



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

# LICENCIATURA EN ECOLOGÍA

Escuela Nacional de Estudios Superiores,  
Unidad Morelia

Filogeografía y genética poblacional de  
hormigas del género *Philidris*

# TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADA EN ECOLOGÍA

P R E S E N T A

DANIELA SARAHÍ ACOSTA ZAMORA

DIRECTOR DE TESIS: DR. MILAN JANDA

MORELIA, MICHOACÁN, MÉXICO

JUNIO, 2023



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

# LICENCIATURA EN ECOLOGÍA

Escuela Nacional de Estudios Superiores,  
Unidad Morelia

Filogeografía y genética poblacional de  
hormigas del género *Philidris*

# TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADA EN ECOLOGÍA

P R E S E N T A

DANIELA SARAHÍ ACOSTA ZAMORA

DIRECTOR DE TESIS: DR. MILAN JANDA

MORELIA, MICHOACÁN, MÉXICO

JUNIO, 2023



ESCUELA  
NACIONAL  
de ESTUDIOS  
SUPERIORES  
**EN**  
UNIDAD MORELIA

**10**  
años  
(2011-2021)

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD MORELIA  
SECRETARÍA GENERAL  
SERVICIOS ESCOLARES

**MTRA. IVONNE RAMÍREZ WENCE**

DIRECTORA

DIRECCIÓN GENERAL DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR

**P R E S E N T E**

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la **sesión ordinaria 04** del **Comité Académico** de la **Licenciatura en Ecología** de la Escuela Nacional de Estudios Superiores (ENES), Unidad Morelia, celebrada el día **24 de abril de 2023**, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para la presentación del Trabajo Profesional de la alumna **Daniela Sarahí Acosta Zamora** de la Licenciatura en **Ecología**, con número de cuenta **419127792**, con el trabajo titulado: **"Filogeografía y genética poblacional de hormigas del género *Philidris*"**, bajo la dirección como tutor del **Dr. Milan Janda**.

El jurado queda integrado de la siguiente manera:

<b>Presidente:</b>	Dr. Antonio González Rodríguez
<b>Vocal:</b>	Dr. Hernando Alonso Rodríguez Correa
<b>Secretario:</b>	Dr. Milan Janda
<b>Suplente:</b>	Dra. Yesenia Margarita Vega Sánchez
<b>Suplente:</b>	Dr. Edson Jacob Cristóbal Pérez

Sin otro particular, quedo de usted.

A t e n t a m e n t e  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Morelia, Michoacán a 27 de junio de 2023.

**DRA. YUNUEN TAPIA TORRES**  
SECRETARIA GENERAL

---

**CAMPUS MORELIA**

Antigua Carretera a Pátzcuaro N° 8701, Col. Ex Hacienda de San José de la Huerta  
58190, Morelia, Michoacán, México. Tel: (443)689.3500 y (55)5623.7300, Extensión Red UNAM: 80614  
[www.enesmorelia.unam.mx](http://www.enesmorelia.unam.mx)

## **AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES**

Agradezco a mi asesor de tesis, el Dr. Milan Janda, quien desarrolló el trabajo de muestreo e hizo posible la realización de este proyecto, por guiarme y apoyarme durante la elaboración de la tesis.

Agradezco a los miembros del jurado, al Dr. Jacob Cristóbal Pérez, al Dr. Hernando Rodríguez Correa, a la Dra. Yesenia Vega Sánchez y al Dr. Antonio González Rodríguez por todo su apoyo.

Agradezco a la Licenciatura en Ecología y a todos los profesores que participaron en los cursos durante mi estancia en la licenciatura, por compartirnos sus conocimientos, guiarnos y motivarnos para aprender y superarnos.

De igual manera agradezco a la ENES Morelia, a la UNAM y a LANASE, por brindarme la oportunidad de estudiar la Licenciatura en Ecología y ser un espacio de aprendizaje y desarrollo para todos los estudiantes.

## **AGRADECIMIENTOS PERSONALES**

A mis padres y mis hermanas por su amor, apoyo y confianza incondicional, que me brindaron el soporte para seguir mis sueños, por no desesperarse durante mis episodios de estrés y siempre reconfortarme emocionalmente.

A mis perritas por siempre dar alegría y paz a mis días y sacarme a pasear para relajarme.

A mi abuelita Marisol, mis tíos y primos por todo su apoyo, cariño y ánimos.

A mi abuelita Ime, mi abuelito Crisóforo y Luisita que se marcharon recientemente, pero me dejaron muchos aprendizajes y memorias inolvidables, y también a mis demás familiares que se encuentra en el más allá, porque sé que están conmigo en todo momento.

A mis amigos por acompañarme durante este camino y por todo el soporte emocional, los ánimos y buenos deseos que me brindan.

A todos mis compañeros de la Licenciatura en Ecología y de la ENES que me han acompañado y que hicieron mis días en la ENES más bonitos.

A Oscar que me enseñó a realizar varios de los análisis de mi tesis y que me ayudaba cuando me atoraba en algo. A mis demás compañeros del laboratorio que mediante los seminarios me dejaron muchos aprendizajes.

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	<b>1</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>2</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>3</b>
Estudios de la filogeografía .....	3
Diversidad ecológica de las hormigas (Hymenoptera: Formicidae) ...	4
Ecología de la Subfamilia Dolichoderinae .....	5
Taxonomía y biología del género <i>Philidris</i> .....	5
Historia biogeográfica de la región Indo-Australiana .....	9
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	<b>11</b>
<b>OBJETIVOS PARTICULARES</b> .....	<b>11</b>
<b>PREDICCIONES</b> .....	<b>11</b>
<b>METODOLOGÍA</b> .....	<b>12</b>
Colecta de especímenes .....	12
Extracción de ADN y amplificación de marcadores moleculares .....	13
Análisis de delimitación de especies .....	14
Análisis filogenéticos y biogeográficos .....	14
Análisis de estructura genética poblacional .....	15
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>16</b>
Delimitación de especies .....	16
Reconstrucción filogenética .....	17
Reconstrucción biogeográfica .....	20
Diversidad y estructura genética poblacional .....	21
<i>Philidris</i> sp 5 .....	21
<i>Philidris</i> sp. 8 .....	25
<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>29</b>

Delimitación de especies .....	29
Reconstrucción filogenética y biogeográfica .....	32
Diversidad y estructura genética poblacional .....	35
Estructura poblacional de <i>Philidris</i> sp. 5 .....	35
Estructura poblacional de <i>Philidris</i> sp. 8 .....	37
<b>DESAFÍOS Y PERSPECTIVAS FUTURAS .....</b>	<b>41</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>43</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>45</b>
<b>TABLAS SUPLEMENTARIAS .....</b>	<b>57</b>
<b>FIGURAS SUPLEMENTARIAS .....</b>	<b>64</b>



## RESUMEN

El género *Philidris* Shattuck, 1992 (Formicidae: Dolichoderinae) comprende nueve especies de hormigas que habitan en la región Indo-Australiana. Algunas especies de este género mantienen una interacción mutualista con plantas epífitas de las familias Rubiaceae, Apocynaceae y algunas otras. Los estudios de la interacción se han centrado en la ecología y evolución de las plantas; lo que representa sólo una aproximación, ya que se desconocen aspectos de la taxonomía, sistemática, evolución y ecología de las hormigas. El objeto del estudio fue realizar un análisis filogeográfico de especies de hormigas indo-australianas del género *Philidris* y comparar la genética poblacional de especies selectas con base en marcadores moleculares. Se realizó un análisis de delimitación de especies, basado en cinco marcadores moleculares y cinco algoritmos de delimitación de especies. Para analizar la historia filogeográfica se realizaron reconstrucciones filogenéticas y una reconstrucción biogeográfica. Se utilizó el marcador citocromo oxidasa (COI) para evaluar la estructura genética poblacional de las dos especies seleccionadas *Philidris* sp. 5 y *Philidris* sp. 8. El análisis de delimitación de especies estimó entre 10 y 14 MOTUs. Las reconstrucciones filogenéticas recuperaron al género *Philidris* como monofilético, con el género *Ochetellus* como grupo hermano. Dentro del género, *Philidris* sp.1 distribuida en Australia se registró como especie hermana de *Philidris nagasau* + el resto. La reconstrucción biogeográfica estimó el origen del género en Nueva Guinea y Australia y eventos posteriores de dispersión hacia diferentes regiones. La especie *Philidris* sp. 5 mostró una ligera estructuración genética, probablemente por una barrera geográfica. La especie *Philidris* sp. 8 reveló una fuerte estructuración genética impulsada por la distancia geográfica. Se realizó una reconstrucción filogenética con los datos moleculares más completos del género *Philidris* hasta la fecha y es el primer estudio en describir patrones genéticos de poblaciones de especies en este género. Este estudio sienta las bases para futuras investigaciones que podrían centrarse en la revisión taxonómica detallada del género, así como el estudio de la interacción y coevolución con las plantas, siendo un modelo de estudio potencialmente relevante en interacciones, comportamiento y coevolución.

## ABSTRACT

The genus *Philidris* Shattuck, 1992 (Formicidae: Dolichoderinae) comprises a group of nine species of ants that inhabit the Indo-Australian region. Some species of this genus keep a mutualistic interaction with epiphytic plants of the families Rubiaceae, Apocynaceae and some others. Studies of the interactions have focused on the ecology and evolution of plants, which represents only an approximation since aspects of the ants' taxonomy, systematics, evolution and ecology are unknown. The purpose of the study was to perform a phylogeographic analysis of Indo-Australian ants species of the genus *Philidris* and to compare the population genetics of selected species based on molecular markers. A species delimitation analysis was performed, based on five molecular markers and five species delimitation algorithms. Phylogenetic and biogeographic reconstructions were carried out to analyze the phylogeographic history. The cytochrome oxidase (COI) marker was used to assess the population genetic structure of the two selected species *Philidris* sp. 5 and *Philidris* sp. 8. The species delimitation analysis estimated between 10 and 14 Molecular Operational Taxonomic Units (MOTU). Phylogenetic reconstructions recovered the monophyletic genus *Philidris*, with the genus *Ochetellus* as a sister group. Within the genus, *Philidris* sp.1 distributed in Australia was recorded as sister species of *Philidris nagasau* + the rest. The biogeographic reconstruction estimated the origin of the genus in New Guinea and Australia and subsequent dispersal events to different regions. The species *Philidris* sp. 5 showed a slight genetic structure, probably due to a geographic barrier. The species *Philidris* sp. 8 revealed a strong distance-driven genetic structure. A phylogenetic reconstruction was carried out with the most complete molecular data to date for the *Philidris* genus. This is the first study to describe the population genetic patterns of species in the genus. This study lays the foundations for future research that could focus on a detailed taxonomic review of the genus, as well as the study of interaction and coevolution with plants, being a potentially relevant study model in interactions, behavior, and coevolution.

## **INTRODUCCIÓN Y MARCO TEÓRICO**

### **Estudios de filogeografía**

Comprender cómo los eventos históricos han ayudado a dar forma a las distribuciones geográficas actuales de la diversidad genética, las poblaciones y especies es el principal objetivo de la filogeografía (Eguiarte et al., 2007; Freeland et al., 2011). Al comparar las relaciones evolutivas de los linajes genéticos con sus ubicaciones geográficas, podemos comprender mejor qué factores han tenido mayor influencia en las distribuciones de la variación genética; por lo tanto, la filogeografía abarca aspectos tanto del tiempo (relaciones evolutivas) como del espacio (distribuciones geográficas) (Eguiarte et al., 2007; Freeland et al., 2011). Para el análisis e interpretación de las distribuciones de los linajes se requiere la contribución teórica y metodológica de diversos campos como la genética de poblaciones, genética molecular, demografía, etología, ecología, sistemática filogenética, paleontología, geología y geografía histórica (Eguiarte et al., 2007).

Bajo neutralidad, en una población y a lo largo de las generaciones, surgen nuevos alelos por mutación y se pierden otros por deriva génica, de tal forma que todos los alelos de un gen derivan de, o coalescen hacia, un único alelo ancestral (Eguiarte et al., 2007; Freeland et al., 2011). La posterior propagación de cada nuevo alelo estará influenciada por los patrones de dispersión, el tamaño poblacional, la selección natural y otros procesos que pueden deducirse de las distribuciones geográficas y frecuencias contemporáneas de estos alelos; es posible hacer estas deducciones si entendemos qué tan atrás en la historia debemos mirar para identificar cuando diferentes alelos compartieron su ancestro común más reciente (MRCA) (Freeland et al., 2011). La teoría de coalescencia describe las relaciones históricas entre linajes de genes y, actualmente, es el nombre que recibe el análisis matemático y estadístico de las genealogías de genes (Eguiarte et al., 2007; Freeland et al., 2011). Debido a que una variedad de factores tiende a hacer que la coalescencia sea un proceso extremadamente complicado, los modelos estadísticos y matemáticos basados en la teoría de coalescencia deben

ser capaces de incorporar numerosos parámetros demográficos, evolutivos y ecológicos (Eguiarte et al., 2007; Freeland et al., 2011).

Los estudios filogeográficos basados en una sola especie son predominantes en la literatura y, aunque se han llevado a cabo en una amplia gama de grupos taxonómicos, han estado sesgados hacia los mamíferos, las plantas y los peces (Beheregaray, 2008; Freeland et al., 2011). Sin embargo, la acumulación progresiva de datos permite buscar tendencias geográficas comparando las distribuciones genéticas de varias especies en un área geográfica común; de forma que, se han observado patrones de concordancias filogeográficas en numerosas especies en un área geográfica específica como resultado de eventos de dispersión y vicarianza (Freeland et al., 2011). Este enfoque comparativo permite mejorar nuestra comprensión de la influencia de los eventos históricos en la evolución de las poblaciones y especies y la identificación de aspectos comunes en la historia de múltiples taxones puede ser importante desde la perspectiva de la biología de la conservación (Freeland et al., 2011).

### **Diversidad ecológica de las hormigas (Hymenoptera: Formicidae)**

La familia Formicidae (Hymenoptera) es uno de los grupos de insectos con mayor abundancia y diversidad en los ecosistemas terrestres (Fernández et al., 2021; Eyer et al., 2021). Se han descrito más de 14,000 especies, distribuidas en casi todos los ambientes (Bolton, 2023), las cuales desempeñan una gran variedad de funciones en los ecosistemas y mantienen una amplia gama de interacciones con otros organismos (Fernández et al., 2021; Eyer et al., 2021). La alta diversidad de especies es posiblemente explicada por la gran diversidad morfológica que tiene relación directa con los recursos que explotan y la especialización de algunas especies de hormigas en los recursos que consumen (Larabee et al., 2016). Por ejemplo, las hormigas exhiben una gran variación en sus dietas (insectos vivos y muertos, hongos, melaza y otras secreciones dulces), estilos de vida, estrategias de apareamiento y de dispersión y composición de las colonias (Fernández et al., 2021; Eyer et al., 2021; Janda et al., 2016); lo cual puede afectar la estructura

genética de las poblaciones y brindar una amplia variedad de patrones de estructura genética y procesos y patrones evolutivos (Eyer et al., 2021) para describir y analizar. Por lo tanto, las hormigas representan un gran modelo de estudio en evolución, ecología y comportamiento.

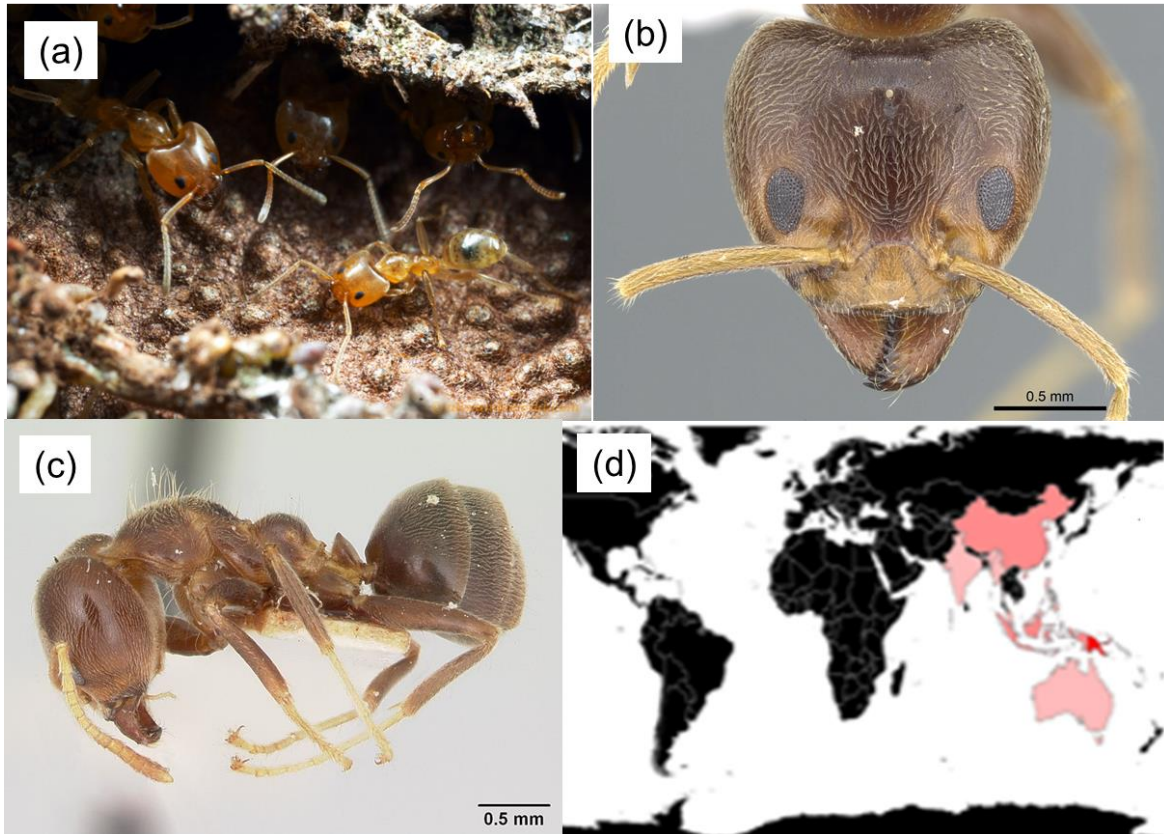
### **Ecología de la Subfamilia Dolichoderinae**

La subfamilia Dolichoderinae es uno de los grupos de hormigas menos estudiados a nivel mundial. La subfamilia Dolichoderinae comprende alrededor de 900 especies, siendo la cuarta subfamilia de hormigas más diversa (Chiotis et al., 2000; Fernández et al., 2021; Shattuck, 1995; Ward et al. 2010). Se distribuyen en todo el mundo, a través de todas las regiones geográficas, aunque con una mayor riqueza de especies en zonas tropicales y secas, siendo una parte dominante de la fauna de artrópodos en varias partes del mundo (Chiotis et al., 2000; Fernández et al., 2021; Shattuck, 1995; Ward et al. 2010). Presenta una amplia gama de hábitos de anidación, comportamiento, fuentes de alimentación y, algunas especies presentan relaciones mutualistas con plantas (Chomicki et al., 2016). Por ejemplo, en el Neotrópico, esta subfamilia incluye al género *Azteca*, uno de los grupos más estudiados por su interacción simbiótica con plantas de los géneros *Cecropia* y *Cordia* (Ayala, 1996; Longino, 2007; Pringle et al., 2012; Pringle, 2014). En la región Indo-australiana los géneros *Philidris*, *Anonychomyrma* e *Iridomyrmex* han sido menos estudiados, pero son un modelo potencialmente importante e interesante para estudiar las interacciones con las plantas y coevoluciones (Chomicki et al., 2016).

