcanza de 22.2 a 24.8 m (Figura 15), mientras que, el resto de las especies de este grupo alcanzan una altura máxima de 9.2 a 11.8 m. Finalmente es necesario puntualizar que se desconoce si existe alguna relación directa entre la reducción de la altura máxima que estas especies pueden alcanzar y la mirmecofilia.

Hojas, pinnas y pinnulas

∞ Longitud máxima de hoja

De acuerdo al primer análisis realizado, el carácter ancestral parece ser el de las hojas medianas (de 20.1 a 30 cm), mientras que, el derivado corresponde a las hojas más pequeñas, es decir, de 14 a 20 cm de largo. Las hojas más grandes (de más de 30 cm) están distribuidas en las especies basales del grupo mirmecófilo (*A. chiapensis* y *A. mayana*). Así, parece que en la transición del grupo *A. macracantha* al grupo mirmecófilo primero se agrandaron las hojas y luego se hicieron aún más pequeñas en comparación con su tamaño inicial. *A. globulifera* es la única especie del grupo mirmecófilo que presenta hojas con una longitud máxima que varía entre 20 y 30 cm, por ello, éste puede interpretarse como un caso de homoplasia.

Análogamente, de acuerdo al segundo análisis, el carácter plesiomórfico es el de hojas de 24.4 a 27 cm de longitud, mientras que, los caracteres apomórficos corresponden a las tallas más pequeñas, es decir, hojas de 14 a 19.2 cm, o bien, de 14 a 21.8 cm. Cabe mencionar que las dos especies basales del grupo mirmecófilo *A. chiapensis* y *A. mayana* presentan las hojas más grandes, es decir, de 40 a 42.6 cm. De esta forma, y como se mencionó anteriormente, parece que en la transición del grupo externo al grupo mirmecófilo, primero se agrandaron las hojas y luego se hicieron aún más pequeñas que su tamaño inicial.

A. cedilloi, *A. cochliacantha*, *A. cornigera*, *A. hirtipes* y *A. sphaerocephala* presentan las hojas más pequeñas del rango, es decir de 14 a 16.6 cm de longitud. El ancestro común más reciente de estas especies corresponde al nodo A, pues *A. cochliacantha* pertenece al grupo externo. Sin embargo, el ancestro común más reciente de las especies mirmecófilas enumeradas con anterioridad poseía hojas de 21.8 a 24.4 cm de longitud.

A. gentlei y *A. hindsii* pertenecen a la segunda clase del rango, ya que poseen hojas de 16.6 a 19.2 cm de longitud máxima. Su ancestro común más reciente es también el ancestro común más reciente del grupo anterior, por lo que, poseía hojas de 21.8 a 24.4 cm de longitud, como se mencionó en el párrafo anterior.

A. collinsii pertenece a la siguiente clase del rango, con hojas cuya longitud varía entre 19.2 y 21.8 cm. Su ancestro más reciente pertenece a esta misma clase y presenta las mismas medidas. *A. globulifera* tiene hojas de 24.4 a 27 cm de longitud, mientras que, su ancestro más reciente posee hojas de 19.2 a 21.8 cm de longitud, ya que se trata del mismo ancestro que el de *A. collinsii*.

Finalmente, y como se mencionó con anterioridad, las longitudes máximas de hojas de *A. chiapensis* y *A. mayana* se localizan en el límite superior del rango, pues presentan las hojas más largas de todas las especies estudiadas. Sus longitudes de hojas varían entre 40 y 42.6 cm de longitud. Su ancestro común más reciente corresponde al nodo B, por ello, su longitud máxima de hoja variaba entre 32.2 y 34.8 cm. De esta forma, a pesar de que los resultados de ambos análisis coinciden entre sí, en este caso como en los anteriores, a través del segundo análisis se obtuvieron resultados más puntuales que los alcanzados a través del primero.

☞ Pares de pinnas por hoja (mínimo y máximo)

A. collinsii, *A. cornigera*, *A. gentlei*, *A. hindsii* y *A. sphaerocephala* tienen en su valor mínimo de 1 a 5 pares de pinnas por hoja. El ancestro de *A. cornigera*, *A. gentlei* y *A. sphaerocephala* coincide

con estos valores (0.8708), mientras el ancestro de *A. collinsii* y de *A. hindsii* tiene una mayor probabilidad de haber ostentado un valor mínimo de 5 a 10 pares de pinnas por hoja (0.5892). El ancestro común de las especies mencionadas arriba tiene una mayor probabilidad (0.6775) de haber mostrado de 5 a 10 pares de pinnas por hoja que de haber mostrado de 1 a 5 pares de pinnas por hoja (0.2862).

A. pennatula, localizada en el grupo externo, es la única especie que posee más de 10 pares de pinnas por hoja en su valor mínimo. Sin embargo, su ancestro aparenta haber mostrado únicamente de 5 a 10 pares de pinnas por hoja (0.7941), como el resto de los elementos de este grupo. Tanto el rango de 1 a 5 pares de pinnas por hoja como el de más de 10 son caracteres derivados con respecto al rango de 5 a 10 pares.

En cuanto a los valores máximos, *A. cedilloi*, *A. collinsii*, *A. cornigera*, *A. gentlei*, *A. mayana* y *A. sphaerocephala* poseen de 10 a 20 pares de pinnas por hoja, mientras que, *A. cochliacantha* (del grupo externo), *A. globulifera*, *A. hindsii* y *A. hirtipes* poseen de 20 a 30 pares de pinnas. El ancestro de las especies que poseen de 10 a 20 pares de pinnas por hoja corresponde al nodo de donde surgen todas las especies del grupo mirmecófilo exceptuando a *A. chiapensis*, y tiene una probabilidad de 0.8142 de que sus hojas estuvieran compuestas por esta misma cantidad de pinnas. Por otro lado, el ancestro de las especies pertenecientes al grupo mirmecófilo que tienen de 20 a 30 pares de pinnas tiene una probabilidad de 0.7727 de haber mostrado este carácter; entretanto que el ancestro de *A. cochliacantha* sólo guarda una probabilidad de 0.2047 de haberlo poseído, es decir, era más probable que este tuviera más de 30 pares de pinnas por hoja (0.7569). *A. chiapensis* es la única especie del grupo mirmecófilo que tiene más de 30 pares de pinnas por hoja, carácter que es plesiomórfico con respecto a los otros dos (10 a 20 y 20 a 30).

☞ Pares de pínulas por pinna (mínimo y máximo)

A pesar de que el carácter ancestral de los valores mínimos del rango es de 15 a 25 pares de pínulas por pinna, el carácter derivado correspondiente a la categoría de 5 a 15 pares de pínulas por pinna está bien distribuido entre *A. cedilloi*, *A. cochliacantha* (del grupo externo), *A. collinsii*, *A. cornigera*, *A. gentlei*, *A. hindsii* y *A. sphaerocephala*. El ancestro de estas especies (exceptuando a *A. cochliacantha*) tiene una probabilidad de 0.7061 de haber mostrado este mismo carácter plesiomórfico, sin embargo el ancestro de *A. cochliacantha* sólo tiene una probabilidad de 0.3839 de compartir dicho carácter, probabilidad que es casi idéntica a la de haber mostrado más de 25 pares (0.3780) en el extremo inferior del rango.

Sólo *A. pennatula* (en el grupo externo) ostenta más de 25 pares de pínulas por pinna. Su ancestro es el mismo que el de *A. cochliacantha*, por lo tanto, la probabilidad de haber mostrado este carácter es de 0.3780, como se mencionó en el párrafo anterior. Este carácter también es derivado con respecto al de 15 a 25 pares pínulas por pinna.

En cuanto a los valores máximos, a pesar de que el carácter ancestral corresponde a más de 50 pares de pínulas por pinna, el carácter derivado de 30 a 50 pares de pínulas está bien distribuido en la filogenia y sólo *A. cedilloi*, *A. chiapensis*, *A. collinsii* y *A. macracantha* poseen un valor diferente a este. *A. chiapensis* y *A. macracantha* tienen el carácter ancestral (más de 50 pares), mientras que, *A. cedilloi* y *A. collinsii* poseen un rango de 20 a 30 pares de pínulas por pinna.

El ancestro de las especies que presentan el carácter derivado (30 a 50 pares de pínulas por pinna) corresponde al nodo A, por lo que, probabilidad de que este haya presentado dicho carácter es de 0.3991, como se mencionó anteriormente. Por otro lado, las especies del grupo mirmeecófilo que comparten este carácter tienen un ancestro en común cuya probabilidad de haberlo compartido también es de 0.8580. De la misma forma, el ancestro de las especies del grupo externo que también presentan de 30 a 50 pares de pínulas por pinna tiene una probabilidad de 0.9138 de haber expuesto esta característica.

En contraste, el ancestro de *A. cedilloi* y *A. collinsii* (especies que poseen de 20 a 30 pares de pínulas por pinna) sólo tiene una probabilidad de 0.2076 de haber presentado también este carácter mientras que, su probabilidad de haber mostrado de 30 a 50 pares era de 0.7575. Este carácter también es derivado con respecto al de más de 50 pares de pínulas por pinna.

☞ Longitud mínima de pínulas

De acuerdo al análisis independiente de la naturaleza de las variables, únicamente *A. gentlei* y *A. mayana* poseen pínulas de mínimo 5.1 a 10 mm de largo, valores mayores a los del resto de las especies consideradas en el análisis. Sin embargo, su ancestro sólo tiene una probabilidad de 0.2467 de haber mostrado este carácter. Las pínulas de mínimo 5 a 10 mm de largo representan un carácter derivado con respecto a las de 0.5 a 5 mm, las cuales corresponden al carácter ancestral.

En cambio, de acuerdo al análisis dependiente de la naturaleza de las variables, *A. chiapensis*, *A. globulifera*, *A. hindsii* y *A. hirtipes* presentan pínulas de 2.64 a 3.56 mm de longitud. Su ancestro común más reciente corresponde al nodo B. *A. cedilloi*, *A. cornigera* y *A. sphaerocephala* poseen

pínnulas de 3.56 a 4.48 mm de longitud. A diferencia de ellos, su ancestro común más reciente poseía pínnulas cuya longitud variaba entre 5.4 y 6.32 mm de longitud. *A. collinsii* tiene pínnulas de 4.48 a 5.4 mm de longitud, mientras que, su ancestro más reciente poseía pínnulas de 3.56 a 4.48 mm de longitud.

A. gentlei y *A. mayana* presentan los valores más altos de todas las especies. *A. gentlei* posee hojas de 6.32 a 7.24 mm de longitud; mientras que, *A. mayana* tiene hojas de 10 a 10.92 mm de longitud. El ancestro más reciente del primero poseía pínnulas de 5.4 a 6.32 mm de longitud, mientras que, el ancestro más reciente del segundo poseía pínnulas de 6.32 a 7.24 mm.

El estado plesiomórfico de este carácter corresponde al de las pínnulas más cortas, es decir, las pínnulas cuya longitud mínima varía entre 0.8 y 2.64 mm. Entretanto que el estado apomórfico corresponde a pínnulas más largas, es decir, las pínnulas de 2.64 a 5.4 mm de longitud mínima. En este caso, los resultados del primer y del segundo análisis coinciden entre sí solo parcialmente; además de que los alcanzados a través del segundo son más puntuales que los logrados con el primero.

∞ Longitud máxima de pínnulas

De acuerdo al primer análisis, sólo *A. mayana* tiene pínnulas de más de 20 mm de largo, mientras que, *A. collinsii*, *A. cornigera* y *A. gentlei* las tienen de 10 a 20 mm de largo. El ancestro de *A. mayana* sólo tiene una probabilidad de 0.2732 de haber mostrado pínnulas de más de 20 mm de largo, es decir, el carácter observado en su nodo terminal. El ancestro de *A. cornigera* y *A. gentlei* tiene una probabilidad de 0.5951 de haber mostrado el carácter observado en estas especies, mientras que, en el ancestro de *A. collinsii* sólo existe una probabilidad de 0.1425 de haber encontrado este atributo. Las pínnulas de máximo 10 a 20 y de más de 20 mm de largo representan un carácter derivado con respecto a las de 0.5 a 10 mm, que corresponden al carácter ancestral.

En contraste, de acuerdo al segundo análisis, *A. globulifera* y *A. hirtipes* tienen pínnulas cuya longitud máxima varía entre 2.4 y 4.46 mm y 4.46 y 6.52 mm respectivamente, medidas equivalentes al estado plesiomórfico de este carácter; por ende, estos casos representan caracteres homoplásicos. Su ancestro común más reciente presenta pínnulas cuya longitud máxima varía entre 6.52 y 8.58 mm.

A. chiapensis y *A. hindsii* poseen pínulas de 6.52 a 8.58 mm de longitud máxima. Su ancestro común más reciente corresponde al nodo B. *A. cedilloi* y *A. sphaerocephala* presentan pínulas entre 8.58 y 10.64 mm de longitud máxima, mientras que, su ancestro común más reciente tenía pínulas que variaban entre 12.7 y 14.76 mm de longitud máxima. Tanto *A. cornigera* como su ancestro más reciente, tienen pínulas entre 10.64 y 12.7 mm de longitud.

Finalmente, *A. collinsii* y *A. gentlei* ostentan pínulas cuya longitud máxima varía entre 14.76 y 16.82 mm. El ancestro común más reciente de estas especies presenta pínulas entre 12.7 y 14.76 mm de largo. Mientras que, *A. mayana* goza de las pínulas más largas del rango, es decir, pínulas entre 23 y 25.06 mm de longitud máxima; su ancestro más reciente posee pínulas de entre 14.76 y 16.82 mm de longitud máxima.