### **Taxonomía y biología del género *Philidris***

El género *Philidris* es un grupo monofilético (Ward et al., 2010), perteneciente a la subfamilia Dolichoderinae (Ward et al., 2010), que incluye nueve especies y siete subespecies descritas actualmente (AntWeb, 2023; Bolton, 2022). Este género habita en regiones tropicales, restringiéndose a la región Oriental e Indo-

Australiana, principalmente en las islas que forman parte del Archipiélago Malayo (sudeste de Asia y Australia, entre los océanos Pacífico e Índico), como Nueva Guinea y las Islas Salomón (Fig. 1) (Lohman et al, 2011; Zhou & Zheng, 1977).



**Figura 1. Hormigas del género *Philidris*.** (a) Hormigas *Philidris* a la entrada de su nido en una planta hospedera del género *Myrmecodia*, Iron Range National Park, Queensland, Australia (tomada de AntWeb, 2023). (b), (c) *Philidris brunnea* vista al estereoscopio. (d) Mapa de distribución de hormigas del género *Philidris*, la intensidad de las tonalidades de color rosa indica la riqueza de especies del género *Philidris* por región (Tomadas de [www.antwiki.org](http://www.antwiki.org)).

Las hormigas del género *Philidris* varían en su tamaño y morfología dependiendo de la casta (Tafoya-Alvarado, 2016). Las hormigas *Philidris* forman nidos con miles de obreras en ramas huecas, tocones de ramas, grietas en la corteza de los árboles o madera podrida presente en la superficie del suelo (Stenchly et al., 2011; Wielgoss et al., 2010). La estructura social de las colonias de este género de hormigas no está reconocida, pero estudios preliminares en manglares de Nueva Guinea concluyeron que las obreras que habitaban distintos

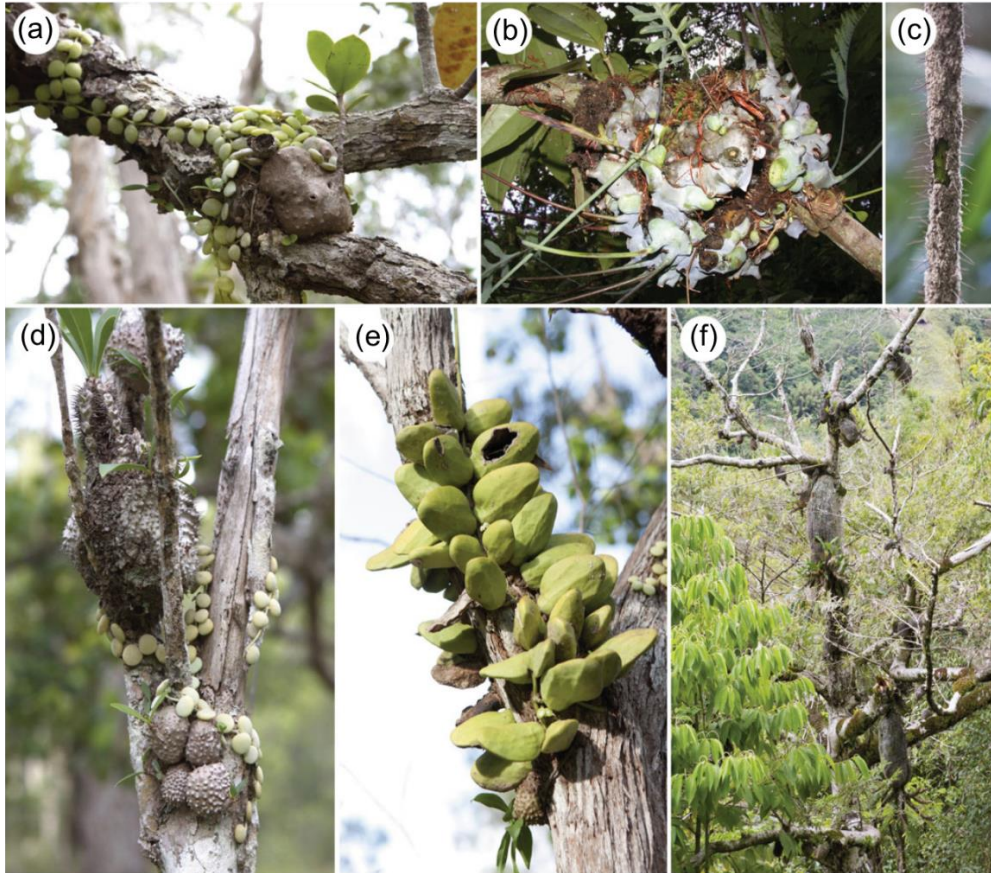
nidos pertenecieron a la misma colonia conformada por una sola reina, independientemente de que los nidos se encontraran en el mismo árbol o no; sugiriendo así una estructura colonial de tipo polidomia (una colonia con múltiples sitios de anidación) y monoginia (mantenimiento de una única reina), y un patrón de distribución de las colonias en mosaico (Maeyama & Matsumoto, 2000).

La mayoría de los trabajadores se alimentan en la vegetación, bajando al suelo de manera ocasional (Wielgoss et al., 2010). Las hormigas de este género son generalistas y depredadoras (Stenchly et al., 2011); adicionalmente, enriquecen su dieta con compuestos ricos en carbohidratos y aminoácidos presentes en nectarios extraflorales de las plantas en las que anidan (Chomicki et al., 2017; Chomicki & Renner 2019; Stenchly et al., 2011). Se ha registrado que algunas especies del género *Philidris* son agresivas y territoriales (Maeyama & Matsumoto, 2000), limitando la presencia de otras especies de hormigas arbóreas y terrestres (Maeyama & Matsumoto, 2000; Wielgoss et al., 2010) y manteniendo bien definida el área que abarca cada colonia (Tafoya-Alvarado, 2016), lo cual podría reflejar una fuerte estructuración genética ligada a la distribución geográfica.

Algunas especies del género *Philidris* mantienen una interacción mutualista con distintas especies de plantas formando los llamados “jardines de hormigas” (Fig. 2). La interacción consiste en la dispersión de semillas de especies de plantas epífitas, colocándolas dentro de sus nidos (Chomicki, et.al., 2017; Chomicki & Renner 2019). Las plantas se benefician al ser dispersadas a sitios por encima del suelo y ser depositadas en material rico en nutrientes; y, las hormigas obtienen beneficios mediante el andamio de las raíces que estabilizan los nidos, refugio y recompensas alimenticias ricas en azúcar y aminoácidos (Chomicki et al., 2017; Chomicki & Renner 2019; Pu et al., 2021). Adicionalmente a la siembra, cultivo y fertilización, las hormigas pueden conferir defensa contra patógenos o insectos depredadores en los casos más especializados (Chomicki et al., 2017; Pu et al., 2021). Las plantas involucradas en esta interacción pertenecen a las familias Rubiaceae y Apocynaceae, y al género de helechos *Lecanopteris* (Chomicki et al., 2016; Chomicki et al., 2017). La familia Rubiaceae, dentro de la región de



Australasia, contiene un clado con más de 100 especies de grandes domacios, con redes de galerías, habitados por hormigas del género *Philidris* (Chomicki et al., 2016).



**Figura 2. Ejemplos de jardines de hormigas, Papua Nueva Guinea.** (a) *Hydnophytum moseleyanum* y *Dischidia nummularia* cultivadas por *Philidris cordata*. (b) *Lecanopteris carnosa* cultivada por *Polyrhachis* del grupo *sericata*. (c) Ejemplo del nido de cartón recién formado por *Philidris myrmecodiae* en *Calamus ocrea*. (d) *Myrmecodia platytyrea* subsp. *antoinii* y *Dischidia nummularia* cultivadas por *Philidris cordata*. (e) *Dischidia major*, *D. nummularia* y *Myrmecodia* cultivadas por *Philidris cordata*. (f) Docenas de *Myrmecodia schlechteri* en el mismo árbol cultivadas por *Philidris myrmecodiae* (Tomada de Chomicki et al. 2017).

Los estudios de la interacción planta-hormiga que involucran al género *Philidris* se han centrado en la ecología y evolución de las plantas (Chomicki, 2016; Chomicki et al., 2016; Chomicki et al., 2017; Chomicki & Renner, 2019; Chomicki et al., 2020). Por otro lado, los estudios en el género *Philidris* permanecen prácticamente inexistentes, de manera que, hasta el momento, la taxonomía y



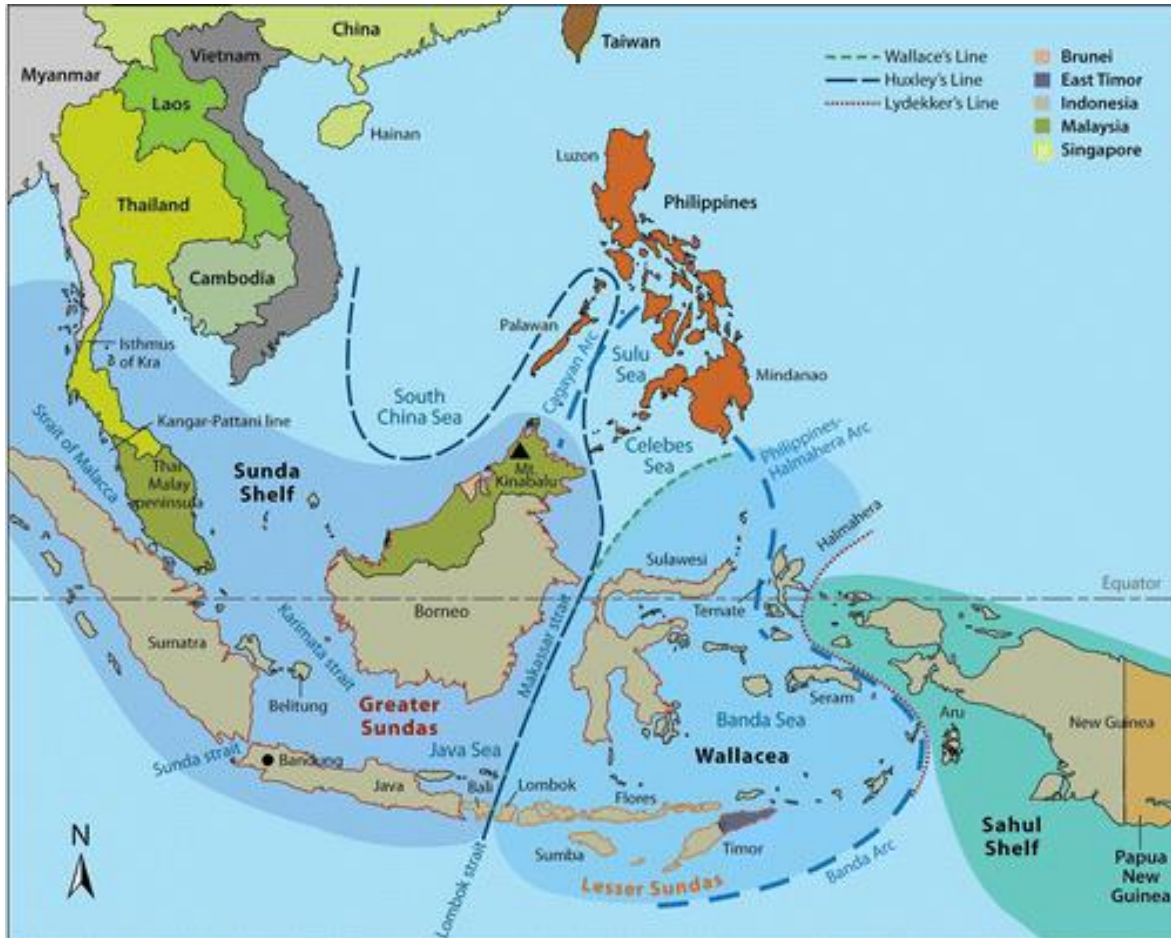
sistemática del género no están resueltas y aún se desconocen aspectos relevantes la evolución y ecología de estas hormigas. Dado que el sistema de estudio entre las plantas de la familia Rubiaceae y las hormigas del género *Philidris* es potencialmente relevante en estudios de interacciones y coevolución (Chomicki et al., 2016) y que se ha observado variación en la especialización de la interacción (Chomicki et al., 2017; Pu et al., 2021), los estudios que se han llevado a cabo son sólo una aproximación, ya que no se sabe exactamente con cuántas especies dentro del género estamos tratando y, por lo tanto, tampoco las repercusiones que tiene en la evolución de la interacción con las plantas.

### **Historia biogeográfica de la región Indo-Australiana**

Se han propuesto varias reconstrucciones paleogeográficas para la región Indo-Australiana, así como varios escenarios biogeográficos que explican la gran diversidad y endemismos de la región (Lohman et al., 2011; Matos-Maraví et al., 2018). En términos generales, existen dos hipótesis contrapuestas para explicar el surgimiento de tierra de Nueva Guinea: (1) fue formada por un grupo de islas a lo largo del borde norte, llamado el Proto-archipiélago de Papua, en el mioceno temprano; y (2), una orogenia peninsular de Papua restringida al sureste de Nueva Guinea dio origen a isla en el Oligoceno (30–35 Ma) (Lohman et al., 2011; Matos-Maraví et al., 2018). A su vez, estos modelos hacen predicciones contrastantes de los primeros eventos de colonización de Nueva Guinea, desde el norte o sureste de la isla (Matos-Maraví et al., 2018).

En el caso de las islas oceánicas, se planteó la hipótesis de que la mayoría de los archipiélagos tropicales del Sur del Pacífico surgieron durante el mioceno tardío y el plioceno (5-10 Ma), aunque las reconstrucciones paleogeográficas indican actividad volcánica desde al menos el Oligoceno (30 Ma), representando antiguos arcos volcánicos melanesios desde Nueva Guinea hasta Fiji, probablemente con tierras efímeras (Matos-Maraví et al., 2018). Este escenario sugiere dispersiones tempranas hacia el suroeste del Pacífico hasta la interrupción del arco insular alrededor de hace 10 Ma (Matos-Maraví et al., 2018). A pesar de

las diferencias en las reconstrucciones paleogeográficas, la mayoría de los modelos coinciden en que hubo un aumento de la tierra subaérea y la actividad orogénica en los últimos 5-10 Ma (Lohman et al., 2011; Matos-Maraví et al., 2018).



**Figura 3. Mapa del Archipiélago Indo-australiano que indica masas de tierra, estrechos, mares, arcos y líneas de fauna contemporáneas.** Las islas principales están etiquetadas; los diferentes países se indican por color. (Tomado de Lohman et al., 2011).

La biogeografía reciente de la región Indo-Australiana está fuertemente impulsada por las fluctuaciones climáticas del cuaternario, que involucraron cambios en el nivel del mar (Chomicki et al., 2017; Leathy et al, 2020); las disminuciones en el nivel del mar permitieron mejores conexiones y eventos de dispersión entre islas y con el continente australiano (Chomicki et al., 2017). Así mismo, ocurrieron contracciones y expansiones de los ecosistemas tropicales (Leathy et al, 2020). Adicionalmente, algunas barreras biogeográficas, como el

corredor de la Montaña Negra, muestran evidencia de estructuración genética en varios grupos de estudio (Leathy et al., 2020). Las hormigas son organismos ideales para la realización de estudios biogeográficos en la región Indo-Australiana ya que son los invertebrados dominantes de la región y muestran una gran diversidad (Woinarski et al., 1998), incluyendo a la subfamilia Dolichoderinae que parece ser más diversa que otros grupos en esta región (Andersen, 1993; Andersen et al., 2010; Barrow et al., 2006; Woinarski et al., 1998).

## **OBJETIVO GENERAL**

Realizar un análisis filogeográfico de especies de hormigas indo-australianas del género *Philidris* y comparar la genética de poblaciones de dos especies selectas con base en marcadores moleculares.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

- Reconstruir las relaciones filogenéticas del género *Philidris* con base en distintos marcadores moleculares.
- Delimitar las especies de hormigas del género *Philidris* con distintos marcadores moleculares y algoritmos de delimitación de especies.
- Comparar la estructura genética poblacional de dos especies selectas del género *Philidris*.

## **HIPÓTESIS**

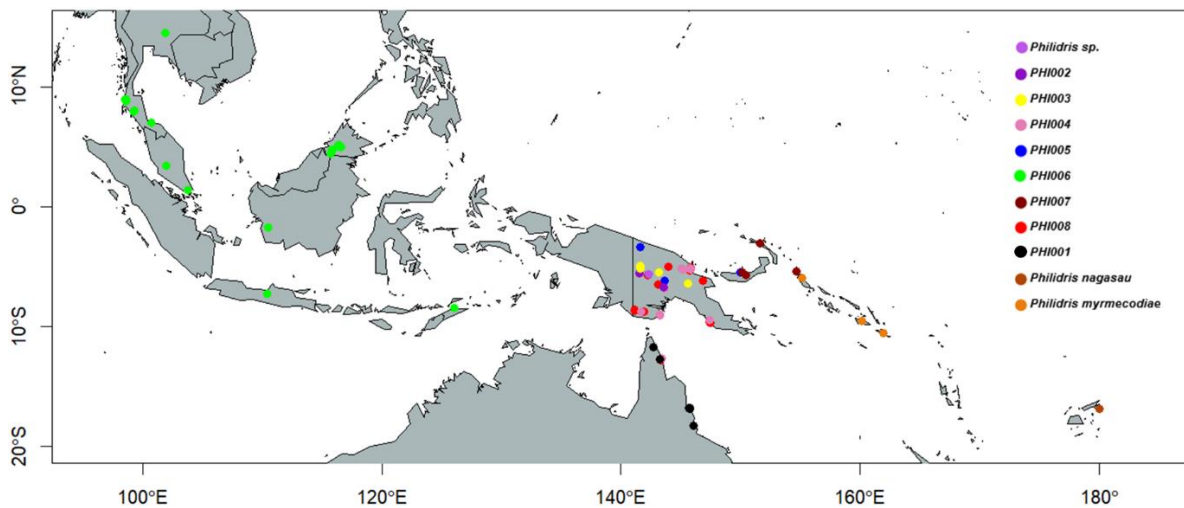
- La historia filogeográfica del género *Philidris* estará fuertemente asociada a los eventos geológicos de emergencia y separación de islas, siguiendo patrones similares a otros grupos de estudios de la región.
- El género *Philidris* se originó en Australia y Nueva Guinea y se dispersó al resto islas, provocando eventos de especiación.

- Las poblaciones mostrarán divergencia poblacional debido al aislamiento geográfico y las barreras geográficas.

## METODOLOGÍA

### Colecta de especímenes

Para evaluar la estructura de las poblaciones y analizar la historia filogeográfica, se colectaron muestras de hormigas entre el 2005 y 2013, en 47 localidades distintas, abarcando los países de Tailandia, Singapur, Malasia, Indonesia, Timor, Australia, Nueva Guinea, Islas Salomón y Fiji (Fig. 4, Tabla S. 1). Las hormigas se muestrearon en distintos hábitats, en el suelo y en plantas mirmecofíticas, obteniendo de 5-15 individuos obreros por colonia, que fueron preservados en etanol. Se reunieron un total de 250 muestras que fueron identificadas de manera preliminar a morfoespecies. Se muestrearon nueve especies del género *Philidris* y algunas especies de los géneros *Anonychomyrma*, *Iridomyrmex*, *Ochetellus*, *Linepithema* y *Papyrius* que fueron utilizados como grupos externos.



**Figura 4. Muestreo de las hormigas *Philidris*.** Mapa donde se muestran los diferentes sitios de colecta en la región Indo-Australiana, los puntos de diferentes colores corresponden a las morfoespecies.

## Extracción de ADN y amplificación de marcadores moleculares

La extracción de ADN se llevó a cabo utilizando el kit Geneaid Genomic Tissue DNA (Geneaid Biotech Ltd., New Taipei City, Taiwán) siguiendo el protocolo establecido por el fabricante. Se amplificaron fragmentos de genes codificadores de proteínas utilizando cebadores publicados (Tabla 1). Para las amplificaciones de ADN se utilizaron 2 µl de ADN aislado, 1x de PPP Master Mix (Top-Bio, Praga), 0.4 µM de cada cebador y se completaron con agua destilada hasta 25 µl. Los protocolos de PCR consistieron en un periodo de activación de 5 min a 95°C, y 35 ciclos de: 94°C por 30 s, 50/55°C por 50 s (50 °C en el caso de COI y LWR; y 55°C para CAD, EF-1αF1 y EF-1αF2) y 72°C por 90 s, finalizando el programa con 72°C por 5 min. Las PCR exitosas se enviaron a la compañía MacroGen, con sede en Corea del Sur, para la secuenciación en ambas direcciones utilizando los cebadores universales T7promoter y T3. Las secuencias de ADN se ensamblaron, editaron y alinearon en el software Geneious v. 2022.0.1, para el alineamiento de las secuencias se utilizó el algoritmo MAFFT y se comprobaron las regiones codificantes con un marco de lectura.

**Tabla 1. Genes y primers para la amplificación y secuenciación utilizados en este estudio.**

Gen	Cebadores	Referencia
Citocromo oxidasa subunidad I (COI)	LCO	Folmer et al. (1994)
	HCO	
Carbamoil-fosfato sintasa II (CAD)	CD892	Ward et al. (2010)
	CD1491	
	CD1423	
	CD1910	
Factor de elongación 1-alfa F1	F1-1424	Schultz & Brady (2008)
	F1-1829	
Factor de elongación 1-alfa F2	F2-557	Schultz & Brady (2008)
	F2-1118	Brady et al. (2006)
Rodopsina de longitud de onda larga (LWR)	LW143	Ward & Downie (2005)
	LW639	

## **Análisis de delimitación de especies**

Con el objetivo de delimitar las especies se utilizó una matriz de genes concatenada, que contiene COI, CAD, EF-1 $\alpha$ F1, EF-1 $\alpha$ F2 y LWR. Para realizar una reconstrucción filogenética por máxima verosimilitud con el programa IQ-TREE 2 (Minh et al., 2020), se usaron particiones por genes y por la posición del codón, se ejecutó ModelFinder para encontrar los modelos de sustitución óptimos, se corrieron 1000 réplicas y se calculó el soporte de las ramas con 1000 bootstrap ultrarrápidos. También se elaboró un análisis bayesiano usando BEAUTi y BEAST con particiones por genes y por posición del codón, un modelo de reloj molecular relajado log-normal, se ajustaron los modelos del sitio, se seleccionó el método de Yule para la reconstrucción del árbol, ya que se suele utilizar como modelo predeterminado al ser el modelo de especiación más simple y requerir solo un parámetro (la tasa de natalidad de nuevas especies), y la longitud de la cadena MCMC se fijó en 50 millones almacenándose cada 50 mil; se verificaron los valores de ESS (tamaño efectivo de la muestra) y que se alcanzara la convergencia de las cadenas MCMC en Tracer v1.7.2 (Suchard et al. 2018). Se utilizó el árbol de máxima verosimilitud como entrada para las delimitaciones de especies con bPTP (Bayesian Poisson Tree Processes method; <http://species.hits.org/ptp/>; Zhang et al., 2013) y mPTP (multirate Poisson Tree Processes; <https://mptp.h-its.org/#/tree>; Kapli et al., 2017). BPTP se corrió con 500,000 generaciones de MCMC; thinning de 100; y 10% burn-in; se eliminaron los grupos externos para mejorar la delimitación de las especies y se verificó que se alcanzara la convergencia de las cadenas MCMC. Se utilizó el árbol generado por BEAST para realizar la delimitación de especies en STACEY y BPP (Bayesian Phylogenetics and Phylogeography; Yang 2015) y el análisis GMYC (Generalized Mixed Yule Coalescent; Pons et al. 2006; Fujisawa & Barraclough, 2013) utilizando el paquete “splits” implementado en R (R Core Team, 2021).

## **Análisis filogenéticos y biogeográficos**

Se realizó una reconstrucción filogenética con los datos moleculares más completos del género *Philidris* hasta la fecha. Las reconstrucciones filogenéticas por máxima verosimilitud se ejecutaron con el programa IQ-TREE 2 (Minh et al., 2020),

con la matriz concatenada de 5 genes (especificada en la sección de arriba) y con el conjunto de datos de COI. Para el conjunto de datos del gen COI se hicieron particiones por la posición del codón, se ejecutó ModelFinder para encontrar los modelos de sustitución óptimos (COI1: TN+F+R2, COI2: TN+F+R2, COI3: TIM2+F+G4), se corrieron 1000 réplicas y se calculó el soporte de las ramas con 1000 bootstrap ultrarrápidos. Con hacer la reconstrucción biogeográfica se infirieron las áreas ancestrales utilizando el paquete BioGeoBEARS (Matzke, 2018) implementado en R (R Core Team, 2021). Para determinar las áreas ancestrales se construyó una matriz de distribución de especies basada en las regiones biogeográficas: Indomalaya (IM), Timor-Molucas (TM), Nueva Guinea (Incluyendo al archipiélago Bismarck) (NG), Australia (AU), Islas Salomón (SB) y Fiji (FJ). Se corrió el análisis con los modelos DEC, DIVALIKE y BAYAREALIKE, y cada uno con el parámetro de especiación J; limitando el rango máximo de 6 especies ancestrales, sin limitación de dispersión entre regiones y se compararon a través de los valores de LnL y AIC.

### **Análisis de estructura genética poblacional**

Se seleccionaron las especies *Philidris* sp. 8 (71 secuencias) y *Philidris* sp. 5 (60 secuencias) para los análisis de estructura poblacional, ya que eran las especies con datos suficientes con el gen COI para realizar análisis poblacionales. Para realizar las estimaciones de diversidad (diversidad nucleotídica, la diversidad haplotídica, la proporción de sitios segregantes, y la tasa de mutación poblacional), distancia, diferenciación y estructura genética se utilizó el software ADNsp v. 6.12. Con el fin de evaluar la estructura genética, es decir la partición de diversidad dentro y entre poblaciones, se realizó un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA), con la implementación de poppr 2.9.3 (Kamvar, 2014) en R (R Core Team, 2021). Para evaluar la relación entre la distancia genética y la distancia geográfica se calculó una matriz de distancia genética (calculada en distancia Nei) y una matriz de distancia geográfica para ejecutar un análisis de aislamiento por distancia (IBD) aplicando la prueba Mantel con 10,000 permutaciones, usando el paquete adegenet en R (Jombart, 2008; R Core Team, 2021). La estructura genética y la diferenciación

poblacional se visualizaron a través de un Análisis de Discriminante de Componentes Principales (DAPC) y un Análisis de Componentes Principales (PCA), empleando el paquete adegenet en R (Jombart, 2008; R Core Team, 2021); así como con una red de haplotipos utilizando Popart v. 1.7 (Leigh & Bryant, 2015), con el método TCS.

## RESULTADOS

### Delimitación de especies

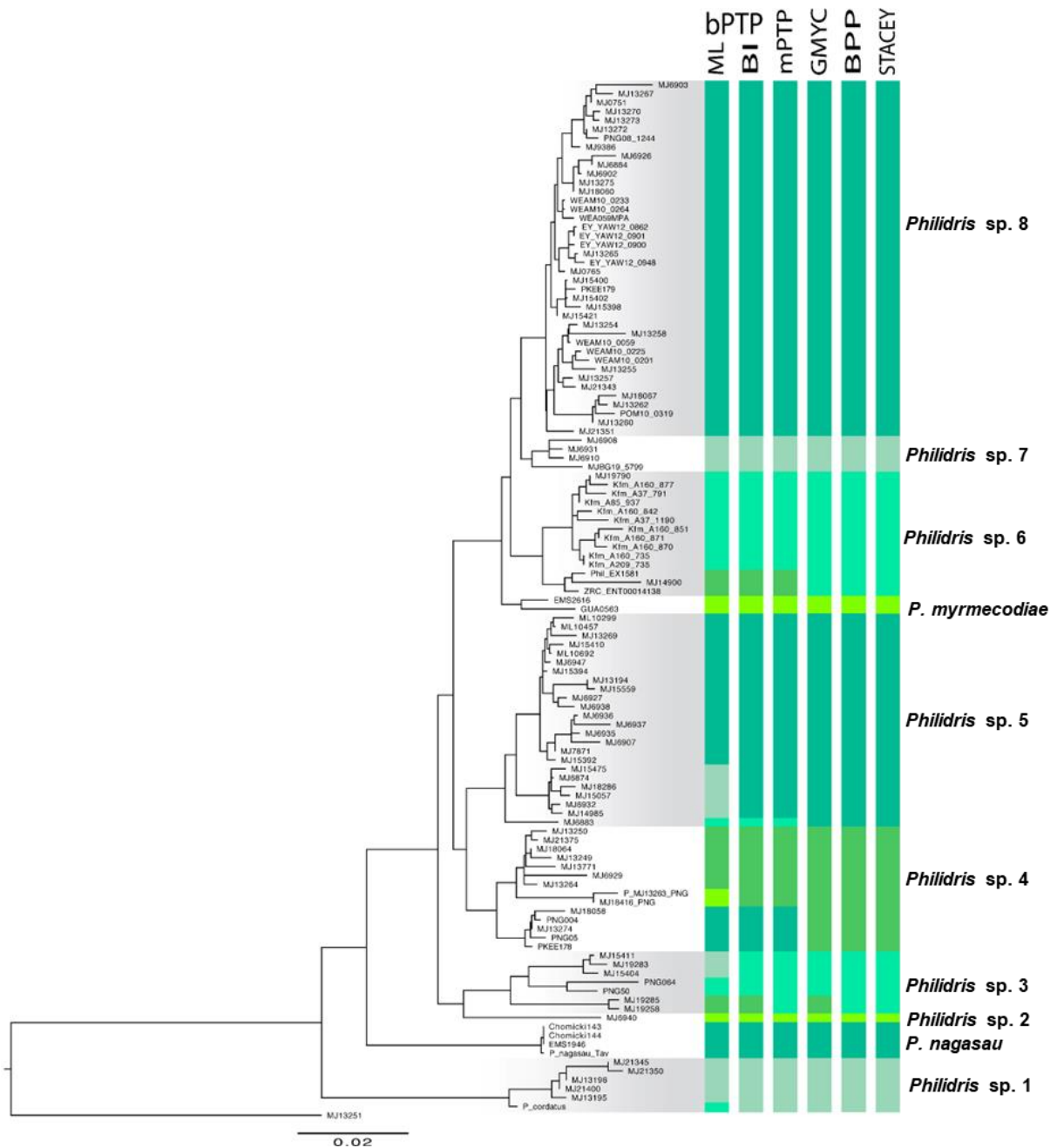
El alineamiento final de cinco genes incluyó 117 secuencias con una longitud de 2,894 pb. El análisis de delimitación de especies recuperó entre 10 y 14 Unidades Taxonómicas Operacionales Moleculares (MOTUs por sus siglas en inglés) (Fig. 5). Se obtuvieron diferentes números de especies putativas con relación al algoritmo de delimitación utilizado: 14 especies con bPTP, 13 con mPTP, 11 para BPP y para GMYC y 10 con STACEY (Fig. 5). *Philidris* sp. 6, *Philidris* sp. 5 y *Philidris* sp. 4 se dividieron en dos especies con los análisis bPTP y mPTP y por los demás métodos de delimitación como especies únicas (Fig. 5). En el caso de *Philidris* sp. 3 los algoritmos bPTP y GMYC delimitaron dos especies, pero se mantuvo como una sola especie con el resto de los algoritmos (mPTP, BPP y STACEY) (Fig. 5). Sin embargo, un análisis de delimitación de especies del género *Philidris* con 2,245 loci provenientes de datos genómicos de Elementos Ultraconservados (UCE's por sus siglas en inglés) estimó entre ocho y nueve MOTUs (Perez-Flores et al., datos no publicados) (Fig. 6). Nuestro análisis recuperó todas las especies delimitadas en el análisis de UCE's, difiriendo en *Philidris* sp. 8 (Fig. 5, 5); ya que en el análisis de Pérez-Flores et al. (2023, en preparación) se recupera una única especie mientras que, en el nuestro se delimitaron tres especies. Al brindar resultados más robustos y conservadores, utilizamos la delimitación de especies de UCE's para determinar las especies en los análisis de genética de poblaciones. Los resultados indican que la delimitación para el género *Philidris* es de al menos ocho especies y que la especie *Philidris* sp. 8 está conformada por al menos tres linajes divergentes.