El estado plesiomórfico de este carácter corresponde al de las pínulas más cortas, es decir, pínulas cuya longitud máxima variaba entre 2.4 y 6.52 mm; mientras que, el estado apomórfico corresponde a las pínulas más largas, es decir, pínulas de 6.52 a 16.82 mm de longitud máxima. En este caso, como en el anterior, los resultados de ambos análisis coinciden solo parcialmente entre sí, y los del segundo son más concisos que los del primero.

☞ Ancho mínimo de pínulas

De acuerdo al análisis independiente de la naturaleza de las variables, únicamente *A. cedilloi* y *A. mayana* poseen pínulas con más de 1 mm de ancho. A pesar de ello, su ancestro sólo tiene una probabilidad de 0.2489 de haber mostrado este carácter. Las pínulas de mínimo 0.1 a 1 mm de ancho corresponden al estado plesiomórfico, mientras que, las pínulas de más de 1 mm de ancho representan el estado apomórfico.

En comparación, de acuerdo al análisis dependiente de la naturaleza de las variables, *A. globulifera* presenta las pínulas más angostas del rango, pues sus pínulas oscilan entre 0.45 y 0.6 mm de ancho mínimo. Estos valores, más parecidos a los del grupo externo, y por lo tanto al estado plesiomórfico del carácter, lo emplazan como un estado homoplásico. Su ancestro más reciente ostenta pínulas de entre 0.75 y 0.9 mm de ancho mínimo.

A. chiapensis y *A. gentlei* poseen pínulas de entre 0.6 y 0.75 mm de ancho mínimo. Su ancestro común más reciente corresponde al nodo B. *A. hirtipes* tiene pínulas cuyo ancho mínimo varía entre 0.75 y 0.9 mm. Su ancestro más reciente también posee pínulas con esta misma característica. *A. collinsii*, *A. cornigera*, *A. hindsii* y *A. sphaerocephala* presentan pínulas de entre

0.9 y 1.05 mm de ancho mínimo. Su ancestro común más reciente posee pínulas cuyo ancho mínimo varía entre 1.05 y 1.2 mm.

A. cedilloi ostenta pínulas de entre 1.35 y 1.5 mm de ancho mínimo, mientras que, su ancestro más reciente presentaba pínulas que variaban entre 1.2 y 1.35 mm de ancho. *A. mayana* posee pínulas cuyo ancho mínimo se encuentra en el rango de 1.8 a 1.95 mm, entretanto que su ancestro más reciente tenía pínulas que variaban entre 1.2 y 1.35 mm de ancho.

El estado plesiomórfico de este carácter corresponde a las pínulas más angostas, es decir, a las pínulas con un ancho mínimo que oscila entre 0.3 y 0.6 mm; mientras que, el estado apomórfico corresponde a las pínulas más anchas, es decir, a las pínulas entre 0.6 y 1.05 mm de ancho. En este caso, nuevamente el primer y el segundo análisis coinciden solo parcialmente, y los obtenidos a través del segundo son más concretos que los alcanzados a través del primero.

☞ Ancho máximo de pínulas

De acuerdo al primer análisis ejecutado, *A. cedilloi*, *A. chiapensis*, *A. cornigera*, *A. hindsii* y *A. sphaerocephala* poseen pínulas de 2 a 2.9 mm de ancho, mientras que, *A. collinsii*, *A. gentlei* y *A. mayana* poseen pínulas de más de 2.9 mm de ancho. El ancestro de las especies que poseen pínulas entre 2 y 2.9 mm de ancho corresponde al nodo B, por consiguiente, su probabilidad de haber presentado este mismo carácter es de 0.5537, como se había mencionado con anterioridad. Asimismo, el ancestro de *A. collinsii*, *A. gentlei* y *A. mayana* tiene una probabilidad de 0.5099 de haber mostrado el carácter observado en estas especies, es decir pínulas de más de 2.9 mm de ancho.

Ambos caracteres, tanto el ancho de pínulas de 2 a 2.9 mm como el mayor a 2.9 son apomórficos con respecto al de 0.1 a 1.9 mm, que corresponde al carácter plesiomórfico. *A. globulifera* y *A. hirtipes* son las únicas especies mirmecófilas en las que se observa surgir nuevamente el carácter ancestral (de 0.1 a 1.9 mm), es decir que ambas poseen un carácter homoplásico.

Por otra parte, de acuerdo al segundo análisis llevado a cabo, *A. globulifera* y *A. hirtipes* tienen las pínulas más angostas del grupo mirmecófilo, ya que el ancho máximo de estas oscila entre 0.94 y 1.28 mm. Debido a que estos valores se parecen más a los del grupo externo y por lo tanto al estado plesiomórfico del carácter se considera a este caso como un caso de homoplasia. El ancestro común más reciente de estas especies presenta pínulas de entre 1.62 y 1.96 mm de ancho máximo.

A. chiapensis, *A. hindsii* y *A. sphaerocephala* poseen pinnulas de entre 1.96 y 2.3 mm de ancho máximo. Su ancestro común más reciente corresponde al nodo B. *A. cedilloi*, al igual que su ancestro más reciente, goza de pinnulas de entre 2.3 y 2.64 mm de anchura máxima.

A. cornigera presenta pinnulas con un ancho máximo de entre 2.64 y 2.98 mm. A diferencia de este, su ancestro más reciente ostenta pinnulas cuyo ancho máximo varía entre 2.3 y 2.64 mm. *A. gentlei* tiene pinnulas con un ancho máximo que oscila entre 2.98 y 3.32 mm, mientras que, las pinnulas de su ancestro más reciente muestran un ancho máximo que fluctúa entre 2.64 y 2.98 mm.

A. mayana posee pinnulas con un anchura máxima que varía entre 3.32 y 3.66 mm, mientras que, las pinnulas de su ancestro más reciente tienen una anchura máxima que se encuentra en el rango de 2.64 a 2.98 mm. Finalmente, en *A. collinsii* se encuentran las pinnulas más anchas de todas las especies consideradas, pues el ancho máximo de estas puede variar desde 4 hasta 4.34 mm.

El estado plesiomórfico de este carácter corresponde a las pinnulas más angostas, es decir, a las pinnulas con un ancho máximo que fluctúa entre 0.6 y 1.28 mm; mientras que, el estado apomórfico corresponde a las pinnulas más anchas, es decir, a las pinnulas de entre 1.96 y 3.66 mm de ancho máximo. De esta manera, en este caso como en los anteriores, los resultados del primer y del segundo análisis coinciden solo parcialmente, y los del segundo son más precisos que los del primero.

☞ Relación de los caracteres de hojas, pinnas y pinnulas examinados con la mirmecofilia

La longitud máxima de hoja, la cantidad de pares de pinnas por hoja y de pinnulas por pinna, así como la longitud y el ancho de las pinnulas muestran un patrón específico durante la transición del grupo *A. macracantha* al grupo mirmecófilo, como a continuación se discutirá.

De acuerdo a los resultados del presente estudio, durante la transición del grupo mirmecófilo al grupo externo, las hojas se agrandaron en un primer paso (40 a 42.6 cm) y luego se hicieron aún más pequeñas (14 a 21.8 cm) en comparación con su tamaño inicial (24.4 a 27 cm; Figura 16; Tabla 3). Esto es contradictorio con lo reportado anteriormente, pues de acuerdo a Janzen (1966, 1974) las acacias mirmecófilas poseen las hojas más largas de este género, ya que estas se extienden mucho más allá de las puntas de los domacios y pueden ser fácilmente removidas del árbol sin tocar dichas estructuras.

De acuerdo a este mismo autor, las hojas grandes les son útiles en los climas nubosos (que se presentan más comúnmente en los sitios húmedos que en los secos), además de ser favorecidas por la ausencia del problema de la pérdida de agua foliar en este tipo de hábitats. En cambio, en los hábitats más secos, muchas de las hojas más grandes se caen durante la temporada seca, y luego grupos axilares de hojas muy pequeñas proveen a la colonia de néctar y cuerpos Beltianos, producto esenciales para evitar que la colonia muera o migre a otro individuo. Muy pocas plantas mirmecófilas y sus hojas grandes son producidas durante la temporada seca. Así, las especies que habitan en los lugares más secos (*A. collinsii*, *A. cornigera* y *A. hindsii*) tienen las hojas más pequeñas.

Es necesario considerar que en una acacia cualquiera el tamaño de las hojas varía extensivamente en función de la temporada (las hojas más pequeñas son producidas durante la temporada seca, mientras que, las más grandes son generadas durante la temporada de lluvias), la parte del árbol (las hojas más pequeñas se encuentran subtendidas por estípulas espinescentes tipo B, mientras que, las más grandes se encuentran protegidas por estípulas espinescentes tipo A presentes principalmente en ramas laterales), así como el estado de salud del organismo en cuestión (Janzen, 1974).

Por el contrario, nuestros resultados demuestran no sólo que las acacias mirmecófilas no poseen las hojas más grandes, si no que tienen hojas más pequeñas que las pertenecientes a las especies con las que están más cercanamente emparentadas; y que además son *A. sphaerocephala*, *A. cornigera*, *A. hirtipes* y *A. cedilloi* las especies con las hojas más pequeñas, es decir de 14 a 16.6 cm de longitud (Figura 16).

Por otra parte, *A. mayana* y *A. gentlei* demostraron poseer las hojas más grandes del rango; estado que puede estar relacionado con la cantidad de radiación solar que llega a ellas, más que con el contenido de humedad del ambiente donde se desarrollan. Más específicamente, *A. mayana*, es la especie más rara y con áreas de distribución más restringidas de las acacias mirmecófilas, habita sitios cerrados, por lo que, las hojas que gocen de una mayor área superficial y por lo tanto de una mayor cantidad de clorofila podrían representar una adaptación a este tipo de ambientes. En contraste con esta especie, *A. cornigera* tiende a ubicarse en sitios abiertos, por ende, probablemente no necesita hojas grandes con un gran contenido de clorofila, si no que al contrario, este carácter podría resultar perjudicial en esta especie (Janzen, 1974).

De la misma forma, tanto la cantidad de pares de pinnas por hoja, como la de pínulas por pinna disminuyeron durante esta transición, es decir de un rango de 5 a más de 30 pares de pinnas por hoja y de 15 a más 50 pares de pínulas por pinna (300 a más de 6000 pínulas por hoja) pasaron

a poseer de 1 a máximo 30 pares de pinnas por hoja y de 5 a máximo 50 pares de pínulas por pinna (10 a máximo 6000 pínulas por hoja; Figuras 4 y 5; Tabla 3). Por el contrario, en la longitud y el ancho de las pínulas se observa un incremento de estas medidas durante la transición del grupo externo al grupo mirmecófilo. Las pínulas pasaron de un área de 0.8 a 6.52 mm de largo por 0.3 a 1.28 mm de ancho, a medir de 2.64 a 16.82 mm de largo por 0.6 a 3.66 mm de ancho (Figuras 17, 18, 19 y 20; Tabla 3).

En otras palabras, las acacias mirmecófilas poseen hojas más pequeñas y una menor cantidad de pinnas por hoja y de pínulas por pinna que las especies del grupo *A. macracantha*, pero también presentan pínulas más largas y más anchas en comparación con estas especies. Este patrón de cambio no tiene precedentes en la literatura y es posible que se encuentre no sólo relacionado con el contexto abiótico, sino también con el ambiente biológico de las acacias mirmecófilas neotropicales.

En este sentido, Janzen (1966) afirmó que las acacias (en general) ostentan de 500 a 2000 pínulas por hoja, intervalo de valores que es más estrecho que el propuesto en este estudio tanto para las acacias mutualistas como para las no mutualistas. Sin embargo, este autor no reportó ninguna diferencia entre los distintos grupos de acacias en cuanto al número de pinnas y pínulas que componen una hoja.

En cambio, para la longitud y anchura de las pínulas, Janzen (1974) propuso que las hojas de las acacias mirmecófilas están conformadas, en general, por pínulas más grandes que las presentes en el resto de las especies neotropicales, pero no profundizó en los posibles orígenes de este estado de carácter.

La causa o causas de este patrón de cambio son desconocidas, pero si se sabe que estos caracteres están directamente relacionados con el hábitat en el que se desarrollan estas plantas. El género *Acacia*, en general, contiene especies de crecimiento secundario, o bien, especies de bajo crecimiento primario que se desarrollan en áreas secas. A las especies del grupo mirmecófilo, en cambio, es posible encontrarlas como poblaciones reproductivas bajo un rango más amplio de condiciones ambientales, es decir, de precipitación, temperatura, calidad del suelo y valores (así como patrones) absolutos de perturbación (Janzen, 1966).

De este modo, las especies no mirmecófilas habitan comúnmente sitios secos, mientras que, las acacias mirmecófilas son capaces de establecerse en sitios naturalmente perturbados (vegetación secundaria) de bosques caducifolios o perennifolios con una temporada seca de sólo uno a seis meses de duración y una precipitación media anual de 1.5 a 4 m, así como una temperatura media

anual de 21° a 30° C, con una variación mensual de 14° a 32° C y una temporada fría de máximo tres meses de duración (Janzen, 1966, 1974).

La habilidad de competir con la vegetación rápidamente creciente de hábitats más húmedos es un resultado directo del comportamiento de las hormigas que viven en la planta, pues al podar las enredaderas y matar las ramas intrusivas de los árboles adyacentes posicionan a la acacia en un micro hábitat altamente aislado; asimismo, dado que los meristemos de esta planta se encuentran intensamente protegidos por las hormigas carecen de la dureza estructural usual que encontramos en las especies no mirmecófilas y por lo tanto presentan una tasa de crecimiento vertical y de elongación de las ramas lo suficientemente alta (de hasta 2.5 cm por día) como para hacerla un competidor efectivo en hábitats húmedos (Janzen, 1966, 1974).