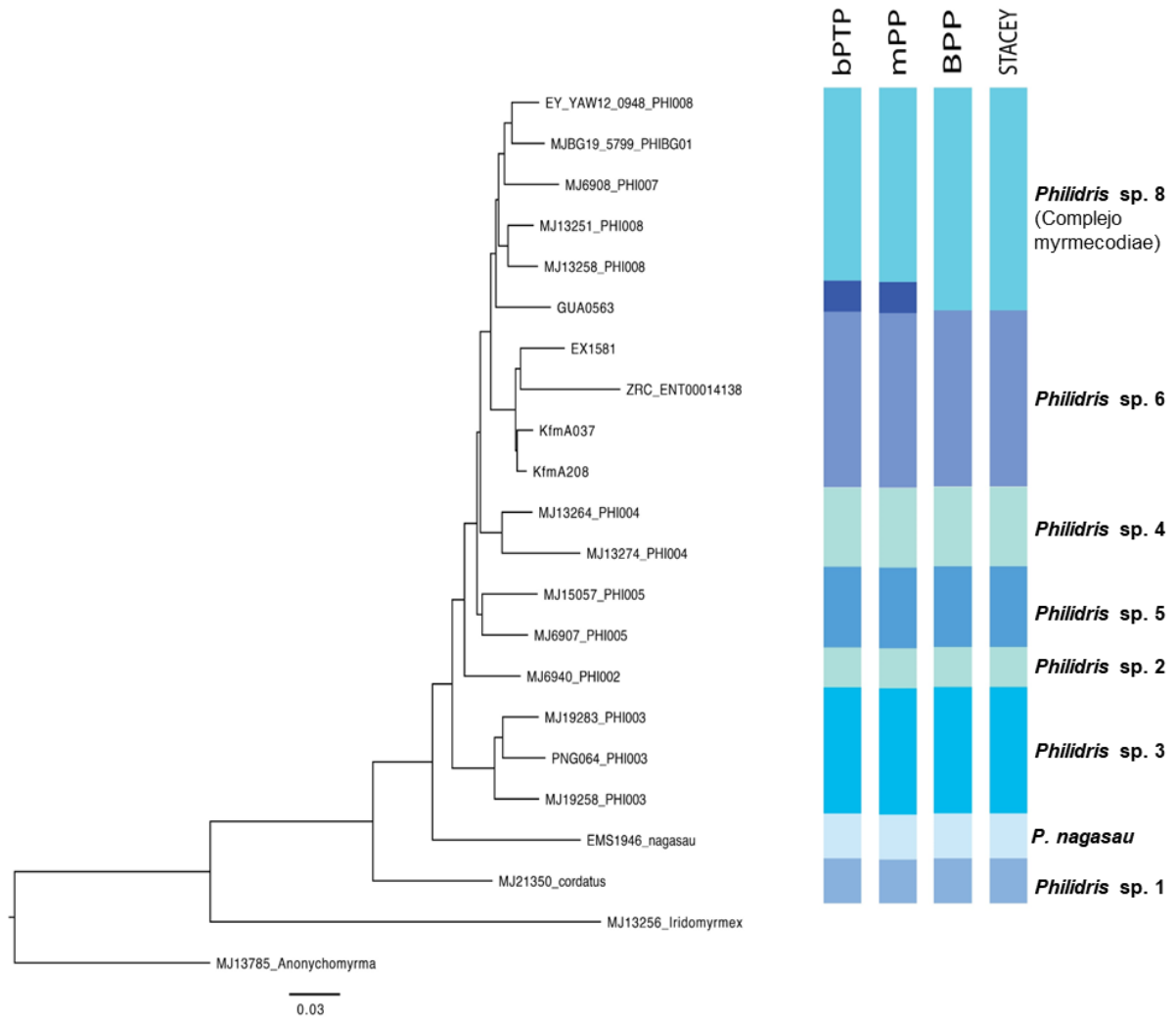
## Reconstrucción filogenética

La reconstrucción filogenética basada en la matriz de cinco genes recuperó al género *Philidris* como monofilético, con el género *Ochetellus* como grupo hermano. *Philidris* sp. 1 fue recuperado como especie hermana de *Philidris nagasau* más el resto (Fig. 5, Fig. Sup. 1). Luego, las especies *Philidris* sp. 2 + *Philidris* sp. 3 se recuperaron como especies hermanas de (*Philidris* sp. 4 + *Philidris* sp. 5) + ((*Philidris myrmecodiae* + *Philidris* sp. 6) + (*Philidris* sp. 7 + *Philidris* sp. 8)) (Fig. 5, Fig. Sup. 1).

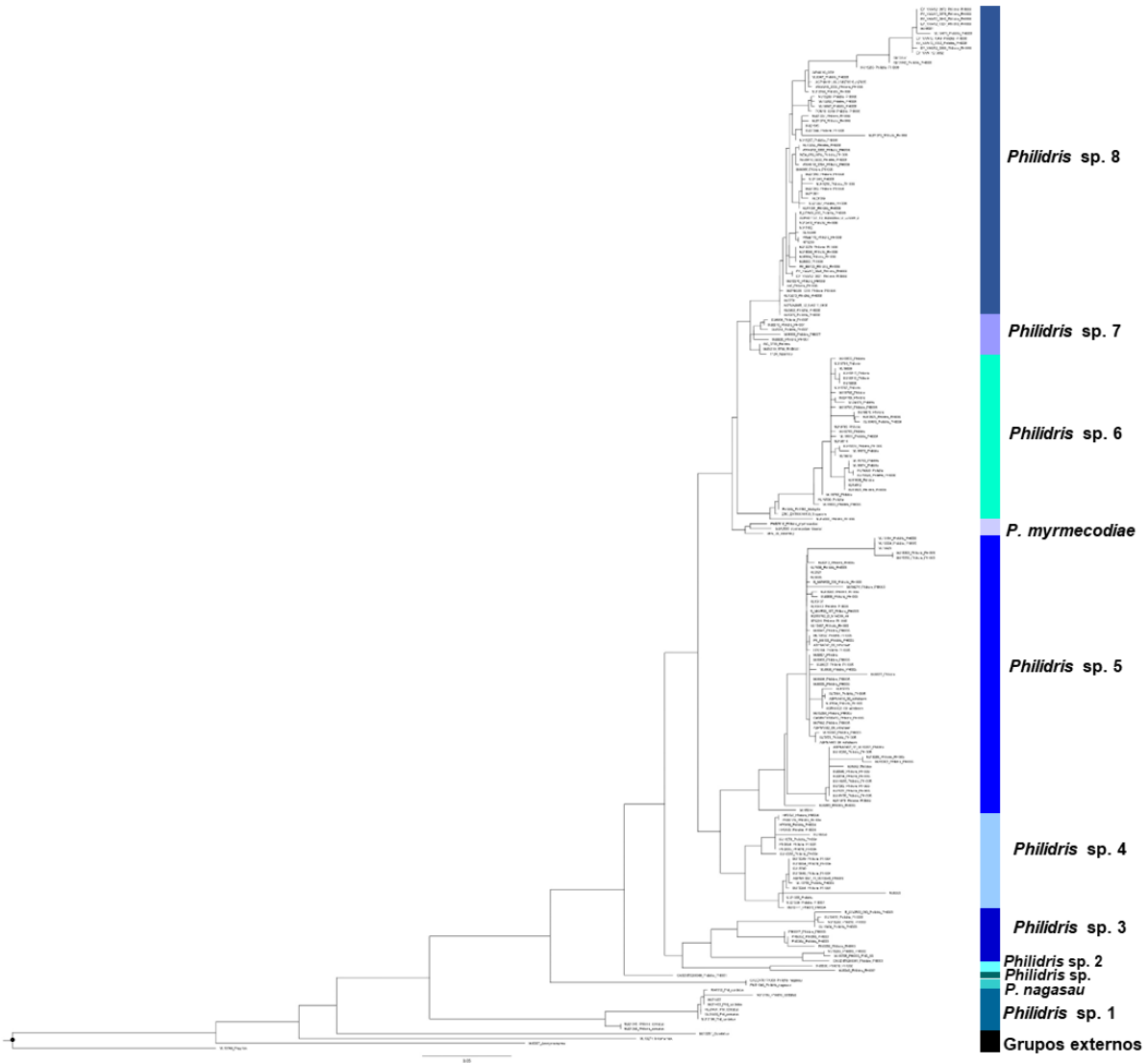
El dataset del gen citocromo oxidasa está compuesto por 241 secuencias, de las cuales 237 muestras pertenecen al género *Philidris* y cuatro secuencias de grupos externos (*Papyrius*, *Ochetellus* y *Anonychomyrma*), con una longitud de 631 pb. La reconstrucción filogenética basada en COI también recuperó al género *Philidris* como un grupo monofilético, con *Ochetellus* como grupo hermano (Fig. 7). *Philidris* sp. 1 se recuperó como especie hermana de *P. nagasau* + el resto (Fig. 7). Después, el espécimen *Philidris* sp. (CASENT0200369) fue recuperado como hermano de (*Philidris* sp. 2 + *Philidris* sp. 3) + más el resto (Fig. 6). Posteriormente, *Philidris* sp. 4 + *Philidris* sp. 5 se recuperó como grupo hermano de *Philidris myrmecodiae* + (*Philidris* sp. 6 + (*Philidris* sp. 7 + *Philidris* sp. 8)) (Fig. 7).



**Figura 5. Análisis de delimitación de especies basada en cinco genes.** Los resultados están basados en un árbol de cinco genes (COI, CAD, LR, EF1, EF2), por máxima verosimilitud, IQTREE v.1.5.5, con una longitud de 2,894 pb y 9 particiones (PartitionFinder: COI: 1st, 2nd, 3rd; CAD: exón, intrón; LR: exón, intrón; EF1; EF2). Las barras verticales correspondientes a cada linaje son Unidades Taxonómicas Operacionales Moleculares (MOTU) con base en cada algoritmo de delimitación (bPTP, mPTP, GMYC, BPP y STACEY).



**Figura 6. Delimitación de especies basada en elementos ultraconservados (UCE's).** Los resultados están basados en un árbol por máxima verosimilitud, IQTREE v.1.5.5, con 2,245 loci, con 2,095,266 pb de longitud, de los cuáles 41,118 pb fueron informativas, y 1676 subconjuntos de partición (PartitionFinder). Las barras verticales de cada linaje corresponden con Unidades Taxonómicas Operacionales Moleculares (MOTU) con base en cada algoritmo de delimitación (bPTP, mPTP, BPP y STAYCEY). Pérez-Flores et al., 2023 (en preparación, datos no publicados).



**Figura 7. Reconstrucción filogenética con base en el marcador citocromo oxidasa (COI).** Los resultados están basados en un árbol de citocromo oxidasa (COI), por máxima verosimilitud, IQTREE v.1.5.5, con una longitud de 631 pb, tres particiones (COI: 1st, 2nd, 3rd) y 215 secuencias haplotídicas.

### Reconstrucción biogeográfica

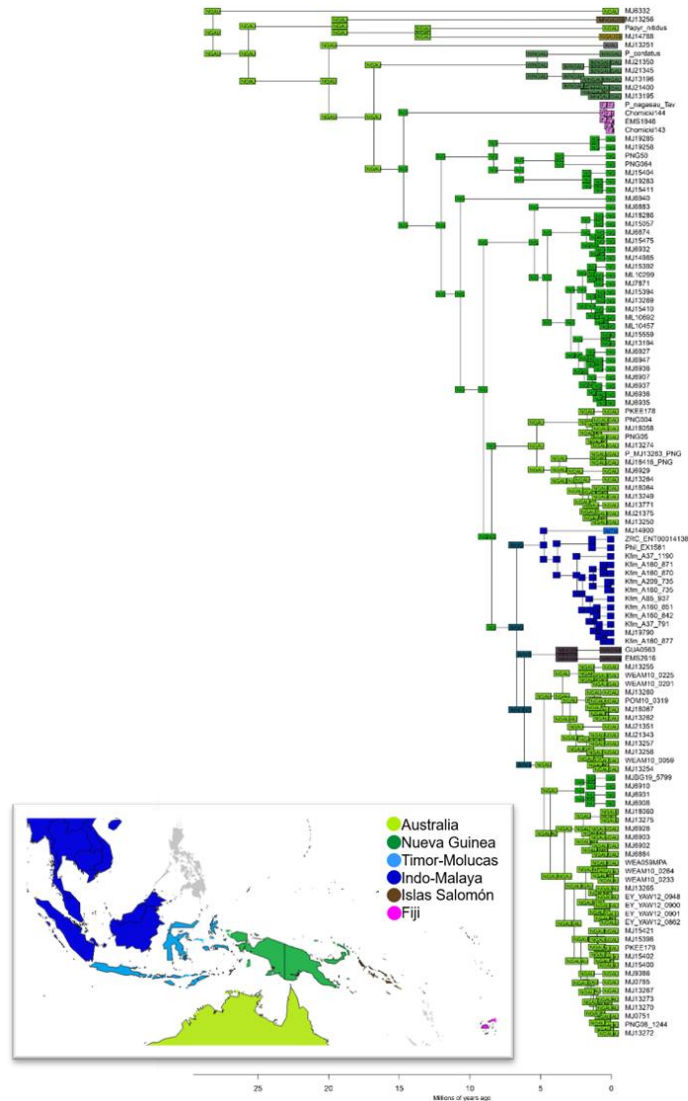
El análisis de BioGeoBEARS sugirió que el modelo BAYAREALIKE obtuvo mejores valores que los demás modelos con base en los valores de LnL y AIC. El área ancestral del género *Philidris* parece estar dentro de las regiones biogeográficas de Nueva Guinea (NG) y Australia, con una dispersión posterior hacia las otras regiones (Fig. 8). El primer evento reconstruido dividió a la especie *Philidris* sp. 1 con distribución en Australia hace 20-15 Ma (Fig. 8). El siguiente

evento de dispersión y vicarianza dividió a la especie *P. nagasau* distribuida en Fiji del resto entre 15 y 10 Ma, con un área ancestral en NG (Fig. 8). En los otros eventos se separaron las especies *Philidris* sp. 3, *Philidris* sp. 2 y *Philidris* sp. 5, con distribución en NG hace 10-5 Ma (Fig. 8). El evento posterior fue la separación de la especie *Philidris* sp. 4 con distribución en NG y Australia, con una región ancestral recuperada en NG (Fig. 8). Para el último clado que incluye las especies *Philidris* sp. 6 y *Philidris* sp. 8 (incluida *Philidris* sp. 7), el área ancestral también se recuperó en la región de NG, entre 7 y 4 Ma (Fig. 8). Eso supone que la mayoría de las especies se dispersaron hacia otras regiones principalmente desde NG.

### **Diversidad y estructura genética poblacional**

#### *Philidris* sp.5.

Para la especie *Philidris* sp. 5 se analizaron se analizaron las secuencias de 60 individuos del gen citocromo oxidasa I, pertenecientes a siete poblaciones. La riqueza alélica se mantuvo alrededor de dos en todas las poblaciones (Tabla 2). Se encontraron 23 sitios segregantes, el mayor número de sitios segregantes y de haplotipos los tuvieron las poblaciones de Kaiangabip (centro de NG), Fogomaiu (sur de NG) y Madang (noreste de NG); mientras que, la población de Sandaun (noroeste de NG) no tuvo sitios segregantes, suponiendo un único haplotipo en todas las muestras (Tabla 2). En general, se muestra una diversidad nucleotídica reducida y alta diversidad haplotídica, la mayor diversidad haplotídica la obtuvo Kimbe (Nueva Britania), seguido de Mendi (centro de NG); y en el caso de la diversidad nucleotídica la población de Kaiangabip y Fogomaiu (Tabla 2). La tasa de mutación poblacional más alta la tuvo la población de Kaiangabip, seguido de Fogomaiu; y las más bajas Sandaun (noroeste de NG) y Nagada (noreste) (Tabla 2). El estadístico D de Tajima mostró valores positivos para algunas poblaciones y negativos para otras, pero no resultaron significativos (Tabla 2).



**Figura 8. Reconstrucción biogeográfica basada en cinco genes.** Reconstrucción biogeográfica de BIOGEOBEARS, modelo Bayarealike. Basado en un Análisis Bayesiano realizado en BEAST, con un modelo de evolución GTR+G, con 4 categorías de frecuencia gamma y un reloj logarítmico normal no correlacionado. La matriz de genes consistió en cinco genes, una longitud de 2,894 pb, nueve particiones (COI: 1st, 2nd, 3rd; CAD: exón e intrón; LR: exón e intrón; EF1; EF2). Los colores en los nodos indican las áreas ancestrales más probables, que corresponden con el mapa y los colores de las ramas terminales las distribuciones de las muestras.

Los valores de  $F_{ST}$  variaron entre 0.0029 y 0.1197, los valores de mayor diferenciación genética se encontraron al comparar la población de Fogomaiu (sur de NG) con las demás poblaciones (Tabla 3). El AMOVA mostró que alrededor del 35% de la variación genética del marcador utilizado (COI) se encuentra entre individuos y el 65% entre las poblaciones, siendo significativo ( $p=0.0001$ ) e

indicando estructura genética (Tabla 3). En el análisis de IBD no se encontró correlación entre la distancia geográfica y la distancia genética (Obs = -0.03,  $p = 0.43$ ) (Fig. 9a).

**Tabla 2. Estadísticos de genética poblacional de la especie *Philidris* sp. 5.**

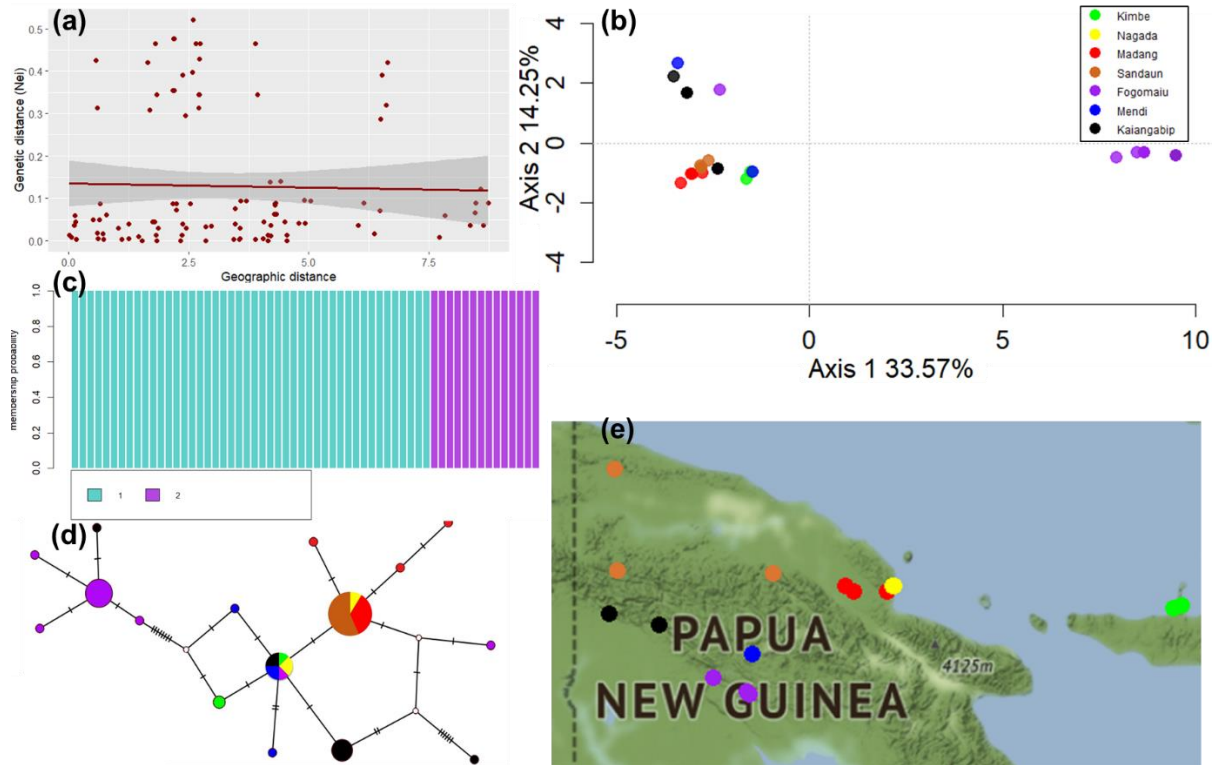
Población	n	S	H	Hd	$\pi$	$\theta_w$	D'	F's	A
Kimbe	3	2	3	1	0.003	0.003			2.06
Nagada	4	1	2	0.67	0.002	0.001	1.63	0.54	2.03
Madang	11	5	5	0.76	0.003	0.004	-0.89	-1.40	2.04
Sandaun	13	0	1						1.99
Fogomaiu	15	15	5	0.48	0.008	0.012	-1.19	1.51	2.13
Mendi	4	5	3	0.83	0.006	0.006	-0.80	0.46	2.11
Kiangabip	10	23	5	0.76	0.014	0.020	-1.38	1.96	2.21
Total	60	23	15	0.80	0.014	0.014	-0.03	-0.83	

Los resultados incluyen el número de individuos en la población (**n**), la proporción de sitios segregantes (**S**) el número de haplotipos (**H**), la diversidad haplotípica (**Hd**), la diversidad nucleotídica ( $\pi$ ), la tasa de mutación poblacional ( $\theta_w$ ), estimador D de Tajima (**D'**), la F's de Fu (**F's**) y la riqueza alélica (**A**) para cada población. El total registra el conjunto total de las poblaciones como si se tratase de una sola población. Los espacios en blanco indican valores que no se pudieron estimar por el reducido tamaño poblacional.

**Tabla 3. Diferenciación genética (valores de  $F_{ST}$  pareados) entre poblaciones de la especie *Philidris* sp. 5.**

Población	Nagada	Madang	Sandaun	Fogomaiu	Mendi	Kiangabip
<b>Kimbe</b>	0.01	0.02	0.02	<b>0.10</b>	0.004	0.02
<b>Nagada</b>		0.003	0.003	<b>0.11</b>	0.002	0.02
<b>Madang</b>			0.001	<b>0.12</b>	0.02	0.03
<b>Sandaun</b>				<b>0.12</b>	0.02	0.03
<b>Fogomaiu</b>					<b>0.10</b>	<b>0.09</b>
<b>Mendi</b>						0.01

Las negritas indican los valores de diferenciación poblacional de la población de Fogomaiu con el resto, que corresponde a los valores más altos de  $F_{ST}$  pareados.



**Figura 9. Estructura poblacional de la especie *Philidris* sp. 5.** (a) Análisis de aislamiento por distancia (IBD), los resultados indican nula correlación entre la distancia geográfica y la distancia genética (prueba Mantel, Obs = -0.03,  $p = 0.43$ ), la línea es una regresión lineal simple con el intervalo de confianza del 95 % sombreado con fines de visualización. (b) Análisis de Componentes Principales (PCA) de las poblaciones de *Philidris* sp. 5, los primeros dos ejes acumularon 47.82% de variación; se muestra la agrupación de los individuos, representados por los puntos. (c) Análisis Discriminante de Componentes Principales, utilizando 10 PC, con un 96.2% de varianza y  $k=2$ . (d) Red de haplotipos con el método TCS, el tamaño de los círculos indican la frecuencia de los haplotipos. (e) Mapa de las localidades de muestreo para cada población.

Los primeros dos ejes del PCA acumularon un total de 47.82% de varianza, mientras que el análisis de DAPC acumuló un total de 96.2% de la varianza, reteniendo 10 componentes principales. En el análisis de DAPC el número de clusters más probables fue igual a dos basado en el valor de BIC, uno de los clusters corresponde con la población de Fogomaiu (sur de NG) más un espécimen de Kaiangabip, mientras que el otro cluster se encuentran especímenes de todas las localidades (Fig. 9ce). El análisis de PCA muestra una tendencia de diferenciación entre las poblaciones preestablecidas siendo la población de Fogomaiu la más diferenciada del resto (Fig. 9be). Se encontraron un total de 15 haplotipos, la



configuración de la red de haplotipos muestra un haplotipo central con frecuencia alta (23), con individuos pertenecientes a las poblaciones de Nagada, Madang y Sandaun; rodeado de haplotipos exteriores de menor frecuencia y con pocas conexiones. La población de Fogomaiu formó un haplogrupo divergente al resto (Fig. 9de).

**Tabla 4. Análisis de varianza molecular en poblaciones de la especie *Philidris* sp. 5.**

<b>Fuente de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Componentes de variación</b>	<b>% de variación</b>	<b>Valor de p</b>
Entre poblaciones	6	244.14	4.67	<b>65.19</b>	<b>&lt;0.01</b>
Dentro de poblaciones	53	132.19	2.49	<b>34.81</b>	<b>&lt;0.01</b>
Total	59	376.33	7.16	100	

Las negritas indican valores significativos ( $p < 0.05$ ).

#### *Philidris* sp.8.

Para la especie *Philidris* sp. 8 se analizaron las secuencias de 71 individuos del gen citocromo oxidasa I, pertenecientes a diez poblaciones. La riqueza alélica fue de alrededor de 1.5 en todas las poblaciones (Tabla 5). Se encontraron un total de 46 sitios segregantes, el mayor número de sitios segregantes y de haplotipos los tuvieron las poblaciones de Yawan (noreste de NG), Iron Range (norte de Australia) y Weam (sur de NG) (Tabla 5). En general se muestra una diversidad nucleotídica reducida y alta diversidad haplotídica; la mayor diversidad haplotídica se encontró en las poblaciones de las Islas Salomón, Port Moresby (sureste de NG) y en el Archipiélago de Bismarck; y en el caso de la diversidad nucleotídica la población de Salomón, seguido de Bougainville (Tabla 5). La tasa de mutación poblacional más alta la obtuvo la población de Bougainville, seguido de Salomón; y las más bajas Nagada y Wanang (ambos al noreste de NG) (Tabla 5). El estadístico D de Tajima mostró valores positivos para algunas poblaciones y negativos para otras, pero no resultaron significativos (Tabla 5). Los valores de F's también resultaron positivos en algunas poblaciones y negativos para otras, particularmente en las poblaciones de Port Moresby y Weam (ambos al sur de NG) los valores son negativos de alta magnitud (Tabla 5).

**Tabla 5. Estadísticos de genética poblacional de la especie *Philidris* sp. 8.**

<b>Población</b>	<b>n</b>	<b>S</b>	<b>H</b>	<b>Hd</b>	<b><math>\pi</math></b>	<b><math>\theta_w</math></b>	<b>D'</b>	<b>F's</b>	<b>A</b>
Solomon	2	7	2	1	0.02	0.01			1.75
Bougainville	3	12	2	0.67	0.02	0.02			1.63
Bismarck Archipiélago	6	8	5	0.93	0.01	0.01	-0.62	-1.20	1.56
Port Moresby	5	7	5	1	0.01	0.01	-0.33	-2.12	1.57
Lembena	6	7	2	0.33	0.01	0.01	-1.39	3.36	1.55
Yawan	14	13	5	0.79	0.01	0.01	-0.01	1.96	1.54
Nagada	15	4	4	0.74	0.003	0.002	0.72	0.60	1.52
Weam	14	8	7	0.82	0.01	0.01	-0.30	-1.63	1.53
Wanang	4	4	2	0.50	0.004	0.01	-0.78	2.20	1.58
Iron Range	12	10	6	0.76	0.01	0.01	-0.46	-0.35	1.53
Total	81	46	32	0.95	0.01	0.02	-1.47	-13.64	

Los resultados incluyen el número de individuos en la población (**n**), la proporción de sitios segregantes (**S**) el número de haplotipos (**H**), la diversidad haplotípica (**Hd**), la diversidad nucleotídica ( **$\pi$** ), la tasa de mutación poblacional ( **$\theta_w$** ), estimador D de Tajima (**D'**), la F's de Fu (**F's**) y la riqueza alélica (**A**) para cada población. El total registra el conjunto total de las poblaciones como si se tratase de una sola población. Los espacios en blanco indican valores que no se pudieron estimar por el reducido tamaño poblacional.

**Tabla 6. Diferenciación genética (valores de  $F_{ST}$  pareados) entre poblaciones de la especie *Philidris* sp. 8.**

<b>Población</b>	Bougainville	Bismarck Archipelago	Port Moresby	Lembena	Yawan	Nagada	Weam	Wanang	Iron Range
Solomon	0.03	0.07	<b>0.11</b>	<b>0.10</b>	<b>0.10</b>	<b>0.10</b>	<b>0.09</b>	<b>0.10</b>	<b>0.10</b>
Bougainville		0.01	0.07	0.06	0.07	0.06	0.04	0.06	0.06
Bismarck Archipelago			0.07	0.06	0.08	0.06	0.05	0.06	0.06
Port Moresby				0.03	0.06	0.03	0.03	0.03	0.03
Lembena					0.04	0.01	0.03	0.004	0.02
Yawan						0.04	0.04	0.05	0.05
Nagada							0.02	0.01	0.02
Weam								0.02	0.02
Wanang									0.02

Las negritas indican los valores de diferenciación poblacional de las Islas Salomón con el resto, que corresponde a los valores más altos de  $F_{ST}$  pareados.

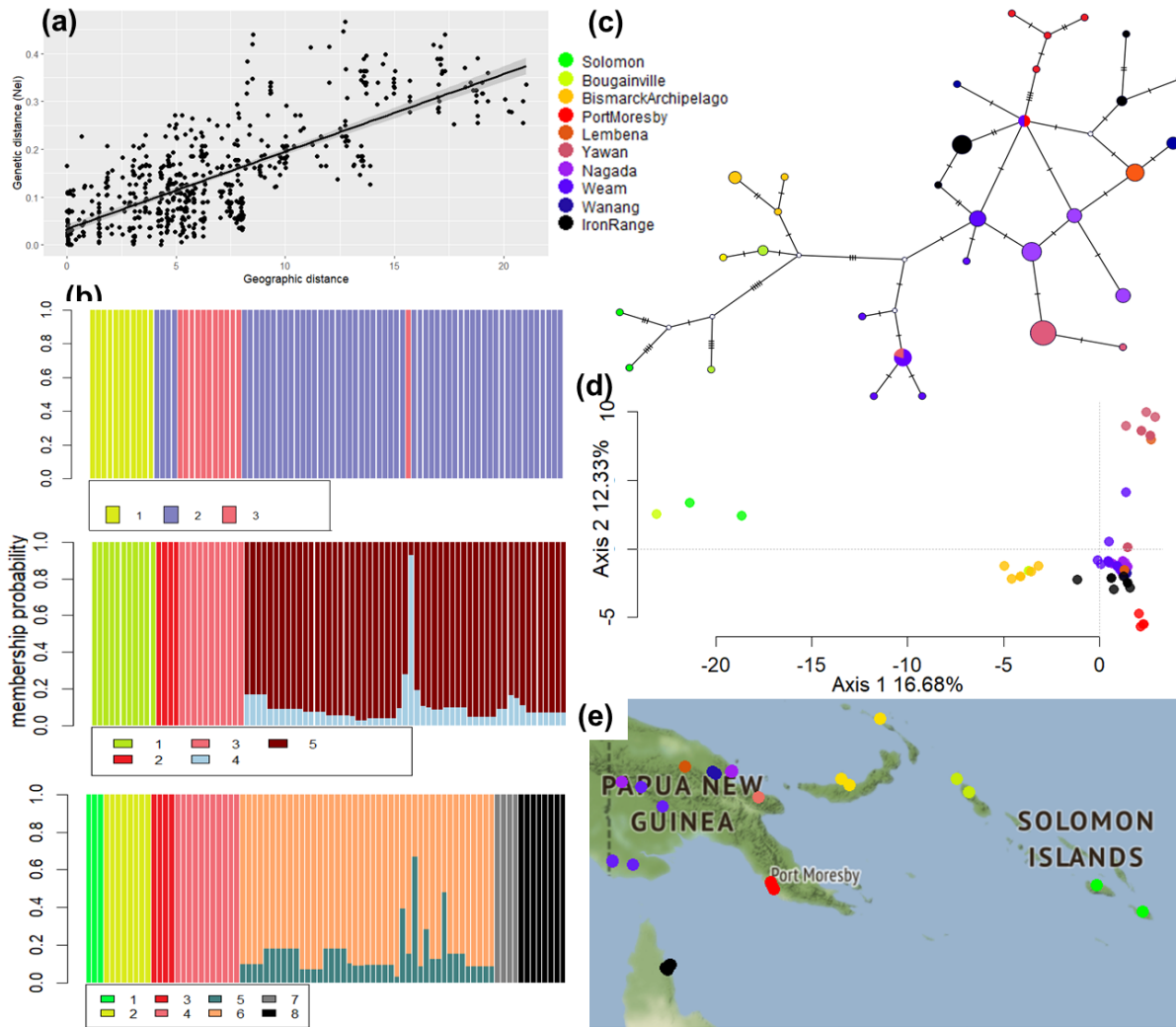
Los valores de  $F_{ST}$  variaron entre 0.004 y 0.113, los valores de mayor diferenciación genética se encontraron al comparar la población de las Islas Salomón con el resto de las poblaciones (Tabla 6). El AMOVA mostró que alrededor del 37% de la variación genética del marcador utilizado se encuentra entre individuos y el 63% entre las poblaciones, siendo significativo ( $p=0.0001$ ), lo que sugiere una estructuración genética (Tabla 7). En el análisis de IBD se encontró una correlación significativa fuerte entre la distancia genética y la distancia geográfica (Obs = 0.74,  $p = 0.0001$ ) (Fig. 10a).

**Tabla 7. Análisis de varianza molecular en poblaciones de la especie *Philidris* sp. 8.**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de variación	% de variación	Valor de p
Entre poblaciones	9	382.17	5.07	<b>62.64</b>	<b>&lt;0.01</b>
Dentro de poblaciones	71	214.59	3.02	<b>37.36</b>	<b>&lt;0.01</b>
Total	80	596.76	8.09	100	

Las negritas indican valores significativos ( $p<0.05$ ).

Los primeros dos ejes del PCA acumularon un total de 29.01% de varianza, mientras que el análisis de DAPC acumuló un total de 89.8% de la varianza reteniendo 12 componentes principales. Los análisis de PCA y de DAPC muestran una tendencia de diferenciación entre las poblaciones preestablecidas siendo las poblaciones de las Islas Salomón y de Bougainville las poblaciones más diferenciadas, éstas poblaciones pertenecen a las especies *Philidris myrmecodiae* y *Philidris* sp. 7 según la delimitación de especies de cinco genes; otras poblaciones diferenciadas pertenecen a las localidades de Yawan (noreste de NG), Port Moresby (sureste de NG) y Iron Range (norte de Australia) (Fig. 10bde). La configuración de la red de haplotipos muestra muchos haplotipos de bajas frecuencias, con un total de 32 haplotipos, más de la mitad de los haplotipos se encuentran exclusivamente en uno o dos individuos (Fig. 10ce). El haplotipo con mayor frecuencia (12) incluye individuos de la población de Yawan (noreste de NG), seguido de los haplotipos de las poblaciones de Nagada (noroeste de NG) y de Iron Range (norte de Australia) con una frecuencia de ocho cada uno (Fig. 10ce). Las poblaciones de las Islas Salomón y archipiélago Bismarck formaron grupos separados (Fig. 10ce).



**Figura 10. Estructura genética poblacional de la especie *Philidris* sp. 8. Estructura poblacional de la especie *Philidris* sp. 8. (a) Análisis de aislamiento por distancia (IBD), los resultados indican una fuerte correlación entre la distancia geográfica y la distancia genética (prueba Mantel, Obs = 0.74,  $p = 0.0001$ ), la línea es una regresión lineal simple con el intervalo de confianza del 95 % sombreado con fines de visualización. (b) Análisis Discriminante de Componentes Principales, utilizando 12 PC, con un 89.8% de varianza y números de clusters igual a 3, 5 y 8. (c) Red de haplotipos con el método TCS, el tamaño de los círculos indican la frecuencia de los haplotipos. (d) Análisis de componentes principales (PCA) de las poblaciones de *Philidris* sp. 8, los primeros dos ejes acumularon 29.01% de variación; se muestra la agrupación de los individuos, representados por los puntos. (e) Mapa de las localidades de muestreo para cada población.**

## DISCUSIÓN

### Delimitación de especies

Aunque las primeras especies del género *Philidris* fueron descritas desde hace mucho tiempo, por ejemplo: *Philidris cordata* (Smith, 1859), *Philidris cruda* (Smith, 1859) y *Philidris myrmecodiae* (Emery, 1887); el género como tal es relativamente reciente (Shattuck, 1992). La falta de una adecuada revisión sistemática y la descripción descoordinada de las especies tipo en los últimos 150 años ha resultado en un caos taxonómico con límites y distribuciones de las especies mal definidos. Las delimitaciones de especies basadas en la matriz de cinco genes recuperaron entre 10 y 14 MOTUs, según el método utilizado (Fig. 5). Las delimitaciones de especies basadas en cinco genes mostraron inconsistencias en las especies *Philidris* sp. 3 – 6 (Fig. 5). La especie *Philidris* sp. 3 se separó en dos especies con los métodos bPTP y GMYC, uno de los clados contiene individuos pertenecientes a las poblaciones de Mianmin (centro de NG) y Okapa (este de NG); mientras que, el otro contiene únicamente dos ejemplares de la localidad de Mianmin (centro de NG) (Fig. 5). *Philidris* sp. 4 se dividió en dos clados por los métodos bPTP y mPTP, uno del noreste (Madang) y el otro del sur de NG y el norte de Australia (Fig. 5). *Philidris* sp. 5 se dividió en dos grupos por bPTP y mPTP, aunque uno de los clados está integrado únicamente por un espécimen de la localidad de Kaiangabip (centro de NG) y el otro clado contiene especímenes distribuidos por todo NG (Fig. 5). La especie *Philidris* sp. 6 se separó en dos clados por los métodos bPTP y mPTP, uno de los clados contiene especímenes de Borneo, Java y el sur de Tailandia; y el otro clado un espécimen de Borneo, Timor y Singapur (Fig. 5).