Esta relación goza de una retroalimentación positiva, pues para mantener a la colonia de hormigas las acacias deben procurar disminuir el periodo durante el cual pierden las hojas, o bien, la temporada durante la cual disminuyen su producción de estructuras foliares, y al ser capaces de localizarse en hábitats húmedos este periodo se reduce gradualmente hasta casi desaparecer, por lo que, la planta puede mantener a una colonia cada vez más grande, incrementando su ventaja competitiva, produciendo una mayor cantidad de hojas más grandes y albergando cada vez a más hormigas. De esta forma, el tamaño de la colonia de hormigas mutualistas está en función de la tasa y la naturaleza continua de la producción de hojas, ya que los domacios, nectarios extraflorales y los cuerpos de Belt son todos estructuras foliares (Janzen, 1966). Por las razones anteriores, parece que en este sistema existe una presión de selección que conduce a las acacias a habitar las áreas más húmedas posibles y evitar la pérdida de hojas (Janzen, 1966).

Sin embargo, esta elevada tasa de crecimiento no sería posible en hábitats secos y la planta no sería capaz de sostener a la colonia de hormigas debido a la pérdida de hojas durante la época de secas a pesar de los racimos de hojas pequeñas que proveen a la colonia de néctar y cuerpos Beltianos en estas circunstancias (Janzen, 1966, 1974).

A pesar de que las acacias mirmecófilas ocupan hábitats más húmedos que las otras acacias neotropicales, las primeras tienden a desaparecer cuando la precipitación anual excede los 4000 mm y la temporada seca es menor a dos meses de duración. La razón de esto se centra probablemente el número decreciente de horas de radiación solar por día conforme aumenta la precipitación y en la probable incapacidad de las acacias mirmecófilas de convertir su fisiología heliófila a una de tolerancia total a la sombra (Janzen, 1974).

De este modo, podría inferirse que el aumento en el área superficial de las pínulas (dado por el incremento en el largo y ancho de estas) durante la transición del grupo externo al grupo mirmecófilo podría estar relacionado con las condiciones de humedad preponderantes en los lugares donde estas especies habitan, condición que también es a su vez influida por la relación mutualista que dichas especies establecen con las hormigas.

Otra posible causa de este patrón de cambio en pínulas de las acacias neotropicales, podría consistir en la demanda alimenticia de las hormigas *per se*, pues el aumento en el área superficial de las pínulas podría derivar en la producción de cuerpos de Belt más grandes y por lo tanto con un mayor contenido nutricional que los de especies con pínulas más pequeñas. Sin embargo, para conocer con certeza el origen de dicho patrón de cambio en las hojas, pinnas y pínulas de las especies examinadas, es necesario conducir más estudios, con enfoques innovadores y la aplicación de diversas herramientas en este sistema mutualista.

Cabe mencionar que *A. hirtipes* y *A. globulifera* poseen pínulas cuyas dimensiones se parecen más a los estados plesiomórficos de este carácter. *A. hirtipes*, particularmente, es el producto de la hibridación entre una especie no mirmecófila -*A. pennatula*- y una mirmecófila -*A. hindsii*-. Por lo tanto, es posible que algunos de sus caracteres se asemejen más a algunos de los estados parentales (Ebinger y Seigler, 1992).

Pecíolo y nectarios extraflorales

☞ Longitud máxima de pecíolo

De acuerdo al análisis independiente de la naturaleza de las variables, *A. chiapensis*, *A. collinsii*, *A. cornigera*, *A. gentlei* y *A. globulifera* muestran pecíolos de 15 a 20 mm de largo, su único ancestro en común corresponde al nodo B y la probabilidad de ver representado este mismo carácter en él es de 0.5354, como se había mencionado en el párrafo anterior. *A. mayana* es la única especie en la que se observa un pecíolo de más de 20 mm de largo, su ancestro (quién también dio origen a todas las especies del grupo mirmecófilo exceptuando a *A. chiapensis*) tiene una probabilidad de 0.4406 de haber presentado el mismo carácter que *A. mayana*, es decir, un pecíolo de más de 20 mm de largo. Los pecíolos más largos (de 15 a 20 mm y de más de 20 mm) representan caracteres apomórficos en comparación con los más cortos (10 a 15 mm), que corresponden al carácter plesiomórfico.

A. cedilloi, *A. hindsii*, *A. hirtipes* y *A. sphaerocephala* exhiben pecíolos más cortos (10 a 15 mm) que el resto de las especies mirmecófilas, sus tallas se asemejan más a las del grupo externo, es decir al carácter plesiomórfico, por tal razón, podrían considerarse como casos de homoplasia.

En cambio, de acuerdo al análisis dependiente de la naturaleza de las variables, *A. cedilloi* presenta los pecíolos más cortos del grupo mirmecófilo, pues la longitud máxima que alcanzan se encuentra entre 10 y 12.5 mm. Dado que esta medida se asemeja más a los valores que encontramos en el grupo externo y por lo tanto corresponde al estado plesiomórfico del carácter, se le reconoce en este caso como un carácter homoplásico. El ancestro más reciente de *A. cedilloi* presenta, en comparación, pecíolos de 12.5 a 15 mm de longitud máxima. *A. hindsii*, *A. hirtipes* y *A. sphaerocephala* poseen pecíolos cuya longitud máxima varía entre 12.5 y 15 mm. En contraste, su ancestro común más reciente presenta pecíolos con una longitud máxima que se encuentra entre 17.5 y 20 mm.

A. chiapensis tiene pecíolos de 15 a 17.5 mm de longitud máxima. Su ancestro más reciente corresponde al nodo B. *A. collinsii* y *A. globulifera* muestran pecíolos cuya longitud máxima se encuentra entre 17.5 y 20 mm. Su ancestro común más reciente exhibe, en cambio, pecíolos de 15 a 17.5 mm de longitud máxima. *A. cornigera* y *A. gentlei* ostentan pecíolos de 20 a 22.5 mm de longitud máxima. A diferencia de estas especies, su ancestro común más reciente presenta pecíolos de 17.5 a 20 mm de longitud máxima. *A. mayana* goza de los pecíolos más largos de todas las especies, es decir, pecíolos de 35 a 37.5 mm de longitud máxima. En cambio, su ancestro más reciente presenta pecíolos de 22.5 a 25 mm de longitud máxima.

El estado plesiomórfico de este carácter corresponde a los pecíolos más cortos, es decir, a aquellos cuya longitud máxima varía entre 10 y 12.5 mm; mientras que, el estado apomórfico corresponde a los pecíolos con una longitud máxima que se ubica entre 12.5 y 22.5 mm. De este modo, así como en los casos anteriores, en este los resultados de ambos análisis coinciden sólo parcialmente y los alcanzados a través del segundo son más exactos que los obtenidos a través del primero.

☞ Forma de los nectarios extraflorales

De las formas derivadas es la de volcán la que está más distribuida en este grupo, mientras que, la columnar se restringe únicamente a las especies *A. cedilloi*, *A. chiapensis* y *A. hirtipes*. El ancestro de las especies que presentan la forma columnar corresponde al nodo B, por lo que, su probabilidad de poseer también nectarios columnares de 0.4731, como se mencionó con

anterioridad. Por otra parte, el ancestro de las especies que poseen nectarios en forma de volcán o canoa (que son la mayoría de las especies pertenecientes al grupo mirmecófilo) tiene una probabilidad de 0.8129 de compartir este carácter.

Debido a que los nectarios extraflorales son un carácter relacionado directamente con la mirmecofilia el cambio que podemos observar en este se asocia también con el proceso coevolutivo del que las acacias y las hormigas son participes.

☞ Número de nectarios extraflorales por pecíolo

Del grupo mirmecófilo, *A. cornigera*, *A. gentlei*, *A. mayana* y *A. sphaerocephala* poseen también el carácter plesiomórfico, es decir de 1 a raramente 2 nectarios por pecíolo y su ancestro tenía una probabilidad de 0.9718 de mostrar también este carácter. Sin embargo, el clado que contiene a las especies *A. cedilloi*, *A. collinsii*, *A. hindsii*, *A. hirtipes* y *A. globulifera* presenta de 1 a 7 nectarios extraflorales por pecíolo y su ancestro compartía esta característica con una probabilidad de 0.9476. Cabe señalar que este carácter (1 a 7 nectarios por pecíolo) se limita exclusivamente a estas especies.

Por último, *A. chiapensis* es la única especie que presenta de 4 a 14 nectarios extraflorales por pecíolo, lo que la vuelve también la única que puede tener muchos más nectarios que el resto de las especies, su ancestro corresponde al nodo B, por lo que, su probabilidad de poseer también este carácter es de 0.1173.

☞ Relación de los caracteres del pecíolo y los nectarios extraflorales con la mirmecofilia

En cuanto a la longitud máxima del pecíolo, en la mayoría de las especies se observa un incremento en esta medida durante la transición del grupo externo al grupo mirmecófilo, es decir, que de un rango de 10 a 12.5 mm las especies pasaron a poseer pecíolos de 12.5 a 22.5 mm de longitud máxima (Figura 21; Tabla 3). Asimismo, durante dicha transformación se observó un cambio tanto en el número de nectarios por pecíolo, como en la forma de estos; pues de presentar 1 a 2 nectarios, las especies pasaron a mostrar de 1 a 7 o hasta de 4 a 14, en el caso de *A. chiapensis*; y de tener nectarios circulares, las especies comenzaron a exhibir nectarios columnares (o bien, cilíndricos) y en forma de canoa (o bien, en forma de volcán; Figura 8 b y c; Tabla 3). Es posible que estas modificaciones se encuentren estrechamente relacionadas entre sí.

Los nectarios extraflorales constituyen una de las adaptaciones más importantes a la mirmecofilia, además de que han sido postulados como mediadores en las interacciones facultativas que precedieron la evolución de esta simbiosis, pues su principal función es la de proteger las estructuras vegetativas y reproductivas de la planta atrayendo a las hormigas, y son más comunes en las leguminosas con una producción continua de hojas jóvenes (McKey, 1989). Así, los nectarios foliares de las especies mirmecófilas son más grandes y tienen un flujo de néctar más denso que los de las especies no mirmecófilas, además de que las acacias mirmecófilas secretan dicha sustancia de manera constitutiva y no de forma inducida. Cabe mencionar que la expresión constitutiva de este tipo de defensas indirectas corresponde al estado apomórfico de este carácter. Se ha reportado que algunas acacias de 2 m de alto producen aproximadamente 1 cc de néctar por día, lo que se traduce en 40 mg de una mezcla de glucosa y fructosa. Este flujo es virtualmente la única fuente de azúcar de la colonia de hormigas que habita un individuo determinado (Janzen, 1966, 1974; Heil et al., 2004b).

A pesar del enorme gasto energético que su producción y mantenimiento significa, la energía invertida en ello se compensa con la protección conferida por las hormigas contra insectos depredadores y parasíticos. De esta forma, los nectarios tienden a estar más activos durante la etapa más vulnerable del desarrollo de las hojas, flores y frutos; y son más comunes en las especies con una producción continua de hojas jóvenes (Janzen, 1966).

Por ello, no sería extraño que las plantas con más nectarios extraflorales, con nectarios cuyas formas optimizan el flujo de néctar, o bien con la combinación de ambas fueran favorecidas por la selección en respuesta a las presiones impuestas por la interacción con las hormigas. De esta manera, los pecíolos más largos pudieron también haber sido favorecidos por la selección debido a su capacidad de albergar nectarios más grandes o bien una mayor cantidad de estos.

Es necesario puntualizar que de acuerdo a Janzen (1974) las diferentes formas de los nectarios podrían ser igualmente funcionales y la variación entre especies podría deberse primariamente a las diferencias interespecíficas en los picos adaptativos de los cuales derivan los diferentes genotipos.

Estípulas espinescentes

☞ **Estípulas modificadas o no modificadas**

Las estípulas espinescentes modificadas son una apomorfía del grupo mirmecófilo, todas las especies de este grupo poseen este estado de carácter, pues se encuentra directamente relacionado con la asociación simbiótica entre las acacias y las hormigas. En cambio, las especies del grupo externo poseen únicamente estípulas espinescentes no modificadas, pues no actúa sobre ellas la presión de selección ejercida por la mirmecofilia como lo hace sobre el grupo mirmecófilo. De esta forma, el carácter plesiomórfico es el de las estípulas no modificadas.

☞ **Longitud máxima de estípulas espinescentes**

De acuerdo al primer análisis ejecutado, en el grupo *A. macracantha* el estado de carácter mejor distribuido es el de menos de 50 mm y la única especie que no comparte esta característica es *A. cochliacantha*, quien posee estípulas espinescentes de 50 a 75 mm y cuyo ancestro sólo tiene una probabilidad de 0.1652 de poseer el mismo estado de carácter que su especie derivada. En contraste, en el grupo mirmecófilo el carácter mejor distribuido es el de más de 75 mm y las especies que poseen un carácter distinto a este son *A. collinsii*, *A. globulifera*, *A. hindsii* y *A. hirtipes*. Estas especies poseen estípulas de entre 50 y 75 mm de largo y su ancestro tiene una probabilidad de 0.9119 de tener estípulas espinescentes de esta misma longitud.

De acuerdo a este análisis el carácter plesiomórfico corresponde a las estípulas espinescentes más pequeñas, es decir, a las que miden menos de 50 mm y los caracteres derivados corresponden a las estípulas espinescentes de 50 a 75 mm y de más de 75 mm.

Por otro lado, de acuerdo al segundo análisis realizado, *A. collinsii* tiene las estípulas espinescentes más cortas del grupo mirmecófilo. Sus domacios fluctúan entre 46 y 55 mm de longitud máxima. Su ancestro más reciente, en contraste, poseía estípulas espinescentes de 55 a 64 mm de longitud. *A. cochliacantha*, *A. globulifera*, *A. hindsii* y *A. hirtipes* tienen estípulas espinescentes de 55 a 64 mm de longitud máxima. Su ancestro común más reciente corresponde al nodo B. Esto se debe a que *A. cochliacantha* pertenece a este último grupo. Sin embargo, el ancestro común más reciente de las especies mencionadas arriba que pertenecen al grupo mirmecófilo presentaba estípulas espinescentes de 64 a 73 mm de longitud máxima.

A. chiapensis, *A. gentlei*, *A. mayana* y *A. sphaerocephala* muestran estípulas espinescentes con una longitud máxima que se encuentra entre 73 y 82 mm. Su ancestro común más reciente

corresponde al nodo B, es decir, al ancestro común del grupo mirmecófilo y del grupo externo. *A. cedilloi* exhibe estípulas espinescentes de 82 a 91 mm de longitud máxima. Su ancestro más reciente, en contraste, tenía estípulas espinescentes con una longitud máxima de 73 a 82 mm.

Finalmente, *A. cornigera* disfruta de los domacios más largos de todas las especies consideradas en este estudio. La longitud máxima de sus estípulas espinescentes oscila entre 100 y 109 mm. Su ancestro más reciente, en comparación, ostenta estípulas espinescentes de máximo 82 a 91 mm de longitud.

El estado plesiomórfico de este carácter corresponde a las estípulas espinescentes más cortas, es decir, a las estípulas espinescentes cuya longitud máxima varía entre 10 y 19 mm; entretanto que el estado apomórfico del carácter corresponde a las estípulas espinescentes con una longitud máxima que va de 46 a 64 mm, o bien de 73 a 91 mm. De nuevo, los resultados del primer y del segundo análisis concuerdan sólo parcialmente entre sí, y los del último son más concisos que los obtenidos a través del primero.

Relación de los caracteres de las estípulas espinescentes con la mirmecofilia

Todas las especies mirmecófilas poseen estípulas espinescentes modificadas en domacios con una longitud que varía entre 46 y 64 mm, o bien, entre 73 y 91 mm. En contraste, las especies no mirmecófilas presentan estípulas espinescentes no modificadas cuya longitud varía entre 10 y 19 mm (Figura 9 y 22; Tabla 3).

Los domacios distinguen a las mirmecófitas de cualquier otra planta y corresponden a uno de los precursores evolutivos más importantes de la mirmecofilia obligatoria. En las acacias estas estructuras se encuentran dilatadas en diámetro y en longitud y persisten en el árbol de dos a cuatro años, a pesar de que después de uno o dos años no son aceptados como sitios de anidamiento por las hormigas. El volumen total de un domacio varía de 0.1 a 0.7 cc, por lo que, usualmente una acacia mirmecófila contiene de 100 a 800 cc de volumen interno, espacio donde habitan todas las larvas y una gran parte de las obreras de la colonia. La superficie externa del domacio es resistente a cambios abruptos en la temperatura e impermeable por al menos dos años, mientras que, la pared interna es absorbente y como tal regula probablemente la humedad de los domacios. Además las paredes endurecidas de los domacios protegen a las hormigas de la depredación de las aves, especialmente durante la temporada seca; mientras que, la forma espinosa de estas estructuras podría servir para posicionar a las acacias muy abajo en la lista de preferencias alimentarias de los vertebrados (Janzen, 1966; McKey, 1989). De esta manera, no es

de extrañar que las presiones de selección impuestas por la mirmecofilia hayan favorecido a aquellos genotipos que producían estípulas espinescentes modificadas en domacios capaces de mantener a una colonia lo suficientemente grande para patrullar el árbol.

Respecto a los precursores evolutivos de estas estructuras, McKey (1989) postula que relativamente pocas plantas poseen estructuras que podrían servir como protodomacios en las interacciones facultativas con las hormigas; si dichas preadaptaciones son raras, entonces la evolución de los domacios tampoco es común. Por ello, este autor sugiere que las mirmecófitas han evolucionado en algunos grupos vegetales (pero no en otros donde las interacciones facultativas hormiga-planta están igual o mayormente distribuidas) debido a que los primeros poseen caracteres morfológicos adecuados que podrían servir como preadaptaciones. De este modo, las mirmecófitas evolucionaron de plantas que ya poseían, al menos ocasionalmente, estructuras huecas que asemejaban los sitios originales donde las hormigas habitaban y anidaban. Por ejemplo, la mayoría de las especies de *Pseudomyrmex* construyen colonias pequeñas en tallos muertos y huecos, en el suelo de pastizales espesos o bosques bien desarrollados (Janzen, 1974).

Las hormigas que ocuparon estas cavidades podrían haber empezado a consumir comida de los nectarios extraflorales o de los cuerpos alimenticios, si estos estaban presentes, pero en su ausencia las hormigas pudieron haber “cultivado” homópteros en dichas cavidades. Así, los domacios condujeron a una mayor constancia en la asociación con las hormigas que los sistemas donde estas forrajeaban oportunísticamente en la planta y anidaban en algún otro lugar. Dicha constancia en la presencia de las hormigas proporcionó al sistema una protección mejorada y el ambiente selectivo idóneo para el desarrollo de la interdependencia obligada con hormigas específicas (McKey, 1989).

El origen de estas estructuras huecas en las leguminosas podría localizarse en áreas donde, en sus parientes no mirmecófilos, existe un engrosamiento local de la médula. En las acacias, la base común de las dos estípulas espinescentes robustas proveyó el área indicada para el engrosamiento local de la médula, que presumiblemente se secó y produjo una cavidad que pudo haber sido ocupada por las hormigas arborícolas. Por ello, la presencia de estípulas espinescentes largas pudo haber sido la razón de que las mirmecófitas hayan surgido dos veces en el subgénero *Acacia* y no en los otros géneros de la subfamilia Mimosoideae, tan rica en interacciones facultativas con las hormigas (McKey, 1989; Davidson y McKey, 1993).

En un plano más general, los protodomacios pudieron haber sido producidos fortuitamente en una variedad de estructuras cuya función original no estaba relacionada con la mirmecofilia, pero que derivaron en los caracteres idóneos para el desarrollo de esta; es decir que las estructuras más

importantes para la evolución de la mirmecofilia (los domacios) podrían constituir un ejemplo de exaptación. Muchos rasgos arquitectónicos de las plantas han proporcionado las preadaptaciones necesarias para la evolución de los domacios, y las interacciones facultativas con las hormigas han probablemente actuado como el agente de selección que facilitó el surgimiento de formas y tamaños alterados en estas estructuras (McKey, 1989).

6.3.3 Caracteres reproductivos

Inflorescencia

☞ Tipo de inflorescencia

Todos los elementos del grupo *A. macracantha* tienen inflorescencias en cabezuela, es decir poseen el estado plesiomórfico de este carácter, mientras que, en el grupo mirmecófilo únicamente *A. chiapensis* y *A. globulifera* lo poseen. El caso particular de *A. globulifera* representa una homoplasia.

El resto de las especies del grupo mirmecófilo, con excepción de *A. sphaerocephala*, tienen inflorescencias en forma de espiga y su ancestro muestra una probabilidad de 0.9152 de haber presentado este mismo estado de carácter. Sin embargo, (como se mencionó anteriormente) *A. sphaerocephala* es la única especie, tanto dentro del grupo mirmecófilo como dentro del grupo externo, que presenta una inflorescencia de tipo dedal y su ancestro sólo tiene una probabilidad de 0.0893 de haber mostrado también este estado de carácter.

El tipo de inflorescencia ancestral corresponde a la inflorescencia en cabezuela, mientras que, las formas de espiga y dedal son una apomorfía del grupo mirmecófilo.

☞ Diámetro máximo de inflorescencia

De acuerdo al análisis independiente de la naturaleza de las variables, los diámetros mayores a 5 mm son considerados como el estado plesiomórfico de este carácter. Este estado, de más de 5 mm de diámetro, se encuentra presente en casi todas las especies estudiadas, con excepción de *A. collinsii*, *A. gentlei* y *A. hirtipes* las cuales poseen inflorescencias con diámetros de 0.1 a 5 mm. El ancestro inmediato de *A. gentlei* tiene una probabilidad 0.3607 de haber presentado también este carácter, mientras que, en el ancestro de *A. collinsii* y *A. hirtipes* dicha probabilidad se eleva

0.6035. En cambio, el ancestro común de las tres especies sólo tiene una probabilidad de 0.2089 de presentar este estado de carácter.

Por otra parte, no se encontró ningún reporte del diámetro de las inflorescencias de *A. cedilloi* y en los ejemplares depositados en el Herbario Nacional de México (MEXU) no se observa ninguna inflorescencia, por ende, no fue posible ubicar este carácter y rastrear su forma ancestral.

En cambio, de acuerdo al análisis dependiente de la naturaleza de las variables, es difícil distinguir entre el estado plesiomórfico y el apomórfico. Es posible que el estado ancestral corresponda a las inflorescencias de mayores diámetros, es decir, a aquellas cuyos diámetros van de 10.3 a 13.9 mm; mientras que, el estado derivado corresponda a las inflorescencias de menores diámetros, es decir, a aquellas con diámetros de entre 4 y 10.3 mm.

A. collinsii y *A. gentlei* poseen las inflorescencias con diámetros más pequeños de todas las especies estudiadas. Sus inflorescencias varían de 4 a 4.9 mm de diámetro. Su ancestro común más reciente exhibía, en cambio, inflorescencias de 7.6 a 8.5 mm. *A. hindsii* tiene inflorescencias con un diámetro máximo de entre 5.8 y 6.7 mm. Su ancestro más reciente mostraba inflorescencias de máximo 6.7 a 7.6 mm de diámetro. *A. sphaerocephala*, al igual que su ancestro más reciente, tiene inflorescencias de 6.7 a 7.6 mm de diámetro máximo.

A. cochliacantha, en comparación con sus congéneres en el grupo externo, presenta inflorescencias con diámetros máximos que oscilan entre 7.6 y 8.5 mm. Las tallas de las inflorescencias de su ancestro más cercano se parecen más a los valores encontrados en el grupo externo, es decir, varían de 10.3 a 11.2 mm.

A. cornigera y *A. hirtipes* muestran inflorescencias de 8.5 a 9.4 mm de diámetro máximo; mientras que, las inflorescencias de su ancestro común más reciente fluctúan entre 7.6 y 8.5 mm de diámetro máximo. En contraste, *A. globulifera* y *A. mayana*, al igual que su ancestro común más reciente, ostentan inflorescencias con un diámetro máximo de 9.4 a 10.3 mm.

Finalmente, en *A. chiapensis* se encuentran las inflorescencias más grandes del grupo mirmecófilo, pues el diámetro máximo de estas oscila entre 11.2 y 12.1 mm. Su ancestro más reciente corresponde al nodo B, es decir, al ancestro común del grupo mirmecófilo y del grupo *A. macracantha*.

Dado que se desconoce el diámetro máximo de inflorescencia de *A. cedilloi*, no es posible reconstruir el estado de carácter de su ancestro más reciente, ancestro que comparte con *A. collinsii*, *A. globulifera*, *A. hindsii* y *A. hirtipes*. En este caso, los resultados del primer y del segundo

análisis no concuerdan entre sí, y de hecho los correspondientes al segundo son mucho más certeros que los del primero.

☞ Relación de los caracteres de las inflorescencias con la mirmecofilia

En este análisis se percibió un cambio en la forma y el diámetro de las inflorescencias durante la transición del grupo externo al grupo mirmecófilo, pasando de estructuras en forma de cabezuela con un diámetro que varía de 10.3 a 13.9 mm a estructuras en forma de espiga y de dedal con un diámetro variable entre 4 y 10.3 mm (Figuras 10 y 23; Tabla 3). No existen reportes anteriores de este cambio y no es posible asegurar que esté relacionado con la mirmecofilia.

Todas las acacias mirmecófilas producen grandes cantidades de inflorescencias cilíndricas y elongadas, o bien, esféricas, que son polinizadas por abejas poco específicas y cuyo periodo de floración empieza en algún momento de los primeros dos meses de la temporada de secas, alargándose de cuatro a ocho semanas. Este periodo corresponde a la época de actividad más baja de las hormigas, lo que probablemente reduce la interferencia de estas en la labor de las abejas (Janzen, 1966 y 1974).

Los polinizadores generalmente se mueven sobre la superficie de las inflorescencias recogiendo el polen con sus apéndices y aunque no existe evidencia alguna de producción de néctar, la mayoría de las abejas (Megachilidae, Halictidae, *Trigona*, *Ceratina*) son persistentes, por lo que, cuando las hormigas las expulsan de una flor, recurren inmediatamente a otra. De esta forma, la agresividad de las hormigas probablemente promueve la exogamia, al forzar a las abejas a visitar distintos árboles (Janzen, 1966 y 1974).

A pesar de estas observaciones, en la mayoría de los sistemas mutualistas entre mirmecófitas y hormigas existe un conflicto de intereses entre ambos componentes, especialmente durante el periodo de floración. Las hormigas tienden a robar néctar, ahuyentar a los polinizadores, reducir la viabilidad del polen o incluso podar las estructuras reproductivas de sus huéspedes, actividades que impactan negativamente en la adecuación de la planta (McDade y Kinsman, 1980; Normant, 1988; Buys, 1990; Yu y Pierce, 1998; Galen, 1999; Stanton et al., 1999; Yu, 2001).

En respuesta a este fenómeno, algunas especies de plantas han desarrollado una variedad de mecanismos morfológicos, fisiológicos o bioquímicos, que reducen el costo de la presencia de las hormigas para la reproducción de la planta. Un ejemplo de estos mecanismos se encuentra en *A. constricta*, especie que ha desarrollado dos estrategias para separar tanto espacial como

temporalmente a las hormigas que la visitan de los polinizadores (Raine et al., 2002; Nicklen y Wagner, 2006).