Esta incongruencia en la delimitación de especies coincide con muchos estudios que han mostrado resultados inconsistentes entre diferentes enfoques de delimitación utilizando el mismo marcador (Carstens et al. 2013; Luo et al. 2018; Ranasinghe, et al. 2022). La delimitación de especies puede resultar en una división excesiva de especies, especialmente cuando presentan una estructura geográfica alta o ubicaciones geográficas de muestreo de los especímenes muy distantes que

resultan en aislamiento (Chambers & Hills, 2020; Luo et al. 2018; Magoga et al., 2021; Sukumaran & Knowles, 2017; Ranasinghe, et al. 2022). Así mismo, un alto número de haplotipos por especie o la presencia de variación intraespecífica muy alta generalmente conlleva dificultades en la delimitación de especies (Magoga et al., 2021). La discordancia en los métodos de delimitación también puede ser producto de la especiación reciente, la clasificación o selección incompleta del linaje y las diferencias atribuidas a los métodos de delimitación para detectar especies crípticas (Carstens et al. 2013; Luo et al., 2018; Shults et al., 2022). En *Philidris* la diferencia en el número de especies delimitadas se podría explicar por la estructuración geográfica, la clasificación incompleta del linaje y probablemente algunos eventos de especiación recientes. Además, el tamaño de la muestra influye en los resultados de los métodos de delimitación y en la mayoría de los métodos de delimitación las muestras deben de estar balanceadas (Luo et al., 2018; Magoga et al., 2021; Ranasinghe, et al. 2022). En el caso de este estudio, algunas especies tenían un mayor número de muestras, estas especies se dividían excesivamente; por lo que, se tuvo que balancear el conjunto de datos para que el tamaño de muestra fuera más similar entre especies, tratando de perder lo menos posible de variación intraespecífica.

También se debe de considerar la idoneidad de los modelos utilizados para delimitar especies teniendo en cuenta las características específicas del taxón (por ejemplo, la variación en el tamaño efectivo poblacional, tiempo de divergencia, tasa de mutación, la capacidad de dispersión) (Luo et al. 2018; Magoga et al., 2021; Ranasinghe, et al. 2022). En los estudios de delimitación de especies se requiere precaución con respecto a conclusiones prematuras en la descripción de especies. Para llegar a resultados concluyentes, se sugiere aplicar varios métodos de delimitación de especies, depositar la confianza en las delimitaciones que sean congruentes entre métodos y que las inferencias extraídas de los estudios de delimitación sean conservadoras (Carstens et al. 2013; Magoga et al., 2021; Ranasinghe, et al. 2022; Sukumaran & Knowles, 2017).

Nuestros análisis de delimitación con cinco genes y la delimitación de Pérez-Flores et al. (2023, en preparación) utilizando UCE's difirieron en la especie *Philidris* sp. 8 (Fig. 5, 6). En el análisis de Pérez-Flores et al. (2023, en preparación) se recupera una única especie mientras que, en nuestro análisis se separa en tres especies: una restringida a las Islas Salomón, la segunda en Bougainville y el Archipiélago Bismark y la tercera distribuida en NG y el norte de Australia (Fig. 5, 6). Existen desafíos para determinar qué genes o marcadores moleculares son los más útiles para delimitar especies (Carstens et al. 2013; Williams et al., 2022), ya que dependiendo del marcador elegido se pueden capturar diferentes procesos evolutivos (Ranasinghe, et al.; 2022). Por lo tanto, utilizamos la delimitación de especies de UCE's para determinar las especies en los análisis de genética poblacional, ya que los datos genómicos proporcionan una mayor cantidad de información genética para determinar la historia evolutiva y el estado taxonómico de las especies (Sukumaran & Knowles, 2017). Además, los loci de UCE's proporcionaron los conteos de especies más conservadores y consistentes con nuestras especies preestablecidas. Sin embargo, el dilema entre el número de loci y el tamaño de muestra (Carstens et al. 2013; Sukumaran & Knowles, 2017) es evidente al tener pocos especímenes en la delimitación de especies de UCE's que abarca un gran número de genes, en comparación con el de cinco genes con 117 especímenes del género.

El análisis de delimitación de especies brinda un parteaguas para futuros trabajos enfocados a la sistemática y evolución del género, así como en la interacción con sus plantas epífitas anfitrionas. Los resultados sugieren que la delimitación es de al menos ocho especies y que nuestro muestreo abarca varias especies no descritas o que las especies descritas representan variantes geográficas. Por lo tanto, se sugiere una revisión taxonómica del género que integre un muestreo más amplio, una mayor cantidad de marcadores moleculares y datos morfológicos, ecológicos y de comportamiento para llegar a para llegar a conclusiones definitivas en la delimitación de especies y resolver la situación de cada una de las especies (Carstens et al. 2013; Jin et al., 2017; Luo et al., 2018; Shults et al., 2022).

## Reconstrucción filogenética y biogeográfica

En este estudio se realizó una reconstrucción filogenética con los datos moleculares más completos del género *Philidris* hasta la fecha, con un muestreo taxonómico enfocado principalmente en NG y las islas del Pacífico Sur, contribuyendo para futuros trabajos en la evolución de este género de hormigas. La reconstrucción filogenética brinda un fuerte soporte de la monofilia del género (Fig. 5, 6, 7; Fig. Sup. 1, 2, 4), lo que concuerda con estudios anteriores (Chomicki et al. 2017; Economo et al. 2018). Se recuperó al género *Ochetellus* como grupo hermano con ambos sets de datos (Fig. 5, 7, mientras que, otros estudios recuperaron a *Turneria* como grupo hermano (Chomicki et al., 2017; Economo et al. 2018; Ward et al., 2010). En el árbol de cinco genes, el género *Anonychomyrma* fue grupo hermano de *Ochetellus* (+ *Philidris*) (Fig. 5) por otro lado, en el árbol de COI fue grupo hermano de *Iridomyrmex* (+*Ochetellus* (+ *Philidris*)) (Fig. 7).

La topología dentro del género *Philidris* recuperó todas las especies definidas en la delimitación de cinco genes (Fig. 5, 7). La topología entre los árboles varió en la relación de *Philidris myrmecodiae* con *Philidris* sp. 6 y el resto (*Philidris* sp. 7 y *Philidris* sp. 8) ya que en la reconstrucción de cinco genes se reconstruyeron como grupos hermanos ((*P. myrmecodiae* + *Philidris* sp. 6) + el resto) y en la de COI la especie *Philidris* sp. 6 se muestra dentro de *P. myrmecodiae* (*P. myrmecodiae* + (*Philidris* sp. 6 + el resto)) (Fig. 5, 7); lo que puede deberse a una clasificación incompleta de linajes o la falta de muestreo conduciendo a la incongruencia en las topologías de genes y especies (Luo et al., 2018). Además, en el árbol de COI la muestra CASENT0200369 se recuperó como grupo hermano de *Philidris* sp. 2 + el resto, para esta muestra sólo se obtuvo la secuencia de COI (Fig. 7, Fig. Sup. 4), por lo que no está representada en las delimitaciones, de forma que se requiere un muestreo más amplio para que esté representada en futuros estudios.

La topología interna recuperada muestra eventos de divergencia sucesivos, (Fig. 5, 7). El tamaño de las ramas cortas y los resultados de la reconstrucción biogeográfica sugieren una divergencia y especiación acelerada, que se relaciona con una rápida expansión y probablemente diferentes adaptaciones ecológicas,



como la preferencia de hábitat o la preferencia de las plantas hospederas. La topología del árbol no se alinea completamente con la geografía, ya que la mayoría de las especies están distribuidas en NG (Fig. 1, 4, 8), esta superposición geográfica sugiere que la divergencia pudo resultar en la adaptación ecológica (Ranasinghe, et al. 2022). Las características ecológicas podrían estar explicados por la estrecha relación de las hormigas *Philidris* con las plantas epífitas, que tienen tiempos de divergencia estimados que coinciden con los de las hormigas (Chomicki et al., 2016, 2017, 2019); así como la preferencia de hábitat, segregación altitudinal o comportamientos que se ha demostrado en otros géneros de hormigas (*Acropyga acutiventris*, Janda et al., 2016; *Prenolepis*, Matos-Maraví et al., 2018).

El estudio de Ward et al. (2010) indica que probablemente el género *Philidris* se originó en Australia hace 17 Ma, debido a la relación filogenética con los géneros *Iridomyrmex*, *Turneria* y *Ochetellus*. Por otro lado, en el estudio de Economo et al. (2018) se estimó un origen hace 29.63-27.04 Ma y en el de Chomicki et al. (2017) de 13.2 Ma. Pérez-Flores et al. (2023, en preparación) estimó los tiempos de divergencia, sugiriendo el origen del género hace 24.1-12.5 Ma y el origen de la mayoría de las especies entre 14.6 y 6.1 Ma. Nuestro análisis sugiere el origen del género en Australia y NG, seguido de eventos de dispersión hacia otras regiones y que la mayoría de las especies en este estudio se originaron en NG (Fig. 8). Sin embargo, actualmente no se cuenta con evidencia fósil que apoye alguna hipótesis sobre el tiempo y lugar de origen.

La especie *Philidris* sp. 1, con distribución en el norte de Australia, se recuperó como la especie divergente más temprana, siendo hermana del resto (Fig. 5, 6, 7, 8). El análisis biogeográfico infirió un origen de *Philidris* sp. 1 en NG y Australia (Fig. 8), lo que coincide con estudios anteriores de sistemática y taxonomía, donde reportan a la especie *Philidris cordata* en la región de Australia y NG (AntWeb, 2023; Forel, 1893; Shattuck, 1995; Volp & Lach 2019).

Posteriormente, la especie *Philidris nagasau* se muestra como un linaje separado y hermano del resto de especies (Fig. 5, 6, 7). Los resultados indican que *P. nagasau* es un linaje endémico en Fiji, lo que coincide con varios estudios que

reportan únicamente a esta especie del género distribuida en Fiji (AntWeb, 2023; Bolton 2022; Chomicki et al., 2016, 2017, 2019, 2020; Mann, 1921; Pu et al. 2021; Tafoya-Alvarado, 2016). Se reconstruyó un evento de dispersión hacia Fiji que dividió al *P. nagasau* entre 15-10 Ma, con un área ancestral en NG (Fig. 8). Esta dispersión hacia Fiji puede ser explicada por el modelo del Arco Vitiaz que propone la existencia de un archipiélago relativamente continuo de tierra subárea extendido a lo largo de Proto-Papúa, las Islas Salomón, Vanuatu y Fiji que duró hasta hace 10 Ma, prediciendo dispersiones tempranas por stepping stone (Hall, 2002; Matos-Maraví et al., 2018). Posteriormente, el flujo genético restringido causado por las grandes distancias entre las poblaciones de hormigas y la ruptura de este continuo de tierra subaérea resultó en la divergencia y especiación de *P. nagasau*. Varios estudios de filogenias calibradas apoyan la idea de una colonización de Fiji en el Mioceno medio desde NG o el sudeste asiático (Balke et al., 2007; Economo et al., 2015; Lucky & Sarnat, 2010; Sarnat & Moreau, 2011), incluido el grupo de hormigas *Prenolepis* (Matos-Maraví et al., 2018). Nuestros resultados no coinciden con la datación del estudio de Chomicki et al. (2017), que calculó el origen de *P. nagasau* hace 3.5 Ma, durante la exposición de tierra (Matos-Maraví et al., 2018)

Las subsecuentes cuatro especies *Philidris* sp. 2 - 5 divergieron entre 12-6 Ma y compartieron un ancestro común más reciente de NG (Fig. 8). Estas cuatro especies tienen distribución en NG, con excepción de *Philidris* sp. 4 que también se distribuye en el norte de Australia. Nuestros resultados sugieren que este grupo de especies tuvo eventos rápidos y recientes de especiación. Este resultado coincide con otros estudios que reportan un incremento en la tasa de especiación en la región durante el Mioceno tardío, como en el caso de las mariposas del género *Delias* (Muller et al., 2012) y las hormigas *Prenolepis* (Matos-Maraví et al., 2018) y *Acropyga* (Janda et al., 2016). En casos donde existe una considerable superposición geográfica entre algunas especies del mismo género la divergencia pudo resultar de la adaptación ecológica (Ranasinghe, et al. 2022), por la interacción con las plantas, la preferencia de hábitat o algún otro factor.

Por otro lado, la especie *Philidris* sp. 6 tiene una distribución en las regiones Indomalaya y Timor, con un área ancestral en NG (Fig. 8), por lo que pudo expandirse directamente por Indonesia, Timor y Molucas hasta Borneo, Singapur y el sudeste de Asia continental. Nuestros resultados coinciden con el estudio de Chomicki et al. (2017) que plantea que *Philidris* colonizó la región Indomalaya y Timor-Molucas hace alrededor de 10 Ma. Este patrón de colonización de NG a las islas del sudeste asiático y el sudeste de Asia continental también se reportó en las mariposas *Delia* (Muller et al., 2012).

Para el último clado se recuperaron dos grupos, con un tiempo de divergencia de 7-4 Ma, el primero representa poblaciones en NG e Islas Salomón (incluyendo Bougainville) y el segundo con distribución en NG y Australia (Fig. 8). Las expansiones del rango de distribución que han ocurrido en los últimos 5 Ma, coinciden con la orogenia y exposición de la tierra en estas regiones durante el Mioceno tardío y el Plioceno (Matos-Maraví et al., 2018). Además, esta colonización de NG hacia las Islas Salomón o hacia Australia pudo deberse a que durante el Plioceno el nivel del mar estaba por debajo de los niveles actuales, de forma que los puentes terrestres permitieron que las especies terrestres se desplazaran (Janda et al., 2016; Voris 2000). La colonización reciente desde NG hacia Salomón y Vanuatu también se encontró en hormigas *Camponotus* (Clouse et al., 2014).

## **Diversidad y estructura genética poblacional**

### Estructura poblacional de *Philidris* sp. 5

Los valores de  $F_{ST}$  pareados entre 0.0011 y 0.1197 (Tabla 3) corresponden con valores reportados en otros estudios de hormigas con base en el gen COI, variando entre valores de baja, moderada y fuerte diferenciación genética (Sanetra & Crozier, 2003; Suni & Gordon; 2010). Los valores de  $F_{ST}$  pareados indican baja diferenciación genética entre las poblaciones, con excepción de la población de Fogomaiu (sur de NG), cuyos valores oscilan entre 0.09 y 0.12 con el resto de las

poblaciones (Tabla 3), sugiriendo que esta población está diferenciada de las demás.

Al encontrar alrededor del 65% de la variación entre las poblaciones se sugiere la presencia de estructura genética poblacional en esta especie (Tabla 4). El análisis de DAPC indicó el número de clusters más probable igual a 2 (Fig. 9c), esto podría ser por un artefacto de la propensión de delta K que infiere dos poblaciones (Janes et al., 2017) o por un alto nivel de parentesco entre los individuos. El número de grupos genéticos inferido por el análisis de DAPC  $k = 2$ , los valores de  $F_{ST}$  y la separación de la población de Fogomaiu (sur de NG) en el PCA y en la red de haplotipos sugieren que existe una gran cantidad de flujo genético entre las poblaciones con excepción para Fogomaiu (sur de NG), que parece estar aislada y se encuentra diferenciada del resto (Fig. 9, Tabla 3). El análisis de aislamiento por distancia (IBD) mostró una nula correlación entre las distancias genéticas y geográficas (Fig. 9a), indicando una cantidad sustancial de flujo genético entre las poblaciones de *Philidris* sp. 5. La falta de IBD, por lo tanto, no es indicativo de una sola población genéticamente homogénea, sino que puede estar derivado por la divergencia de la población de Fogomaiu del resto poblaciones, independientemente de sus distancias geográficas (Shults et al., 2022). Esta diferenciación puede ser debido a un aislamiento por adaptación o por ambiente (Shults et al., 2022) o por alguna barrera geográfica. La división de la población de Fogomaiu con el resto de las poblaciones podría ser por la Cordillera Central que se elevó entre 4.7 y 5.8 Ma, que separa las tierras bajas del norte de las tierras bajas del sur de NG (Haig & Medd 1996; Hill & Gleadow 1989). El efecto de este sistema montañoso como barrera geográfica está documentado en la especie de hormigas *Acropyga acutiventris* (Janda et al., 2016) y *Prenolepis* (Matos-Maraví et al., 2018) y el ave *Cracticus quoyi* (Kearns et al. 2011); en ambos casos la divergencia de las poblaciones del sur y del norte fue más reciente al levantamiento de la cordillera. Alternativamente, esta alta diferenciación genética de la población de Fogomaiu con las poblaciones restantes de NG puede ser indicativo de otra especie críptica; sin embargo, el análisis de delimitación de especies no sugirió establecer a la población

de Fogomaiu como una especie separada, probablemente debido a que algunos haplotipos son compartidos con otros sitios.

Una diversidad nucleotídica baja en combinación de una alta diversidad haplotídica (Tabla 2) y la presencia de uno o pocos haplotipos dominantes y varios haplotipos de baja frecuencia con pocas conexiones en la especie *Philidris* sp. 5 (Fig. 9d) dan indicios de un crecimiento poblacional rápido a partir de una población con un tamaño efectivo poblacional bajo. Es decir que, debido a un cuello de botella o efecto fundador se redujeron los tamaños poblacionales provocando la pérdida de haplotipos y de la variación genética, seguido de una rápida expansión poblacional con el surgimiento de nuevos haplotipos derivados por mutación. Este patrón puede ocurrir cuando pocos individuos de una población colonizan nuevas localidades o ambientes donde posteriormente ocurren expansiones poblacionales rápidas; o bien, la pérdida de alelos pudo deberse a otros factores geológicos, climáticos o ambientales, como la orografía reciente de la región o las oscilaciones climáticas durante el Cuaternario (Berman et al., 2016).