En el caso específico de las acacias mirmecófilas neotropicales se necesita llevar a cabo un análisis más profundo para definir tanto si existe una relación alométrica entre el cambio en la forma y en el diámetro de las inflorescencias, como si hay alguna asociación entre la modificación en dichos caracteres y la mirmecofilia.

Frutos

☞ Forma del fruto

Los tres estados de carácter (frutos teretes o cilíndricos casi teretes, frutos comprimidos a ligeramente cilíndricos y frutos aplanados) se encuentran casi homogéneamente distribuidos en el árbol filogenético estudiado, por lo que, no es posible obtener una conclusión precisa acerca de cuál de estos corresponde al carácter plesiomórfico y cual al carácter apomórfico.

☞ Dehiscencia del fruto

Todos los elementos del grupo *A. macracantha* poseen frutos indehiscentes, mientras que, en el grupo mirmecófilo únicamente *A. cedilloi*, *A. cornigera*, *A. mayana* y *A. sphaerocephala* presentan este carácter plesiomórfico. El resto de las especies de este grupo, es decir, *A. chiapensis*, *A. collinsii*, *A. gentlei*, *A. globulifera*, *A. hindsii* y *A. hirtipes* poseen frutos dehiscentes. El ancestro de *A. chiapensis* es el nodo B, por lo que, su probabilidad de poseer frutos dehiscentes es de 0.5002, mientras que, el ancestro *A. gentlei* tiene una probabilidad de 0.4531 de haberlos presentado. Finalmente, el ancestro del clado integrado por *A. collinsii*, *A. globulifera*, *A. hindsii* y *A. hirtipes* tiene una probabilidad de 0.8384 de poseer este carácter apomórfico.

☞ Relación de los caracteres de los frutos con la mirmecofilia

Nuestro análisis reveló que durante la transición del grupo *A. macracantha* al grupo mirmecófilo, estas estructuras pasaron de ser indehiscentes a ser dehiscentes (Figura 11; Tabla 3). Al igual que en los cambios que sufren las inflorescencias, no existen reportes anteriores acerca de esta modificación y de su posible conexión (o desconexión) con la mirmecofilia.

Después de la temporada seca, aquellas inflorescencias que resultan polinizadas son retenidas con sus vainas pequeñas e inmaduras a lo largo de la siguiente temporada de lluvias, creciendo y madurando durante varios meses antes de la siguiente temporada de floración. Por ello, las plantas deben vivir de seis a nueve meses después de la producción de flores para que las semillas puedan contribuir a la población. Para madurar, las acacias necesitarán de la producción de energía que la temporada de lluvias les proporciona (Janzen, 1966 y 1974).

Las semillas se encuentran embebidas en una pulpa o arilo dulce, cuyo color puede variar de blanco a amarillo; ambos se encierran dentro de una vaina indehisciente o dehiscente. En todas las especies, excepto en *A. cornigera*, *A. sphaerocephala* y *A. mayana* la vaina se abre para exponer la pulpa cuando madura. La apertura de la vaina en su madurez refleja la facilidad con la que las aves pueden acceder a las frutas y/o semillas, así como al área debajo de una acacia ocupada, en contraste con los mamíferos, quienes son más molestados por las hormigas (Janzen, 1966 y 1974).

Las acacias mirmecófilas son poco comunes entre las acacias neotropicales ya que sus semillas son dispersadas por aves, que se comen ya sea la vaina completa o sólo el racimo de semillas embebidas en el arilo. Las hormigas generalmente atacan a las aves dispersoras, pero estas se mueven tan rápido que los insectos mutualistas no alcanzan a ahuyentarlas. Todas las acacias mirmecófilas tienen semillas duras que pasan por el tracto intestinal intactas y son escarificadas en el proceso digestivo. Las dispersoras más efectivas son las aves que habitan comúnmente en lugares dominados por vegetación secundaria (por ejemplo *Psilorhinus mexicanus*), ya que tienden a tirar la semillas en el mismo tipo de hábitat en el que las recogieron, lo que favorece su germinación. De no ser por la dispersión por aves, no habría sobrevivencia neta de las semillas, pues los escarabajos de la subfamilia Bruchinae matan aproximadamente al 90% de las semillas que permanecen en el árbol al ovipositar en ellas (Janzen, 1966 y 1974).

Es necesario explorar más profundamente el patrón de cambio de este atributo, ya que se encuentra bajo la influencia no sólo tal vez del sistema mutualista, si no de al menos otras dos relaciones interespecíficas distintas: el mutualismo acacia-ave dispersora y el antagonismo acacia-escarabajo.

6.3.4 Caracteres bioquímicos

Metabolitos secundarios

El carácter plesiomórfico corresponde a la presencia de S-proacacipetalina como metabolito de defensa contra la herbivoría y el carácter apomórfico parece ser la ausencia de cianogénicos en la defensa de la planta.

Todas las especies del grupo *A. macracantha*, con excepción de *A. pennatula*, poseen la molécula de S-proacacipetalina como defensa bioquímica, en cambio, en el grupo mirmecófilo sólo *A. chiapensis*, la posee. En este último grupo *A. collinsii*, *A. cornigera*, *A. gentlei*, *A. mayana* y *A. sphaerocephala* no poseen cianogénicos como defensa bioquímica y su ancestro tiene una probabilidad de 0.8155 de no haber presentado cianogénicos, como sus especies derivadas.

A. globulifera es la única especie en la que encontramos R-epiproacacipetalina y su ancestro sólo tiene una probabilidad de 0.1907 de haber mostrado también este carácter. No se encontraron registros de la presencia o calidad de los metabolitos secundarios de las especies *A. cedilloi*, *A. hindsii* y *A. hirtipes* por lo que, no fue posible ubicarlos en el árbol filogenético y rastrear su estado ancestral.

La presencia de metabolitos secundarios es un carácter relacionado con la mirmecofilia, pues con la defensa que las hormigas prestan a la planta la presencia de defensas bioquímicas resultaría en una estrategia de defensa redundante y por lo tanto en un gasto energético innecesario. Por ello, el cambio en este carácter se encuentra asociado a la relación simbiótica entre las acacias y las hormigas.

A pesar de que se desconoce el estado de este carácter en las especies *A. cedilloi*, *A. hirtipes* y *A. hindsii*, la mayoría de las acacias mirmecófilas carecen de cianoglucósidos para combatir la herbivoría (Figura 12; Tabla 3), ya que la protección conferida por las hormigas resulta suficiente para ahuyentar a los insectos fitófagos (Janzen, 1966, 1974).

A. chiapensis es la única especie del grupo mirmecófilo en la que encontramos S-proacacipetalina, esto puede atribuirse a que *A. chiapensis* es la especie basal del grupo mirmecófilo y que, como se mencionó anteriormente, es capaz de sobrevivir en ausencia de hormigas mutualistas, aunque en su hábitat natural siempre está asociada con ellas (Rehr et al., 1973). *A. globulifera*, por otro lado, presenta el cianoglucósido R-epiproacacipetalina, aunque algunos individuos podrían carecer de la enzima capaz de hidrolizarlo (Seigler y Ebinger, 1987, 1995).

En este sentido, en algún momento se llegó a considerar que las plantas mirmecófilas carecían totalmente de defensas químicas (Rehr et al., 1973), sin embargo se ha comprobado que dichas plantas retienen al menos algunas de ellas (Heil et al., 2002), y que la expresión de las defensas químicas y del néctar extrafloral no está correlacionadas en al menos una tribu vegetal (Gossypieae, Malvaceae; Rudgers et al., 2004). La expresión constitutiva de dichas defensas podría facilitar la transición fuera del mutualismo (Bronstein et al., 2006).

6.4 Paleoambientes del Mioceno Superior y del Plioceno Inferior

Los cambios descritos anteriormente pudieron también haber sido influidos por el contexto paleoambiental en el que se desarrollaron. Por ello, a continuación se describirá dicho entorno y se discutirá la forma en la que pudo haber intervenido sobre la evolución de los caracteres en las acacias mirmecófilas neotropicales.

El ancestro común del grupo mirmecófilo y del grupo externo (nodo A) pudo haber existido hace aproximadamente 7.02 ± 1.95 millones de años, es decir, a finales del Mioceno; mientras que, el ancestro de grupo mirmecófilo (nodo B) pudo haberlo hecho hace aproximadamente 5.44 ± 1.93 millones de años, es decir, en el límite entre el Mioceno y el Plioceno (Gómez, 2010; Gómez-Acevedo et al., 2010).

Actualmente, las acacias neotropicales se distribuyen en áreas húmedas o secas dominadas por vegetación natural y perturbada de selvas tropicales, extendiéndose a lo largo de México, Centroamérica y el norte de Sudamérica (Seigler y Ebinger, 1988). Por otra parte, a pesar de que las acacias mirmecófilas también se distribuyen en hábitats dominados por vegetación natural y perturbada, se localizan más comúnmente en estadios primarios y secundarios de la sucesión de selvas deciduos o perennifolios con 2 a 5 m de precipitación anual, extendiéndose desde las costas del centro de México hasta el noroeste de Colombia y cubriendo únicamente países pertenecientes a Centroamérica. Cabe destacar que su principal zona de diversificación es México (Janzen, 1974; Pedley, 1986; Rico-Arce, 2003). De este modo, el contexto paleoambiental en el que nos centraremos será el Mioceno Superior y el Plioceno Inferior, así como la frontera entre estos estratos, de México, Centroamérica y el norte de Sudamérica.

Para empezar, es necesario considerar que los ecosistemas neotropicales continentales que existieron durante estas épocas ya estaban desarrollándose desde el Cretácico, el Paleógeno y el

Neógeno Temprano, así como durante los cambios que dichas épocas trajeron consigo. En este sentido, se ha propuesto que versiones primitivas y versiones esencialmente modernas de los ecosistemas neotropicales actuales se generaron a consecuencia de distintos procesos que tuvieron lugar durante el Cretácico y el Cenozoico. Una primera aproximación sugiere que las comunidades acuáticas aparecieron durante el Cretácico Medio al Tardío, mientras que, los bosques lluviosos de tierras bajas neotropicales lo hicieron hace 64 millones de años. Por otra parte versiones modernas de matorrales/chaparrales, sabanas y pastizales surgieron en el Mioceno Medio (hace aproximadamente 15 a 13 millones de años), mientras que, los desiertos lo hicieron a finales del Mioceno e inicios del Plioceno (hace aproximadamente 10 millones de años). La tundra se manifestó hace cerca de 7 a 5 millones de años y el páramo un poco después (Graham, 2011).

Cabe mencionar que durante el Eoceno Medio y el Mioceno Temprano ya había versiones primitivas de matorrales/chaparrales y sabanas, compuestas de géneros como *Acacia*, *Arctostaphylos*, *Berberis*, *Bursera*, *Caesalpinia* y *Juniperus*. Es posible que algunos de estos elementos hayan llegado de otros continentes, a través de rutas distintas y en tiempos también dispares. Por ejemplo, un grupo proveniente de África y Gondwana que probablemente entró al continente americano por el norte, incluye a *Acacia*, *Beilschmiedia*, *Bursera*, *Caesalpinia*, *Cassia*, *Cedrela*, *Chrysophyllum*, *Dalbergia*, *Diospyros*, *Ficus*, *Lonchocarpus*, *Nectandra*, *Ocotea*, *Oreopanax*, *Persea*, *Sabal*, *Sapindus*, *Sapium*, *Sterculia* y *Terminalia* (Graham, 2011; Burnham y Graham, 1999).

Las características únicas que presenta la vegetación neotropical, se deben a tres factores principales: el aislamiento geográfico de su porción meridional durante la mayor parte de los últimos 90 millones años, el levantamiento subsecuente de los Andes (que empezó hace aproximadamente 12.9 millones de años, en el Mioceno Tardío) y las interacciones entre los elementos provenientes del norte y del sur, provocada por la formación del puente terrestre de Panamá. Cabe destacar que los grupos más exitosos de plantas que migraron del sur al norte mostraron una gran diversificación en los hábitats más secos y estacionales de Centroamérica. Un ejemplo de esto son los árboles y arbustos de los bosques tropicales de México y Centroamérica (Burnham y Graham, 1999).

La evidencia paleobotánica y paleomastozoológica indica que a lo largo del Cenozoico predominaron los bosques tropicales, con áreas limitadas de sabanas y pastizales desarrollándose durante el Mioceno Tardío. Localmente, se empezaron a desarrollar hábitats más secos con vegetación más abierta durante el Mioceno Tardío y el Plioceno Temprano, destacando el primero como la época más importante para el desarrollo y diversificación de comunidades secas. Las

floras de inicio del Cenozoico provenientes del sur de Centroamérica contienen pocos elementos de hábitats secos; sin embargo, para el límite entre el Mioceno y el Plioceno dichos elementos se multiplicaron incluyendo a 11 taxa (*Poaceae*, *Acacia*, *Allophylus*, *Bursera*, *Cedrela*, *Ceiba*, *Combretum*, *Jatropha*, *Posoqueria* y *Pseudobombax*) que señalan colectivamente una forma anticipada de bosque tropical seco (Graham, 2011; Burnham y Graham, 1999).

Algo que caracteriza al límite Mioceno-Plioceno, ubicado entre 8 y 6 millones de años en el pasado, es que durante este periodo hubo un incremento global en la biomasa de las plantas que usaban la vía C4 de la fotosíntesis. Este cambio pudo estar relacionado con una caída en las concentraciones de CO₂ atmosférico, el aumento de la temperatura global y la aridificación de una gran parte de la porción continental que venían desarrollándose desde inicios del Paleógeno. Es probable que esto haya ocurrido primero en las latitudes más bajas, debido al clima preponderantemente cálido de dichas latitudes (Cerling et al., 1997).

Otro factor que influyó en el clima, especialmente a lo largo de las líneas costeras es la emergencia de aguas frías y profundas a la superficie marina, causada por la intensificación del flujo de la corriente del Golfo durante el establecimiento del puente terrestre de Panamá. Esta podría ser una explicación de los climas más fríos durante un intervalo de calentamiento global (Burnham y Graham, 1999). Todos estos cambios produjeron, periódicamente, condiciones locales apropiadas para el intercambio de biotas templadas provenientes de hábitats abiertos a finales del Neógeno en Centroamérica (Burnham y Graham, 1999).

En el caso particular de México, durante el Paleógeno y Neógeno, la tierra firme se extendía continuamente desde el sur de la República Mexicana hasta las zonas templadas de Norteamérica. Una flora de angiospermas parecida a la del resto de los trópicos, evolucionó durante la última mitad del Cretácico en Sudamérica y después dio lugar a muchas más especies en los trópicos americanos, incluyendo México. A fines del Cretácico existía la posibilidad de un intercambio florístico entre Sudamérica y Norteamérica, a través de una serie de islas de las Protoantillas (Gentry, 1982). Durante el Cenozoico hubo algunas conexiones temporales con las Antillas, aunque en ningún momento existió un puente terrestre continuo que conectara a México con Sudamérica a través de una masa terrestre antillana. Es evidente que las migraciones se presentaron tanto de norte a sur, como en el sentido contrario. Debido a lo anterior, el sur de México se localizaba en la confluencia de dos grandes rutas de migración, que funcionaron durante la mayor parte del Paleógeno y del Neógeno (González-Medrano, 1998).

De esta forma, durante el Cenozoico, México tuvo la oportunidad de acceder a zonas de aportación biótica más extensas durante periodos temporales amplios, lo cual enriqueció con elementos tanto

templados como tropicales las comunidades bióticas que se desarrollaron in situ, tanto en la Sierra Madre Oriental, el Eje Volcánico Transversal y otros conjuntos montañosos, desde el Cretácico Superior y hasta el Paleoceno (González-Medrano, 1998).

6.5 Influencia del paleoambiente sobre la evolución de los caracteres mirmecofílicos

El levantamiento de los Andes y el consecuente cambio en los patrones de drenaje, así como la formación del puente terrestre de Panamá (ambos eventos ocurridos hace aproximadamente 15 a 13 millones de años) provocaron una continua segregación del paisaje y las biotas en poblaciones regionalmente aisladas, así como la aparición de hábitats locales más fríos. Estas condiciones locales se desarrollaron durante un intervalo temporal caracterizado por: el aumento significativo de la temperatura global, condiciones mundialmente áridas y una considerable disminución en la concentración atmosférica de CO₂; circunstancias ambientales que tuvieron lugar hace aproximadamente 8 a 6 millones de años (Burnham y Graham, 1999; Coates et al., 1992; Graham, 1997).

El surgimiento de climas globalmente secos y cálidos, pero localmente templados; así como de hábitats fragmentados y con vegetación abierta resultó en la aparición de ecosistemas como matorrales/chaparrales, sabanas y pastizales con algunas zonas dominadas por bosques tropicales secos. Dichos biomas se desarrollaron durante el Mioceno Tardío y el Plioceno Temprano, y se formaron y enriquecieron con especies provenientes de otras regiones, como África y Sudamérica (Burnham y Graham, 1999; Graham, 2011).

Es en estas preponderantemente cálido-húmedas, aunque limitadas, áreas donde los caracteres vegetales que facilitan la mirmecofilia pudieron haberse desarrollado. Es decir, las condiciones cálido-húmedas del ambiente pudieron haber favorecido la evolución de caracteres como: una producción aumentada y continua de hojas y la retención de estas por la mayoría de los individuos, una elevada tasa de crecimiento horizontal y vertical, y el desarrollo de pínulas generalmente más grandes; garantizando, de este modo, un flujo constante de alimento (a través de los cuerpos de Belt y los nectarios extraflorales) y la provisión permanente de sitios de anidamiento ideales (domacios) para la colonia de hormigas. Cabe mencionar que dichos caracteres evolucionaron no solo partir del contexto paleoambiental, sino que más bien lo hicieron debido a la presión de selección que dichos insectos imponen sobre ellas, y las circunstancias paleoambientales simplemente favorecieron el desarrollo de caracteres que facilitaron esta asociación.

De esta forma, favorecidas tanto por las restringidas condiciones de humedad, como por la retroalimentación positiva que existe entre dichas condiciones y la mirmecofilia, las relaciones oportunistas y/o antagonistas entre las acacias y las hormigas se transformaron progresivamente en relaciones obligatorias; y la presión de selección que la interacción con las hormigas ejercía sobre las acacias promovió la evolución de los caracteres altamente especializados que distinguen al sistema mutualista *Acacia - Pseudomyrmex*.

La distribución actual de las acacias mirmecófilas neotropicales es una de las evidencias que podría sustentar esta observación, pues a diferencia de las especies no mirmecófilas, las primeras no son capaces de sobrevivir en ambientes secos. La fragmentación del paisaje pudo también haber participado en la evolución de los caracteres mirmecofílicos, pues la segregación de biotas en poblaciones regionalmente aisladas pudo resultar tanto en procesos de especiación alopátrica, como en una interacción más constante y estrecha entre las acacias y las hormigas, al disminuir el área de distribución de ambos participantes. En este sentido, Ward (1993) señaló el grupo *Pseudomyrmex ferrugineus* ha experimentado un proceso de especiación en respuesta al aislamiento geográfico al que se ha sometido a lo largo de su historia evolutiva.

7. Conclusiones

La reconstrucción basada en el análisis de máxima parsimonia es congruente con la obtenida a través del análisis de máxima verosimilitud, sin embargo, los resultados alcanzados a través del segundo método son más claros que los del primero. Cuando se integra la naturaleza de las variables en el análisis se obtienen resultados más precisos.

El ancestro común del grupo mirmecófilo y del grupo *A. macracantha* probablemente presentaba estados de carácter intermedios entre ambos grupos; no obstante, algunos de dichos estados, tal como la altura máxima, la forma de los nectarios extraflorales y la dehiscencia del fruto, se asemejaban más a los presentes en el grupo externo.

En la transición del grupo externo al grupo mirmecófilo: los rangos de distribución altitudinal se contrajeron, las hojas se alargaron en un primer paso y luego se hicieron más pequeñas en comparación con su tamaño original, la cantidad de pares de pinnas por hoja y de pínulas por pinna disminuyeron, la longitud y el ancho de las pínulas aumentaron, la longitud máxima de pecíolo incrementó, la cantidad de nectarios extraflorales por pecíolo también creció y la forma de los nectarios cambió de circulares a columnares (o cilíndricos) y en forma de canoa (o volcán), las estípulas espinescentes se modificaron en domacios y crecieron en longitud, y finalmente las especies perdieron los cianoglucósidos contra la herbivoría. De esta forma, la presión de selección que la mirmecofilia ejerce sobre las especies interactuantes se refleja en un conjunto sistemático de sus atributos.

Las inflorescencias cambiaron de poseer una forma en cabezuela a una forma de espiga y dedal, el diámetro de estas estructuras decreció y los frutos se volvieron dehiscentes. Sin embargo, se desconoce si los cambios en estos caracteres se relacionan directamente con la mirmecofilia, ya que también se encuentran influidos por otras relaciones interespecíficas.

Las características que identifican a las acacias mirmecófilas neotropicales se manifestaron y desarrollaron después de que los linajes de este y del grupo *A. macracantha* divergieran, es decir, hace aproximadamente 5.44 millones de años, a finales del Mioceno.

Los caracteres vegetales que facilitaron la mirmecofilia en el sistema mutualista *Acacia* - *Pseudomyrmex*, pudieron haber evolucionado al verse favorecidos por las limitadas condiciones cálido-húmedas que predominaban en los antiguos ambientes neotropicales.

8. Perspectivas

Este estudio se enriquecería mucho si se exploraran todos los posibles resultados que otros modelos evolutivos asumidos tanto en el método de máxima parsimonia como en el de máxima verosimilitud podrían producir en la reconstrucción de los estados de carácter ancestrales.

Por otra parte, una gran cantidad de preguntas pueden surgir acerca del patrón en el número y tamaño de hojas, pinnas y pínulas aquí encontrado, como por ejemplo: ¿estará dicho patrón relacionado con las restricciones del desarrollo de las especies mirmecófilas o se tratará de un cambio adaptativo?, ¿será el área superficial total de las hojas igual o diferente entre el grupo mirmecófilo y el grupo externo?, si se trata de un cambio adaptativo, ¿qué factor o fuerza lo estará guiando?, ¿estará relacionada la disminución en la longitud de hoja con el área de patrullaje que una colonia puede cubrir?, ¿lo estará con el área que los nectarios extraflorales pueden llegar a ocupar en el raquis?, ¿estará vinculado el aumento en el área superficial de las pínulas con el contenido de cuerpos Beltianos que cada una de estas puede soportar?

Para contestar estas preguntas es necesario tener presente que los caracteres en un organismo se encuentran siempre interrelacionados de formas muy distintas, por lo que, la modularidad y la integración fenotípica son factores a los que es necesario prestar mucha atención.

Un carácter por el que se debería tener un interés particular son los cuerpos de Belt, pues las acacias mirmecófilas neotropicales son las únicas especies que los presentan y no se conocen ni las posibles preadaptaciones a partir de las cuales pudieron haber surgido, ni las trayectorias evolutivas o del desarrollo que dichos caracteres pudieron haber seguido.

De la misma forma, es necesario realizar un análisis más profundo de caracteres como la forma y el diámetro de la inflorescencia y la dehiscencia del fruto, así como su posible conexión o desconexión con la mirmecofilia.

Otra línea de investigación que podría arrojar resultados interesantes, podrían ser estudios de la optimización de los caracteres, de la integración fenotípica, de la modificación del morfoespacio, y de la caracterización de los paisajes adaptativos y del régimen selectivo.

Finalmente, para completar estos esfuerzos es necesario también considerar la perspectiva de la contraparte de este mutualismo, es decir, la de las hormigas y estudiar la evolución de los caracteres en estas especies a través de aproximaciones similares a las utilizadas para el estudio de las acacias.

9. Literatura citada

- Beattie, A. J. 1989. Myrmecotrophy: plants fed by ants. *Trends in Ecology and Evolution*, 4: 172-176.
- Bell, C. D., D. E. Soltis, P. S. Soltis. 2010. The age and diversification of the angiosperms revisited. *American Journal of Botany*, 97: 1296-1303.
- Brady, S. G., T. R. Schultz, B. L. Fisher, P. S. Ward. 2006. Evaluating alternative hypotheses for early evolution and diversification of ants. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, 103: 18172-18177.
- Bronstein, J. L. 1994. Our current understanding of mutualism. *The Quarterly Review of Biology*, 69: 31-51.
- Bronstein, J. L., R. Alarcon, M. Geber. 2006. The evolution of plant-insect mutualisms. *New Phytologist*, 172: 412-428.
- Buono, R. A., A. B. de Oliveira, E. A. Sousa Paiva. 2008. Anatomy, ultrastructure and chemical composition of food bodies of *Hovenia dulcis* (Rhamnaceae). *Annals of Botany*, 101: 1341-1348.
- Burnham, R. J., A. Graham. 1999. The history of neotropical vegetation: new developments and status. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 86 (2): 546-589.
- Buys, B. 1990. Relationship between argentine ants and honeybees in South Africa. En: Vander Meer, R. K., K. Jaffe, A. Cedeno (Eds.), *Applied myrmecology, a world perspective* (pp. 519-524). Westview, Boulder.
- Cerling, T. E., J. M. Harris, B. J. MacFadden, M. G. Leakey, J. Quade, V. Eisenmann, J. R. Ehleringer. 1997. Global vegetation change through the Miocene/Pliocene boundary. *Nature*, 389: 153-158.
- Chenuil, A., D. McKey. 1996. Molecular phylogenetic study of a myrmecophyte symbiosis: did *Leonardoxa*/ant associations diversify via cospeciation? *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 6 (2): 270-286.
- Chomicki, G., S. S. Renner. 2015. Phylogenetics and molecular clocks reveal the repeated evolution of ant-plants after the late Miocene in Africa and the early Miocene in Australasia and the Neotropics. *New Phytologist*, 207: 411-424.

- Chomicki, G., P. S. Ward, S. S. Renner. 2015. Macroevolutionary assembly of ant/plant symbioses: Pseudomyrmex ants and their ant-housing plants in the Neotropics. *Proceedings of the Royal Society Series B*, 282.
- Clarke, H. D., S. R. Downie, D. S. Seigler. 2000. Implications of chloroplast DNA restriction site variation for systematics of *Acacia* (Fabaceae: Mimosoideae). *Systematic Botany*, 25: 618-632.
- Clarke, H. D., S. D. Seigler. 1991. The systematics of *Acacia* series *Gummiferae* in the Caribbean. *American Journal of Botany*, 78: 173-174.
- Clarke, H. D., D. S. Seigler, J. E. Ebinger. 1989. *Acacia farnesiana* (Fabaceae: Mimosoideae) and related species from Mexico, the southwestern U.S. and the Caribbean. *Systematic Botany*, 14: 549-564.
- Clarke, H. D., D. S. Seigler, J. E. Ebinger. 1990. *Acacia constricta* (Fabaceae: Mimosoideae) and related species from the southwestern U.S. and Mexico. *American Journal of Botany*, 77 (3): 305-315.
- Clarke, H. D., D. S. Seigler, J. E. Ebinger. 2009. Taxonomic revision of the *Vachellia acuífera* species group (Fabaceae: Mimosoideae) in the Caribbean. *Systematic Botany*, 34: 84-101.
- Coates, A. G., J. B. C. Jackson, L. S. Collins, T. M. Cronin, H. J. Dowsett, L. M. Bybell, P. Jung, J. A. Obando. 1992. Closure of the Isthmus of Panama: the near-shore marine record of Costa Rica and western Panama. *Geological Society of America Bulletin*, 104: 814-828.
- Coddington, J. 1988. Cladistic tests of adaptational hypotheses. *Cladistics*, 4: 3-22.
- Collins, A., B. Speer, B. Waggoner, R. Guralnick, C. Whitney. 2009. UCMP Glossary: Phylogenetics. University of California. Recuperado el 11 de enero de 2017, de http://www.ucmp.berkeley.edu/glossary/glossary_1.html.
- Collins, T. M., P. H. Wimberger, G. J. P. Naylor. 1994. Compositional bias, character-state bias and character-state reconstruction using Parsimony. *Systematic Biology*, 43 (4): 482-496.
- Cunha, A. F., G. N. Genzano, A. C. Marques. 2015. Reassessment of morphological diagnostic characters and species boundaries requires taxonomical changes for the genus *Orthopyxis* L. *Agassiz, 1862* (Campanulariidae, Hydrozoa) and some related campanulariids. *PLOS ONE*, 10 (2).