#### Estructura poblacional de *Philidris* sp. 8

Una diversidad nucleotídica baja en combinación de una alta diversidad haplotídica (Tabla 5) es indicativo de un crecimiento poblacional rápido a partir de una población con un tamaño efectivo poblacional bajo. Los valores negativos de alta magnitud de  $F's$  en las poblaciones de Port Moresby y de Weam (ambas al sur de NG) (Tabla 5) sugieren que sufrieron una expansión poblacional. Así mismo, la configuración de la red de haplotipos con un gran número de haplotipos de muy baja densidad (Fig. 10c) sugiere una expansión poblacional reciente con el surgimiento de nuevos haplotipos por mutación. Estas reducciones y expansiones poblacionales pueden deberse a un efecto fundador seguido de un crecimiento poblacional rápido u otros factores geológicos, climáticos o ambientales, como las oscilaciones climáticas del cuaternario, la variación en el nivel del mar, la orografía y las expansiones y contracciones de los ecosistemas tropicales (Berman et al., 2016).

El AMOVA mostró que el 63% de la variación genética se encuentra entre las poblaciones (Tabla 7), sugiriendo la estructuración genética de las poblaciones de la especie *Philidris* sp. 8. En el análisis de IBD encontramos una fuerte correlación entre la distancia geográfica y la distancia genética (Fig. 10a), sugiriendo que la estructuración genética podría ser producto del aislamiento por distancia, ya que poblaciones más cercanas tienden a ser más similares genéticamente. Los valores de  $F_{ST}$  entre 0.0041 y 0.1131 (Tabla 6) corresponden con valores reportados en otros estudios de hormigas basados en el gen COI, variando entre valores de baja, moderada y fuerte diferenciación genética (Sanetra & Crozier, 2003; Suni & Gordon, 2010). La población de las islas Salomón obtuvo los valores más altos de diferenciación genética (Tabla 6), esta población también corresponde a la más alejada geográficamente respecto a las demás poblaciones (Fig. 10). Este patrón de aislamiento por distancia también se ha encontrado en las hormigas *Acropyga* (Janda et al., 2016), *Leptomyrmex pallens* (Berman et al., 2016), *Myrmecia pilosula* (Qian et al., 2012) y *Nothomyrmecia macrops* (Sanetra & Crozier, 2003) en la región de estudio; sugiriendo un flujo genético limitado por la distancia (Berman et al., 2016) y, en algunos casos se ha atribuido a la restricción en la dispersión de las hormigas reinas (Janda et al., 2016; Qian et al., 2012).

El DAPC, el PCA y la red de haplotipos muestran una estructuración genética donde las poblaciones de islas Salomón, de Bougainville y del archipiélago Bismarck son las poblaciones más diferenciadas y divergentes del resto (Fig. 10), indicando una limitación en la dispersión y flujo genético, probablemente por el aislamiento geográfico. La población de las islas Salomón corresponde a un linaje en la delimitación de especies de cinco genes, las poblaciones de Bougainville y del archipiélago Bismarck se separan en otro linaje y el resto de *Philidris* sp. 8 como un tercer linaje (Fig. 5); mientras que, la delimitación con UCE's los capturó como la misma especie (Fig. 7). Las poblaciones podrían estar en proceso de especiación o haberlo atravesado recientemente, por lo que al utilizar distintos marcadores moleculares y métodos de delimitación no se encuentra coincidencia en la delimitación de especies (Carstens et al. 2013; Luo et al., 2018; Shults et al., 2022). Sin embargo, sí se logra capturar una clara diferenciación y altos niveles de

divergencia en estas poblaciones (Fig. 10, Tabla 6). Otra posibilidad es que no se ha realizado una clasificación adecuada, al ser un grupo poco estudiado y el muestreo de islas Salomón, Bougainville y del archipiélago Bismarck no logren capturar la variación intra e interespecífica, lo que dificulta que los modelos realicen inferencias adecuadas de delimitación. Por lo tanto, se recomienda centrar esfuerzos de muestreo en estas localidades, permitiendo enfoques más sólidos para comprender mejor la evolución de este grupo.

Los resultados de los análisis de DAPC y PCA también muestran una diferenciación de las poblaciones de Yawan (noreste de NG), Port Moresby (sureste de NG) y Iron Range (norte de Australia), que coincide con que presentan una distancia geográfica considerable entre sí (Fig. 10). Esta diferenciación moderada entre poblaciones del norte y el sur de NG por barreras geográficas (como la Cordillera Central) y/o restricciones ecológicas está documentada en las hormigas *Acropyga acutiventris* (Janda et al., 2016) y *Prenolepis* (Matos-Maraví et al., 2018) y el ave *Cracticus quoyi* (Kearns et al. 2011). La conexión entre el norte de Australia y el sur de NG depende del taxón muestreado (Janda et al., 2016); mientras que, en unas especies parece que tuvieron flujo genético ocasionalmente durante las fluctuaciones climáticas y del nivel del mar durante el Pleistoceno (por ejemplo, *Probosciger aterrimus*, Murphy et al. 2007; *Pseudonaja textiles*, Williams et al. 2008), otras prácticamente no tuvieron conexión (por ejemplo, los marsupiales, Macqueen et al. 2011; *Cracticus quoyi*, Kearns et al. 2011). La diferenciación moderada entre poblaciones del sur de NG con el norte de Australia de la especie *Philidris* sp. 8 se podría atribuir al poco flujo genético a través de la barrera geográfica de Torres Strait, así como los altos niveles del mar en el último millón de años (Kearns et al. 2011); con algunas conexiones e intercambio genético ocasionales durante las fluctuaciones climáticas del Pleistoceno.

El ADN mitocondrial, y en específico el gen citocromo oxidasa (COI), es ampliamente utilizado en la identificación de especies, estudios filogenéticos, filogeográficos y de genética poblacional debido a la herencia uniparental (por parte de la madre), la falta de recombinación y el arreglo de regiones conservadas y

regiones con tasas mutacionales relativamente altas (Azuma et al., 2006; Erguiarte et al., 2007; Freeland et al., 2011; Hajibabaei, et al., 2007). Sin embargo, los resultados de provenientes de otros marcadores nucleares como microsatélites o SNP's (single nucleotide polymorphism) pueden diferir por las diferencias en los modos de herencia, la tasa mutacional y la variabilidad genética (Sanetra & Crozier, 2003). De esta manera, el uso de un solo marcador molecular es limitante, por lo que se requiere el uso de múltiples marcadores moleculares microsatélites, SNP's o incluso información de genomas completos para describir, estimar y analizar la estructuración genética y demografía de las poblaciones de manera precisa.

El PCA es uno de los métodos multivariados más utilizados para visualizar relaciones entre muestras, explorar patrones de variación genética e inferir la estructura poblacional con base en marcadores moleculares, con tiempos de ejecución cortos (Intarapanich et al., 2009; Kumasaka et al. 2010; Qin et al. 2022; Thia, 2023; Yi & Latch, 2022). Sin embargo, el PCA no permite datos faltantes, por lo que se tiene que reducir el conjunto de datos eliminando sitios o individuos, o utilizar el valor medio del genotipo del conjunto de datos, perdiendo poder analítico (Meisner et al., 2021; Yi & Latch, 2022). Con el primer enfoque se puede perder variación e información crucial para los análisis y, en el segundo, los datos faltantes inferidos ya no serán informativos y no representarán la estructura poblacional al ser modelados y sesgados como el promedio del conjunto de datos (Meisner et al., 2021; Yi & Latch, 2022). Es más probable que los datos faltantes se muestren en especies no modelos, donde las cantidades y calidades de las muestras (por el muestreo, conservación, extracción de ADN y secuenciación) tienden a generar datos faltantes (Yi & Latch, 2022). El PCA puede carecer de poder suficiente para detectar estructura poblacional en conjuntos de datos pequeños (Kumasaka et al. 2010) y es sensible a valores atípicos, ya que tiende a preservar las distancias mayores a expensas de las distancias menores en el espacio multidimensional (Yi & Latch, 2022; Zhang 2010). Así mismo, cuando las poblaciones están ligeramente estructuradas o existe alguna población subestructurada, la visualización de los primeros componentes principales puede no ser útil, ya que los primeros ejes



enfatan los patrones globales de los datos y la subestructura aparece en PC de menor rango (Intarapanich et al., 2009; Kumasaka et al. 2010; Zhang 2010).

El DAPC brinda una idea de la estructura poblacional desde un punto de vista probabilístico, asignando probabilidades posteriores de que un individuo pertenezca a algún grupo, inferidas a partir de los componentes principales, analizando los datos de manera rápida y eficiente (Jombart & Collins, 2015; Kumasaka et al. 2010; Miller et al, 2020; Qin et al. 2022; Thia, 2023). La asignación de grupos a priori puede afectar los resultados de la asignación a los grupos genéticos, sobre todo cuando los datos no han sido explorados (Qin et al. 2022). El DAPC también falla en inferir estructura poblacional sutil o asignar pertenencias a subpoblaciones (Qin et al. 2022). Así, el análisis de discriminantes tiende a maximizar la variación entre grupos y minimizar la variación dentro los grupos (Miller et al, 2020; Qin et al. 2022; Thia, 2023). De forma que, el intercambio genético puede representar un gran desafío para el DAPC y conducir a representaciones incorrectas de la estructura genética (Qin et al. 2022).

Es necesario considerar los posibles efectos de los datos faltantes, el tamaño del conjunto de datos, la presencia de valores atípicos, la asignación de grupos a priori y las características y poder de los métodos para una interpretación precisa de los resultados. Por lo tanto, se sugiere el uso de análisis complementarios que brinden resultados consistentes para describir la estructura poblacional. En este estudio, la estimación de los valores de  $F_{ST}$ , los análisis de AMOVA, IBD, PCA, DAPC y la red de haplotipos revelan resultados consistentes en la estructuración genética de las especies *Philidris* sp. 5 y *Philidris* sp. 8 con base en el marcador molecular COI.

## **DESAFÍOS Y PERSPECTIVAS FUTURAS**

Aunque el conjunto de herramientas disponible para estudiar la especiación y delimitación de especies ha crecido en los últimos años y se siguen desarrollando y examinando nuevos métodos y fuentes de datos para la detección de los límites

de las especies, hasta el momento no existe un método infalible para la delimitación de especies, aun utilizando datos genómicos (Carstens et al., 2013, Ranasinghe, et al. 2022; Sukumaran & Knowles, 2017; Williams et al, 2022). Los avances tecnológicos para recopilar datos genómicos permiten la incorporación de un mayor número de loci para los estudios filogenéticos y detectar los límites de especies y la estructura poblacional de manera más fina (Sukumaran & Knowles, 2017). Uno de los mayores obstáculos es el muestreo limitado de taxones, especialmente de especies poco estudiadas (Williams et al, 2022). Adicionalmente, la naturaleza inherente a las especies (como las fluctuaciones en tamaño efectivo poblacional, capacidad de dispersión, tasa de mutación y de especiación, rango de distribución) son variables que afectan los enfoques de delimitación y requieren una integración (Ranasinghe, et al. 2022). El enfoque óptimo para resolver los desafíos en la delimitación de especies incluye: un muestreo taxonómico amplio con respecto a la distribución, la genética, la morfología, el comportamiento y la ecología; la aplicación de varios métodos integradores que sean capaces de capturar la variación intraespecífica e interespecífica; y una evaluación meticulosa para determinar los caracteres que ofrecen la mayor utilidad para la delimitación y el diagnóstico de especies (Williams et al, 2022). La delimitación formal de especies debe seguir siendo una prioridad, ya que el reconocimiento de la biodiversidad es el primer paso esencial para la conservación (Williams et al, 2022).

Centrar los esfuerzos de muestreo en este sistema de estudio y en otros organismos de la región permitirá tener enfoques más sólidos para comprender los procesos y patrones de evolución. El estudio de la Región Indo-Australiana es interesante debido a la complejidad, diversidad y niveles de endemismos de la región. Los organismos que se han estudiado no muestran un patrón claro en su historia evolutiva y aún se desconoce la historia de la mayoría de los organismos que habitan en esta región. Además, la evaluación de los escenarios de origen y de colonización con múltiples análisis filogenéticos, biogeográficos, y ecológicos han sido limitados.

Este estudio sentará las bases para futuros trabajos en taxonomía sistemática, ecología, comportamiento y evolución enfocados al modelo de estudio. La diversidad de especies en este estudio debe tomarse como información preliminar para llevar a cabo una investigación taxonómica más exhaustiva, con el uso de más marcadores moleculares (por ejemplo microsátélites o genomas), un muestreo más amplio, y la incorporación de datos morfológicos, ecológicos y de comportamiento para encontrar otras especies crípticas no detectadas aquí, desentrañar mejor la historia evolutiva y los patrones de estructuración genética. Los estudios de la estructura genética poblacional son fundamentales para comprender la ecología, la evolución y delimitar las unidades de manejo y prioridades de conservación especialmente en los sistemas poco estudiados (Yi & Latch, 2022). Se pueden llevar a cabo una gran variedad de estudios para conocer más detalles de la biología del género, su demografía histórica, la coevolución con las plantas y potencialmente otros organismos como bacterias y hongos. Algunas de las preguntas más interesantes podrían abordar cómo los patrones de distribución de las plantas influyen en el sistema reproductivo de las hormigas, la incorporación de modelos demográficos que brinden más información de las contracciones y expansiones poblacionales, realizar reconstrucciones de la preferencia de hábitat o la altitud, modelado de nicho ecológico, entre otras cosas.

## **CONCLUSIONES**

Se realizó una reconstrucción filogenética con los datos moleculares más completos del género *Philidris* hasta la fecha y un análisis de delimitación de especies con varios marcadores moleculares y algoritmos de delimitación. La delimitación de especies con cinco genes recuperó entre 10 y 14 MOTU's, pero se prosiguió a utilizar la delimitación que el análisis de Pérez-Flores et al. (2023, en preparación) con ocho MOTU's, eligiendo los resultados más robustos y conservadores. El género *Philidris* tiene al menos ocho especies, potencialmente podrían tratarse de un mayor número de especies, por lo que se sugiere una revisión

taxonómica más profunda que integre un mayor muestreo, una mayor cantidad de datos moleculares, morfológicos, ecológicos y de comportamiento.

La reconstrucción filogenética recuperó al género *Philidris* monofilético, con el *Ochetellus* como grupo hermano. La especie *Philidris* sp. 1 se recuperó como especie hermana de *Philidris nagasau* + el resto. El área ancestral del género se reconstruyó en Australia y NG hace 16.8 Ma, seguido de eventos de dispersión hacia otras regiones. La divergencia pudo deberse a la expansión en la distribución y a la adaptación ecológica.

Este estudio es el primero en describir patrones de estructura genética de poblaciones de especies del género *Philidris*, encontrando diferentes patrones de estructuración en las especies seleccionadas. En la especie *Philidris* sp. 5, la estructuración genética mostró la diferenciación de la población de Fogomaiu, probablemente por la barrera geográfica de la Cordillera Central. Por otro lado, la estructuración genética de *Philidris* sp. 8 estuvo fuertemente impulsada por la distancia; se encontraron tres poblaciones con altos niveles de divergencia que podrían tratarse de diferentes especies. Ambas especies muestran evidencia de rápidas y recientes expansiones poblacionales.

Este trabajo podría tomarse como base para futuros estudios en ecología y evolución en el género *Philidris*, siendo un modelo de estudio potencialmente relevante en interacciones, comportamiento y coevolución. Se requiere una revisión taxonómica más profunda del género que integre una amplia gama de información para tener una mejor aproximación en los estudios de interacciones y coevolución con sus plantas hospederas. Además, se pueden desarrollar estudios enfocados a otros aspectos relevantes en la evolución de las hormigas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andersen, A.N. (1993). Ant Communities in the Gulf Region of Australia's Semi-arid Tropics: Species Composition, Patterns of Organisation, and Biogeography. *Australian Journal of Zoology*, 41, 399-414. DOI:10.1071/ZO9930399

Andersen, A., Lanoue, J. & Radford, I. (2010). The ant fauna of the remote Mitchell Falls area of tropical north-western Australia: Biogeography, environmental relationships and conservation significance. *Journal of Insect Conservation*, 14, 647-661. <https://doi.org/10.1007/s10841-010-9294-2>

AntWeb (2023). California Academy of Science, Version 8.91.2. <https://www.antweb.org>.

Ayala, J., Wetterer, J.K., Longino, J.T., Hartl & D.L. (1996). Molecular Phylogeny of Azteca Ants (Hymenoptera: Formicidae) and the Colonization of Cecropia Trees. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 5 (2), 423-428. <https://doi.org/10.1006/mpev.1996.0037>

Azuma, N., Kikuchi, T., Ogata, K., & Higashi, S. (2002). Molecular phylogeny among local populations of weaver ant *Oecophylla smaragdina*. *Zoological science*, 19 (11), 1321–1328. <https://doi.org/10.2108/zsj.19.1321>

Azuma, N., Ogata, K., Kikuchi, T. & Higashi S. (2006). Phylogeography of Asian weaver ants, *Oecophylla smaragdina*. *Ecological Research*, 21, 126–136. <https://doi.org/10.1007/s11284-005-0101-6>

Balke, M., Wewalka, G., Alarie, Y., Ribera, I., 2007. Molecular phylogeny of Pacific Island Colymbetinae: radiation of New Caledonian and Fijian species (Coleoptera, Dytiscidae). *Zool. Scr.* 36, 173–200. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1463-6409.2006.00265.x>.