- Cunningham, C. W., K. E. Omland, T. H. Oakley. 1998. Reconstructing ancestral character states: a critical reappraisal. *TREE*, 13 (9): 361-366.
- Davidson, D. W., D. McKey. 1993. The evolutionary ecology of symbiotic ant-plant relationships. *Journal of Hymenopteral Research*, 2: 13-83.
- Davies, S. J., P. A. Palmiotto, P. S. Ashton, H. S. Lee, J. V. LaFrankie. 1998. Comparative ecology of 11 sympatric species of *Macaranga* in Borneo: tree distribution in relation to horizontal and vertical resource heterogeneity. *Journal of Ecology*, 86: 662-673.
- de Oliveira, L. L., L. S. Calazans, E. de Morais, S. J. Mayo, C. G. Schrago, C. M. Sakuragui. 2014. Floral evolution of *Philodendron* subgenus *Meconostigma* (Araceae). *PLOS ONE*, 9 (2).
- Donogue, M.J. 1989. Phylogenies and the analysis of evolutionary sequences, with examples from seed plants. *Evolution*, 43: 1137-1156.
- Dunn, R. R., A. D. Gove, T. G. Barraclough, T. J. Givnish, J. D. Majer. 2007. Convergent evolution of an ant-plant mutualism across plant families, continents, and time. *Evolutionary Ecology Research*, 9: 1349-1362.
- Dutra, H. P., A. V. L. Freitas, P. S. Oliveira. 2006. Dual ant attraction in the neotropical shrub *Urera baccifera* (Urticaceae): the role of ant visitation to pearl bodies and fruits in herbivore deterrence and leaf longevity. *Functional Ecology*, 20: 252-260.
- Ebinger, J. E., D. S. Seigler. 1992. Ant-acacia hybrids of Mexico and Central America. *The Southwestern Naturalist*, 37: 408-414.
- Elias, T. S. 1983. Extrafloral nectaries: their structure and distribution. En: Bentley, B., T. Elias (Eds.), *The biology of nectaries* (pp. 174-203). New York: Columbia University Press.
- Endo, Y. 2012. Characterization and systematic implications of the diversity in timing of programmed cell death of the suspensors in Leguminosae. *American Journal of Botany*, 99 (8): 1399-1407.
- Felsenstein, J. 1982. Numerical methods for inferring evolutionary trees. *The Quarterly Review of Biology*, 57: 379-404.
- Ferguson, B. G., D. H. Boucher, C. R. Maribel Pizzi. 1995. Recruitment and decay of a pulse of *Cecropia* in Nicaraguan rain forest damaged by hurricane Joan: relation to mutualism with *Azteca* ants. *Biotropica*, 27: 455-460.

- Fiala, B., U. Maschwitz. 1992a. Domatia as most important adaptations in the evolution of myrmecophytes in the paleotropical tree genus *Macaranga* (Euphorbiaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 180: 53-64.
- Fiala, B., U. Maschwitz. 1992b. Food bodies and their significance for obligate ant-association in the tree genus *Macaranga* (Euphorbiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 110: 61-75.
- Fiala, B., A. Jacob, U. Maschwitz, K. E. Linsenmair. 1999. Diversity, evolutionary specialization and geographic distribution of a mutualistic ant-plant complex *Macaranga* and *Crematogaster* in South East Asia. *Biological Journal of the Linnean Society*, 66: 305-331.
- Finarelli, J. A., J. J. Flynn. 2006. Ancestral state reconstruction of body size in the *Caniformia* (Carnivora, Mammalia): the effects of incorporating data from the fossil record. *Systematic Biology*, 55 (2): 301-313.
- Fischer, R. C., W. Wanek, A. Richter, V. Mayer. 2003. Do ants feed plants? A ¹⁵N labelling study of nitrogen fluxes from ants to plants in the mutualism of *Pheidole* and *Piper*. *Journal of Ecology*, 91: 126-134.
- Fitch, W. M. 1971. Toward defining the course of evolution: minimum change for a specific tree topology. *Systematic Zoology*, 20: 406-416.
- Folgarait, P. J., D. W. Davidson. 1994. Antiherbivore defenses of myrmecophytic *Cecropia* under different light regimes. *Oikos*, 71: 305-320.
- Fonseca, C. R., G. Ganade. 1996. Asymmetries, compartments and null interactions in an Amazonian ant-plant community. *Journal of Animal Ecology*, 65: 339-347.
- Freudenstein, J. V. 2005. Characters, states and homology. *Systematic Biology*, 54 (6): 965-973.
- Friis, E. M., P. R. Crane, K. R. Pedersen. 2011. *Early flowers and angiosperm evolution*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Frumhoff, P. C, H. K. Reeve. 1994. Using phylogenies to test hypotheses of adaptation: a critique of some current proposals. *Evolution*, 48: 172-180.
- Galen, C. 1999. Flowers and enemies: predation by nectar-thieving ants in relation to variation in floral form of an alpine wildflower, *Polemonium viscosum*. *Oikos*, 85: 426-434.

- Garland, T., P. E. Midford, A. R. Ives. 1999. An introduction to phylogenetically based statistical methods, with a new method for confidence intervals on ancestral values. *American Zoologist*, 39: 374-388.
- Gegenbauer, C., V. E. Mayer, G. Zotz, A. Richter. 2012. Uptake of ant-derived nitrogen in the myrmecophytic orchid *Caularthron bilamellatum*. *Annals of Botany*, 110: 757-765.
- Gentry, A. H. 1982 Neotropical floristic diversity: phytogeographical connections between Central and South America: Pleistocene climatic fluctuations or an accident of the Andean orogeny? *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 69: 557-593.
- Giladi, I. 2006. Choosing benefits or partners: a review of the evidence for the evolution of myrmecochory. *Oikos*, 112: 481-492.
- Givnish, T. J., J. C. Pires, S. W. Graham, M. A. McPherson, L. M. Prince, T. B. Patterson, H. S. Rai, E. H. Roalson, T. M. Evans, W. J. Hahn, K. C. Millan, A. W. Meerow, M. Molvray, P. J. Kores, H. E. O'Brien, J. C. Hall, W. J. Kress, K. J. Sytsma. 2005. Repeated evolution of net venation and fleshy fruits among monocots in shaded habitats confirms a priori predictions: evidence from an *ndhF* phylogeny. *Proceedings of the Royal Society B, Biological Sciences*, 272 (1571): 1481-1490.
- Gómez, S., 2010. Estudio comparativo de las tasas de diversificación de los subgéneros neotropicales de *Acacia* (Leguminosae: Mimosoideae) en México. Tesis de doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Gómez-Acevedo, S., L. Rico-Arce, A. Delgado-Salinas, S. Magallón, L. Eguiarte. 2010. Neotropical mutualism between *Acacia* and *Pseudomyrmex*: phylogeny and divergence times. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56: 393-408.
- González-Medrano, F. 1998. La vegetación de México y su historia. *Ciencias*, 52: 58-65.
- Graham, A. 1997. Neotropical plant dynamics during the Cenozoic-Diversification, and the Ordering of Evolutionary and Speciation Processes. *Systematic Botany*, 22: 139-150.
- Graham, A. 2011. The age and diversification of terrestrial New World ecosystems through Cretaceous and Cenozoic time. *American Journal of Botany*, 98 (3): 336-351.
- Grimaldi, D., M. S. Engel. 2005. *Evolution of the insects*. New York, USA: Cambridge University Press.

- Guinet, P., J. Vassal. 1978. Hypotheses on the differentiation of the major groups in the genus *Acacia* (Leguminosae). *Kew Bulletin*, 32: 509-527.
- Harvey, P. H., M.D. Pagel. 1991. *The comparative method in evolutionary biology*. Oxford, UK: Oxford University Press.
- Heil, M. 2007. Indirect defence - recent developments and open questions. En: Lüttge, U., W. Beyschlag, J. Murata. (Eds.), *Progress in Botany* (pp. 360-395). Berlin, Germany: Springer.
- Heil, M. 2008. Indirect defence via tritrophic interactions. *New Phytologist*, 178: 41-61.
- Heil, M., B. Baumann, R. Krüger, E. Linsenmair. 2004a. Main nutrient compounds in food bodies of Mexican *Acacia* ant-plants. *Chemoecology*, 14: 45-52.
- Heil, M., D. McKey. 2003. Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 34: 425-453.
- Heil, M., D. Orona-Tamayo, S. Eilmus, S. Kautz, M. González-Teuber. 2010. Chemical communication and coevolution in an ant-plant mutualism. *Chemoecology*, 20: 63-74.
- Heil, M., J. Rattke, W. Bland. 2005. Post-secretory hydrolysis of nectar sucrose and specialization in ant-plant mutualism. *Science*, 308: 560-563.
- Heil, M., S. Greiner, H. Meimberg, R. Krüger, J. L. Noyer, G. Heubl, K. E. Linsenmair, W. Boland. 2004b. Evolutionary change from induced to constitutive expression of an indirect plant resistance. *Nature*, 430: 205-208.
- Heil, M., T. Delsinne, A. S. Hilpert Schurkens, C. Andary, K. E. Linsenmair, M. S. Sousa, D. McKey. 2002. Reduced chemical defence in ant-plants? A critical re-evaluation of a widely accepted hypothesis. *Oikos*, 99: 457-468.
- Holmquist, R. 1979. The method of parsimony: an experimental test and theoretical analysis of the adequacy of molecular restoration studies. *Journal of Molecular Biology*, 135: 939-958.
- Horn, J. W., J. B. Fisher, P. B. Tomlinson, C. E. Lewis, K. Laubengayer. 2009. Evolution of lamina anatomy in the palm family (Arecaceae). *American Journal of Botany*, 96 (8): 1462-1486.
- Howe, H. F., L. C. Westley. 1989. *Ecological relationships of plants and animals*. New York, USA: Oxford University Press.

- Janzen, D. H. 1966. Coevolution of mutualism between ants and acacias in Central America. *International Journal of Organic Evolution*, 20 (3): 249-275.
- Janzen, D. H. 1967. Interaction of the bull's-horn acacia (*Acacia cornigera* L.) with an ant inhabitant (*Pseudomyrmex ferruginea* F. Smith) in eastern Mexico. *University of Kansas Science Bulletin*, 47: 315-558.
- Janzen, D. H. 1969. Birds and the ant x acacia interaction in Central America, with notes on birds and other myrmecophytes. *Condor*, 71: 240-256.
- Janzen, D. H., 1974. Swollen-thorn acacias of Central America. *Smithsonian Contributions to Botany*, 13: 1-131.
- Jolivet, P. 1996. *Ants and plants: an example of coevolution*. Leiden, the Netherlands: Backhuys.
- Jolivet, P. 1998. *Interrelationships between insects and plants*. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press.
- Lee, Y. S., S. D. Seigler, J. E. Ebinger. 1989. *Acacia rigidula* (Fabaceae) and related species in Mexico and Texas. *Systematic Botany*, 14: 91-100.
- Lengyel, S., A. D. Gove, A. M. Latimer, J. D. Majer, R. R. Dunn. 2009. Ants show the seeds of global diversification in flowering plants. *PLOS ONE*, 4 (5).
- Lewis, G. P., B. Schrire, B. Mackinder, M. Lock. 2005. *Legumes of the World*. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Maddison, W. P. 1995. Calculating the probability distributions of ancestral states reconstructed by parsimony on phylogenetic trees. *Systematic Biology*, 44: 474-481.
- Maddison, W. P., D. R. Maddison. 1992. MacClade version 3: Analysis of phylogeny and character evolution. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.
- Maddison, W. P., D. R. Maddison. 2015. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.04 <http://mesquiteproject.org>.
- Magallón, S., K. W. Hilu, D. Quandt. 2013. Land plant evolutionary timeline: gene effects are secondary to fossil constraints in relaxed clock estimation of age and substitution rates. *American Journal of Botany*, 100: 556-573.

- Mayer, V. E., M. E. Frederickson, D. McKey, R. Blatrix. 2014. Current issues in the evolutionary ecology of ant-plant symbioses. *New Phytologist*, 202: 749-764.
- McDade, L. A., S. Kinsman. 1980. The impact of floral parasitism in two neotropical hummingbird pollinated plant species. *Evolution*, 34: 944-958.
- McKey, D. 1989. Interactions between ants and leguminous plants. En: Stirton, C. H., J. L. Zarucchi, (Eds.), *Advances in Legume Biology* vol. 29 (pp. 673-718). St. Louis, Missouri: Monograph in Systematic Botany of the Missouri Botanical Garden.
- McKey, D., D. W. Davidson. 1993. Ant-plant symbioses in Africa and the Neotropics: history, biogeography and diversity. En: Goldblatt, P. (Ed.), *Biological relationships between Africa and South America* (pp. 568-606). New Haven, Connecticut: Yale University Press.
- Miller, J. T., R. J. Bayer. 2003. Molecular phylogenetics of *Acacia* subgenera *Acacia* and *Aculeiferum* (Fabaceae: Mimosoideae), based on the chloroplast *matK* coding sequence and flanking *trnK* intron spacer regions. *Australian Systematic Botany*, 16: 27-33.
- Mooers, A. O., M. Vamosi, D. Schluter. 1999. Using phylogenies to test macroevolutionary hypotheses of trait evolution in cranes (Gruinae). *American Naturalist*, 154: 249-259.
- Morawetz, W., M. Henzl, B. Wallnöfer. 1992. Tree killing by herbicide producing ants for the establishment of pure *Tococa occidentalis* populations in the Peruvian Amazon. *Biodiversity and Conservation*, 1: 19-33.
- Moreau, C. S., C. D. Bell. 2013. Testing the “museum versus cradle” tropical biological diversity hypothesis: phylogeny, diversification, and ancestral biogeographic range evolution of the ants. *Evolution*, 67: 2240-2257.
- Moreau, C. S., C. D. Bell, R. Vila, S. B. Archibald, N. E. Pierce. 2006. Phylogeny of the ants: diversification in the age of angiosperms. *Science*, 312: 101-104.
- Nei, M., S. Kumar. 2000. *Molecular evolution and phylogenetics*. New York, USA: Oxford University Press.
- Nepokroeff, M., K. J. Sytsma, W. L. Wagner, E. A. Zimmer. 2003. Reconstructing ancestral patterns of colonization and dispersal in the Hawaiian understory tree genus *Psychotria* (Rubiaceae): a comparison of parsimony and likelihood approaches. *Systematic Biology*, 52 (6): 820-838.

- Nicklen, E. F., D. Wagner. 2006. Conflict resolution in an ant-plant interaction: *Acacia constricta* traits reduce ant cost to reproduction. *Oecologia*, 148: 81-87.
- Normant, C. J. 1988. The effect of nectar-thieving ants on the reproductive success of *Frasera speciosa* (Gentianaceae). *American Midland Naturalist*, 120: 331-336.
- Nürk, N. M., S. Madriñán, M. A. Carine, M. W. Chase, F. R. Blattner. 2013. Molecular phylogenetics and morphological evolution of St. John's wort (*Hypericum*; Hypericaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 66: 1-16.
- Oakley, T. H., C. W. Cunningham. 2000. Independent contrasts succeed where ancestor reconstruction fails in a known bacteriophage phylogeny. *Evolution*, 54: 397-405.
- O'Dowd, D. J. 1980. Pearl bodies of a neotropical tree, *Ochroma pyramidale*: ecological implications. *American Journal of Botany*, 67: 543-549.
- O'Dowd, D. J. 1982. Pearl bodies as ant food: an ecological role for some leaf emergences of tropical plants. *Biotropica*, 14: 40-49.
- Omland, K. E. 1999. The assumptions and challenges of ancestral state reconstructions. *Systematic Biology*, 48 (3): 604-611.
- Pagel, M. 1994. Detecting correlated evolution on phylogenies: a general method for the comparative analysis of discrete characters. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, 255: 37-45.
- Pagel, M. 1998. Inferring evolutionary processes from phylogenies. *Zoologica Scripta*, 26: 331-348.
- Pagel, M. 1999a. Inferring the historical patterns of biological evolution. *Nature*, 401: 877-884.
- Pagel, M. 1999b. The maximum likelihood approach to reconstructing ancestral character states of discrete characters on phylogenies. *Systematic Biology*, 48: 612-622.
- Pagel, M., A. Meade, D. Barker. 2004. Bayesian estimation of ancestral character states on phylogenies. *Systematic Biology*, 53 (5): 673-684.
- Pagel, M., F. Lutzoni. 2002. Accounting for phylogenetic uncertainty in comparative studies of evolution and adaptation. En: Lässig, M., A. Valleriani (Eds.), *Biological evolution and statistical physics* (pp. 148-161). Berlin, Germany: Springer.

- Paiva, E. A. S., R. A. Buono, J. A. Lombardi. 2009. Food bodies in *Cissus verticillata* (Vitaceae): ontogenesis, structure and functional aspects. *Annals of Botany*, 103: 517-524.
- Pedley, L. 1986. Derivation and dispersal of *Acacia* (Leguminosae), with particular reference to Australia, and the recognition of *Senegalia* and *Racosperma*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 92: 219-254.
- Pemberton, R. W. 1992. Fossil extrafloral nectaries, evidence for the ant-guard antiherbivore defense in an Oligocene *Populus*. *American Journal of Botany*, 79: 1242-1246.
- Raine, N. E., P. Willmer, G. Stone. 2002. Spatial structuring and floral avoidance behavior prevent ant-pollinator conflict in a Mexican ant-acacia. *Ecology*, 83: 3086-3096.
- Rehr, S. S., P. P. Feeny, D. H. Janzen. 1973. Chemical defense in Central American non-ant Acacias. *Journal of Animal Ecology*, 42: 405-416.
- Revell, L. J. 2013. Ancestral character estimation under the threshold model from quantitative genetics. *Evolution*, 68 (3): 743-759.
- Ricklefs, R. E. 2007. Estimating diversification rates from phylogenetic information. *Trends in Ecology and Evolution*, 22 (11): 601-610.
- Rico-Arce, M. L. 2001. El género *Acacia* (Leguminosae, Mimosoideae) en el estado de Oaxaca, México. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 58 (2): 251-302.
- Rico-Arce, M. L. 2003. Geographical patterns in neotropical *Acacia* (Leguminosae: Mimosoideae). *Australian Systematic Botany*, 16 (1): 41-48.
- Rico-Arce, M. L. 2007. *A checklist and synopsis of American species of Acacia (Leguminosae: Mimosoideae)*. México: CONABIO.
- Rico-Gray, V., P. S. Oliveira. 2007. *The ecology and evolution of ant-plant interactions*. Chicago, Illinois, USA: The University of Chicago Press.
- Ronquist, F. 2004. Bayesian inference of character evolution. *Trends in Ecology and Evolution*, 19 (9): 475-481.
- Royer-Carenzi, M., P. Pontarotti, G. Didier. 2013. Choosing the best ancestral character state reconstruction method. *Mathematical Biosciences*, 242: 95-109.

- Rudgers, J. A., S. Y. Strauss, J. E. Wendel. 2004. Trade-offs among anti-herbivore resistance traits: insights from *Gossypieae* (Malvaceae). *American Journal of Botany*, 91: 871-880.
- Sagers, C. L., S. M. Ginger, R. D. Evans. 2000. Carbon and nitrogen isotopes trace nutrient exchange in an ant-plant mutualism. *Oecologia*, 123 (4): 582-586.
- Saitou, N. 1989. A theoretical study of the underestimation of branch lengths by the maximum parsimony principle. *Systematic Zoology*, 38: 1-6.
- Salisbury, B. A., J. H. Kim. 2001. Ancestral state estimation and taxon sampling density. *Systematic Biology*, 50: 557-564.
- Schäffer, S., S. Koblmüller, T. Pfingstl, C. Sturmbauer, G. Krisper. 2010. Ancestral state reconstruction reveals multiple independent evolution of diagnostic morphological characters in the "Higher Oribatida" (Acari), conflicting with current classification schemes. *BMC Evolutionary Biology*, 10.
- Schluter, D., T. Price, A. O. Mooers, D. Ludwig. 1997. Likelihood of ancestor states in adaptive radiation. *Evolution*, 51: 1699-1711.
- Schultz, T. R., R. B. Cocroft, G. A. Churchill. 1996. The reconstruction of ancestral character states. *Evolution*, 50 (2): 504-511.
- Schupp, E. W., D. H. Feener. 1990. Phylogeny, life form and habitat dependence of ant-defended plants in a Panamanian forest. En: Huxley, C. R., D. F. Cutler (Eds.), *Ant-plant interactions* (pp. 250-259). New York, USA: Oxford Science Publications.
- Seigler, D. S., J. E. Ebinger. 1987. Cyanogenic glycosides in ant-acacias of Mexico and Central America. *Southwestern Naturalist*, 32: 499-503.
- Seigler, D. S., J. E. Ebinger. 1988. *Acacia macracantha*, *A. pennatula*, and *A. cochliacantha* (Fabaceae: Mimosoideae) species complexes in Mexico. *Systematic Botany*, 13: 7-15.
- Seigler, D. S., J. E. Ebinger. 1995. Taxonomic revisión of the ant-acacias (Fabaceae, Mimosoideae, *Acacia*, *Series Gummiferae*) of the New World. *Annals of Missouri Botanical Garden*, 82: 117-138.
- Simpson, M. G. 2010. *Plant Systematics* (2^o ed.). Massachusetts: Academic Press.
- Skinner, A. 2010. Rate heterogeneity, ancestral character state reconstruction, and the evolution of limb morphology in *Lerista* (Scincidae, Squamata). *Systematic Biology*, 59 (6): 723-740.

- Solano, P. J., M. Belin-Depoux, A. Dejean. 2005. Formation and structure of food bodies in *Cordia nodosa* (Boraginaceae). *Comptes Rendus Biologies*, 328: 642-647.
- Soltis, D. E., M. E. Mort, M. Latvis, E. V. Mavrodiev, B. C. O'Meara, P. S. Soltis, J. G. Burleigh, R. Rubio de Casas. 2013. Phylogenetic relationships and character evolution analysis of Saxifragales using a supermatrix approach. *American Journal of Botany*, 100 (5): 916-929.
- Stadler, B., T. Dixon. 2008. *Mutualism: ants and their insect partners*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Stanton, M. L., T. M. Palmer, T. P. Young. 2005. Ecological barriers to early colony establishment in three coexisting acacia-ant species in Kenya. *Insectes Sociaux*, 52: 393-401.
- Stanton, M. L., T. M. Palmer, T. P. Young, A. Evans, M. L. Turner. 1999. Sterilization and canopy modification of a swollen thorn acacia by a plant-ant. *Nature*, 401: 578-580.
- Tateno, Y. 1990. A method for molecular phylogeny construction by direct use of nucleotide sequence data. *Journal of Molecular Evolution*, 30: 85-93.
- Treseder, K., D. W. Davidson, J. R. Ehleringer. 1995. Absorption of ant-provided carbon dioxide and nitrogen by a tropical epiphyte. *Nature*, 375: 137-139.
- Tripp, E. A., P. S. Manos. 2008. Is floral specialization an evolutionary dead-end? Pollination system transitions in *Ruellia* (Acanthaceae). *Evolution*, 62 (7): 1712-1737.
- Vanderpoorten, A., B. Goffinet. 2006. Mapping uncertainty and phylogenetic uncertainty in ancestral character state reconstruction: an example in the moss genus *Brachytheciastrum*. *Systematic Biology*, 55 (6): 957-971.
- Ward, P. S. 1991. Phylogenetic analysis of Pseudomyrmecine ants associated with domatia-bearing plants. En: Huxley, C. R., D. F. Cutler (Eds.), *Ant-Plant Interactions* (pp. 335-352). Oxford, UK: Oxford University Press.
- Ward, P. S. 1993. Systematic studies on *Pseudomyrmex* acacia-ants (Hymenoptera: Formicidae: Pseudomyrmecinae). *Journal of Hymenopteral Research*, 2: 117-168.
- Webber, B. L., B. A. Abaloz, I. E. Woodrow. 2007a. Myrmecophilic food body production in the understorey tree, *Ryparosa kurrangii* (Achariaceae), a rare Australian rainforest taxon. *New Phytologist*, 173: 250-263.

- Webber, B. L., J. Moog, A. S. O. Curtis, I. E. Woodrow. 2007b. The diversity of ant-plant interactions in the rainforest understory tree, *Ryparosa* (Achariaceae): food bodies, domatia, prostomata, and hemipteran trophobionts. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 154: 353-371.
- Weber, M. G., A. A. Agrawal. 2014. Defense mutualisms enhance plant diversification. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 111: 16442-16447.
- Weber, M. G., K. H. Keeler. 2013. The phylogenetic distribution of extrafloral nectaries in plants. *Annals of Botany*, 111: 1251-1261.
- Webster, N. B., T. J. M. Van Dooren, M. Schilthuizen. 2012. Phylogenetic reconstruction and shell evolution of the Diplommatinidae (Gastropoda: Caenogastropoda). *Molecular Phylogenetic Evolution*, 63 (3): 625-638.
- Whitmore, T. C. 1967. Studies in *Macaranga*, an easy genus of Malayan wayside trees. *Malayan Nature Journal*, 20: 89-99.
- Wiley, E. O., B. S. Lieberman. 2011. *Phylogenetics: the theory of phylogenetic systematics* (2^o ed.). New Jersey, USA: Wiley-Blackwell.
- Wood, H. M., C. E. Griswold, G. S. Spicer. 2007. Phylogenetic relationships within an endemic group of Malagasy “assassin spiders” (Araneae, Archaeidae): ancestral character reconstruction, convergent evolution and biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 45: 612-619.
- Wu, Z. Y., R. I. Milne, C. J. Chen, J. Liu, H. Wang, D. Z. Li. 2015. Ancestral state reconstruction reveals rampant homoplasy of diagnostic morphological characters in Urticaceae, conflicting with current classification schemes. *PLOS ONE*, 10 (11).
- Young, T. P., C. H. Stubblefield, L. Isbell. 1997. Ants on swollen-thorn acacias: species coexistence in a simple system. *Oecologia*, 109: 98-107.
- Yu, D. W. 2001. Parasites of mutualisms. *Biological Journal of the Linnean Society*, 72: 529-546.
- Yu, D. W., N. E. Pierce. 1998. A castration parasite of an ant-plant mutualism. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, 265: 375-382.