Barden, P., Boudinot, B. & Lucky A. (2017). Where Fossils Dare and Males Matter: combined morphological and molecular analysis untangles the evolutionary history of the spider ant genus *Leptomymex* Mayr (Hymenoptera: Dolichoderinae). *Invertebrate Systematics*, 31 (6), 765-780. <https://doi.org/10.1071/IS16067>

Barrow, L., Parr, C. & Kohen, J. (2006). Biogeography and diversity of ants in Purnululu (Bungle Bungle) National Park and Conservation Reserve, Western Australia. *Australian Journal of Zoology*, 54 (2), 123-136. DOI:10.1071/ZO06009

Beheregaray, L.B. (2008). Twenty years of phylogeography: the state of the field and the challenges for the Southern Hemisphere. *Molecular Ecology* 17: 3754–3774.

Berman, M., Austin, C.M., BurrIDGE, C.P. & Miller, A.D. (2016). Social structure and landscape genetics of the endemic New Caledonian ant *Leptomymex pallens* Emery, 1883 (Hymenoptera:

Formicidae: Dolichoderinae), in the context of fire-induced rainforest fragmentation. *Conservation Genetics* 17, 931–947. <https://doi.org/10.1007/s10592-016-0833-6>

Bickel, T.O., Brühl, C.A., Gadau, J.R., Hölldobler, B. & Linsenmair, K.E. (2006). Influence of Habitat Fragmentation on the Genetic Variability in Leaf Litter Ant Populations in Tropical Rainforests of Sabah, Borneo. *Biodivers Conserv* 15, 157–175. <https://doi.org/10.1007/s10531-004-4248-1>

Blatrix, R., Kidyoo, A., Kidyoo, M. Piapukiew J., Satjarak, A., Paliyavuth, C, Boonchai, W. & McKey, D. (2021). The symbiosis between *Philidris* ants and the ant-plant *Dischidia major* includes fungal and algal associates. *Symbiosis*, 83, 305–31. <https://doi.org/10.1007/s13199-021-00751-x>

Blight, O., Berville, L., Vogel, V., Hefetz, A., Renucci, M., Orgeas, J., Provost, E., & Keller, L. (2012). Variation in the level of aggression, chemical and genetic distance among three supercolonies of the Argentine ant in Europe. *Molecular ecology*, 21 (16), 4106–4121. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05668.x>

Blumenfeld, A. J., Eyer, P. A., Helms, A. M., Buczkowski, G., & Vargo, E. L. (2021). Consistent signatures of urban adaptation in a native, urban invader ant *Tapinoma sessile*. *Molecular ecology*, 00, 1-19, [10.1111/mec.16188](https://doi.org/10.1111/mec.16188). <https://doi.org/10.1111/mec.16188>

Bolton, B. (2022). *AntCat: An online catalog of the ants of the world*. California Academy of Sciences. <https://antcat.org>

Boudinot, B.E., Probst, R.S., Brandão, C.R.F., Feitosa, R.M. & Ward, P.S. (2016), Out of the Neotropics: newly discovered relictual species sheds light on the biogeographical history of spider ants (*Leptomyrmex*, Dolichoderinae, Formicidae). *Syst Entomol*, 41, 658-671. <https://doi.org/10.1111/syen.12181>

Brady, S.G., Schultz, T.R., Fisher, B.L., Ward, P.S., 2006. Evaluating alternative hypotheses for the early evolution and diversification of ants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 18172–18177. [doi:10.1073/pnas.0605858103](https://doi.org/10.1073/pnas.0605858103)

Carstens, B. C., Pelletier, T. A., Reid, N. M., & Satler, J. D. (2013). How to fail at species delimitation. *Molecular ecology*, 22(17), 4369–4383. <https://doi.org/10.1111/mec.12413>

Chambers, E. A., & Hillis, D. M. (2020). The Multispecies Coalescent Over-Splits Species in the Case of Geographically Widespread Taxa. *Systematic biology*, 69(1), 184–193. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syz042>

Chiotis, M., Jermini, L. S., & Crozier, R. H. (2000). A molecular framework for the phylogeny of the ant subfamily dolichoderinae. *Molecular phylogenetics and evolution*, 17 (1), 108–116. <https://doi.org/10.1006/mpev.2000.0821>

Chomicki, G. & Renner, S.S. (2016). Obligate plant farming by a specialized ant. *Nature Plants*, 2, 16181. <https://doi.org/10.1038/nplants.2016.181>

Chomicki, G., Staedler, Y.M., Schönenberger, J. & Renner, S.S. (2016), Partner choice through concealed floral sugar rewards evolved with the specialization of ant–plant mutualisms. *New Phytol*, 211, 1358-1370. <https://doi.org/10.1111/nph.13990>

Chomicki, G., Janda M. & Renner, S.S. (2017). The assembly of ant-farmed gardens: mutualism specialization following host broadening. *Proc. R. Soc. B*, 284, 20161759. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2016.1759>

Chomicki, G. & Renner, S.S. (2019), Farming by ants remodels nutrient uptake in epiphytes. *New Phytol*, 223, 2011-2023. <https://doi.org/10.1111/nph.15855>

Chomicki, G., Kadereit, G., Renner, S. S., & Kiers, E. T. (2020). Tradeoffs in the evolution of plant farming by ants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117 (5), 2535–2543. <https://doi.org/10.1073/pnas.1919611117>

Clouse, R. M., Janda, M., Blanchard, B., Sharma, P., Hoffmann, B. D., Andersen, A. N., Czekanski-Moir, J. E., Krushelnycky, P., Rabeling, C., Wilson, E. O., Economo, E. P., Sarnat, E. M., General, D. M., Alpert, G. D., & Wheeler, W. C. (2014). Molecular phylogeny of Indo-Pacific carpenter ants (Hymenoptera: Formicidae, Camponotus) reveals waves of dispersal and colonization from diverse source areas. *Cladistics: the international journal of the Willi Hennig Society*, 31(4), 424–437. <https://doi.org/10.1111/cla.12099>

Corin, S.E., Abbott, K.L., Ritchie, P.A. & Lester, P.J. (2007). Large scale unicoloniality: the population and colony structure of the invasive Argentine ant (*Linepithema humile*) in New Zealand. *Insect. Soc.*, 54, 275–282. <https://doi.org/10.1007/s00040-007-0942-9>

Crozier, R., Newey, P., Schlüns, E. & Robson, S.K.A. (2010). A masterpiece of evolution—*Oecophylla* weaver ants (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News*, 13, 57-71.

Economo, E.P., Klimov, P., Sarnat, E.M., Guénard, B., Weiser, M.D., Lecroq, B. & Knowles, L.L. (2015). Global phylogenetic structure of the hyperdiverse ant genus *Pheidole* reveals the repeated evolution of macroecological patterns. *Proc. R. Soc. B.*, 282, 20141416. <http://doi.org/10.1098/rspb.2014.1416>

Economo, E. P.; Narula, N.; Friedman, N. R.; Weiser, M. D.; Guénard, B. 2018. Macroecology and macroevolution of the latitudinal diversity gradient in ants. *Nature Communications* 9:1778. [10.1038/s41467-018-04218-4](https://doi.org/10.1038/s41467-018-04218-4)

Eguiarte, L. E., Souza, V. & Aguirre X. (2007). *Ecología molecular*. México: Instituto Nacional de Ecología, Semarnat

Emery, C. (1887). Catalogo delle formiche esistenti nelle collezioni del Museo Civico di Genova. Parte terza. Formiche della regione Indo-Malese e dell'Australia. *Annali del Museo Civico di Storia Naturale* 24: 209-240.

Escárraga, M.E., Lattke, J.E., Pie, M.R. & Guerrero, R.J. (2021). Morphological and genetic evidence supports the separation of two *Tapinoma* ants (Formicidae, Dolichoderinae) from the Atlantic Forest biome. *Zookeys*, 1033, 35-62. DOI: 10.3897/zookeys.1033.59880.

Eyer, P.A., Vargo, E.L. & Peeters C. (2021). One tree, many colonies: colony structure, breeding system and colonization events of host trees in tunnelling *Melissotarsus* ants. *Biological Journal of the Linnean Society*, 133 (1), 237–248. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blab026>

Fernandes, I.O., Larabee, F.J., Oliveira, M.L., Delabie, J.H.C. & Schultz, T.R. (2021). A global phylogenetic analysis of trap-jaw ants, *Anochetus* Mayr and *Odontomachus* Latreille (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae). *Syst Entomol*, 46, 685-703. <https://doi.org/10.1111/syen.12483>

Fernández, F. & Guerrero, R. & Sánchez-Restrepo, A. (2021). Systematics and diversity of Neotropical ants. *Revista Colombiana de Entomología*, 47 (1), e11082. <https://doi.org/10.25100/socolen.v47i1.11082>

Folmer, O., Black, M.B., Hoch, W., Lutz, R.A., Vrijehock, R.C., 1994. ADN primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 3, 294–299.

Forel, A. (1893). Nouvelles fourmis d'Australie et des Canaries. *Annales de la Société Entomologique de Belgique* 37:454-466.

Fournier, D., Aron, S. & Milinkovitch, M.C. (2002), Investigation of the population genetic structure and mating system in the ant *Pheidole pallidula*. *Molecular Ecology*, 11, 1805-1814. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2002.01573.x>

Fournier, D., Dubois, D., & Aron, S. (2008). Isolation and characterization of microsatellite loci from the invasive ant *Pheidole megacephala*. *Molecular ecology resources*, 8 (4), 919–922. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2008.02116.x>

Fournier, D., de Biseau, J. C., & Aron, S. (2009). Genetics, behaviour and chemical recognition of the invading ant *Pheidole megacephala*. *Molecular ecology*, 18 (2), 186–199. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.04018.x>

Freeland, J. R., Kirk, H. & Petersen, S. (2011). *Molecular ecology* (2nd ed.). UK: Wiley-Blackwell



Fujisawa T. & Barraclough T.G. (2013). Delimiting species using singlelocus data and the generalized mixed Yule coalescent approach: a revised method and evaluation on simulated data sets. *Syst. Biol.* 62:707–724.

Haig, D. W., and Medd, D. (1996). Latest Miocene to early Pliocene bathymetric cycles related to tectonism, Puri Anticline, Papuan Basin, Papua New Guinea. *Australian Journal of Earth Sciences* 43, 451–465.

Hajibabaei, M., Singer, G. A., Hebert, P. D., & Hickey, D. A. (2007). ADN barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends in genetics: TIG*, 23(4), 167–172. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2007.02.001>

Hall, R. (2002). Cenozoic geological and plate tectonic evolution of SE Asia and the SW Pacific: computer-based reconstructions, model and animations. *J. Asian Earth Sci.* 20, 353–431.

Harrison, R.D. (2014). Ecology of a fig ant-plant. *Acta Oecologica*, 57, 88-96. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2013.05.008>

Hill, K. C., and Gleadow, A. J. W. (1989). Uplift and thermal history of the Papuan Fold Belt, Papua New Guinea: apatite fission track analysis. *Australian Journal of Earth Sciences* 36, 515–539.

Hirata, M., Hasegawa, O., Toita, T. & Higashi, S. (2008). Genetic relationships among populations of the Argentine ant *Linepithema humile* introduced into Japan. *Ecol. Res.*, 23, 883-888. <https://doi.org/10.1007/s11284-007-0450-4>

Intarapanich, A., Shaw, P.J., Assawamakin, A. et al. (2009). Iterative pruning PCA improves resolution of highly structured populations. *BMC Bioinformatics* 10, 382. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-10-382>

Janda M., Matos-Maraví, P., Borovanska, M., Zima, J., Youngerman, E. & Pierce N.E. (2016). Phylogeny and population genetic structure of the ant genus *Acropyga* (Hymenoptera: Formicidae) in Papua New Guinea. *Invertebrate Systematics*, 30(1), 28–40. <https://doi.org/10.1071/IS14050>

Janes, J. K. et al. The K= 2 conundrum. *Mol. Ecol.* 26, 3594–3602; 2017

Jaquiéry, J., Vogel, V., & Keller, L. (2005). Multilevel genetic analyses of two European supercolonies of the Argentine ant, *Linepithema humile*. *Molecular ecology*, 14 (2), 589–598. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02433.x>

Jin, Q., Hu, X. M., Han, H. L., Chen, F., Cai, W. J., Ruan, Q. Q., Liu, B., Luo, G. J., Wang, H., Liu, X., Ward, R. D., Wu, C. S., Wilson, J. J., & Zhang, A. B. (2018). A two-step ADN barcoding approach for delimiting moth species: moths of Dongling Mountain (Beijing, China) as a case study. *Scientific reports*, 8(1), 14256. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32123-9>

Jombart T. (2008). adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* (Oxford, England), 24(11), 1403–1405. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129>

Jombart T. & Collins C. (2015). A tutorial for Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) using adegenet 2.0.0. Imperial College London. MRC Centre for Outbreak Analysis and Modelling. <http://adegenet.r-forge.r-project.org/files/tutorial-dapc.pdf>

Kamvar ZN, Tabima JF, Grünwald NJ. (2014). Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ* 2:e281 <https://doi.org/10.7717/peerj.281>

Kapli, T., Lutteropp, S., Zhang, J., Kobert, K., Pavlidis, P., Stamatakis, A., & Flouri, T. (2017). Multi-rate Poisson tree processes for single-locus species delimitation under maximum likelihood and Markov chain Monte Carlo. *Bioinformatics*, 33(11), 1630–1638. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx025>

Kearns, A. M., Joseph, L., Omland, K. E., and Cook, L. G. (2011). Testing the effect of transient Plio-Pleistocene barriers in monsoonal Australo-Papua: did mangrove habitats maintain genetic connectivity in the black butcherbird? *Molecular Ecology* 20, 5042–5059.

Krieger, M.J.B. & Keller, L. (2000), Mating frequency and genetic structure of the Argentine ant *Linepithema humile*. *Molecular Ecology*, 9, 119-126. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.2000.00837.x>

Kumasaka, N., Yamaguchi-Kabata, Y., Takahashi, A., Kubo, M., Nakamura, Y., & Kamatani, N. (2010). Establishment of a standardized system to perform population structure analyses with limited sample size or with different sets of SNP genotypes. *Journal of human genetics*, 55(8), 525–533. <https://doi.org/10.1038/jhg.2010.63>

Larabee, F.J., Fisher, B.L., Schmidt, C.A., Matos-Maraví, P., Janda, M. & Suarez A.V. (2016). Molecular phylogenetics and diversification of trap-jaw ants in the genera *Anochetus* and *Odontomachus* (Hymenoptera: Formicidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 103, 143-154. DOI: 10.1016/j.ympev.2016.07.024.

Leathy, L., Scheffers, B.R., Williams, S.E. & Andersen, A.N. (2020). Diversity and Distribution of the Dominant Ant Genus *Anonychomyrma* (Hymenoptera: Formicidae) in the Australian Wet Tropics. *Diversity*, 12 (12), 474. <https://doi.org/10.3390/d12120474>

Leigh, J.W. and Bryant, D. (2015). Popart: full-feature software for haplotype network construction. *Methods Ecol Evol*, 6: 1110-1116. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12410>

Lohman, D.J., de Bruyn, M., Page, T., von Rintelen, K., Hall R., Ng, P.K.L., Shih, H., Carvalho G.R., & von Rintelen, T. (2011). Biogeography of the Indo-Australian Archipelago. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 42, 205-226. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-102710-145001>

Longino J. T. (2007). A taxonomic review of the genus *Azteca* (Hymenoptera: Formicidae) in Costa Rica and a global revision of the aurita group. *Zootaxa*, 1491, pp 1-63.

Lucky, A. & Sarnat, E.M. (2010). Biogeography and diversification of the Pacific ant genus *Lordomyrma* Emery. *J. Biogeogr.* 37, 624–634. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2699.2009.02242.x>.

Lucky, A. (2011). Molecular phylogeny and biogeography of the spider ants, genus *Leptomyrmex* Mayr (Hymenoptera: Formicidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 59 (2), 281-292. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.03.004>

Luo, A., Ling, C., Ho, S. Y. W., & Zhu, C. D. (2018). Comparison of Methods for Molecular Species Delimitation Across a Range of Speciation Scenarios. *Systematic biology*, 67(5), 830–846. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy011>

Macqueen, P., Goldizen, A. W., Austin, J. J., & Seddon, J. M. (2011). Phylogeography of the pademelons (Marsupialia: Macropodidae: Thylogale) in New Guinea reflects both geological and climatic events during the Plio-Pleistocene. *Journal of Biogeography* 38, 1732–1747.

Maeyama T. & Matsumoto T. 2000. Colonial system of *Philidris* ants (Formicidae; Dolichoderinae) occupying epiphytic myrmecophytes in a tropical mangrove forest. *Tropical Ecology* 41 (2): 209-216.

Magoga, G., Fontaneto, D. and Montagna, M. (2021), Factors affecting the efficiency of molecular species delimitation in a species-rich insect family. *Mol Ecol Resour*, 21: 1475-1489. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13352>

Mann, W. M. (1921). The ants of the Fiji Islands. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*, 64:401-499.

Matos-Maraví, P., Clouse, R. M., Sarnat, E. M., Economo, E. P., LaPolla, J. S., Borovanska, M., Rabeling, C., Czekanski-Moir, J., Latumahina, F., Wilson, E. O., & Janda, M. (2018). An ant genus-group (*Prenolepis*) illuminates the biogeography and drivers of insect diversification in the Indo-Pacific. *Molecular phylogenetics and evolution*, 123, 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.02.007>

Matzke, Nicholas J. (2018). BioGeoBEARS: BioGeography with Bayesian (and likelihood) Evolutionary Analysis with R Scripts. version 1.1.1, published on GitHub on November 6, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1478250>

Meisner, J., Liu, S., Huang, M., & Albrechtsen, A. (2021). Large-scale inference of population structure in presence of missingness using PCA. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 37(13), 1868–1875. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btab027>

Miller, J. M., Cullingham, C. I., & Peery, R. M. (2020). The influence of a priori grouping on inference of genetic clusters: simulation study and literature review of the DAPC method. *Heredity*, 125(5), 269–280. <https://doi.org/10.1038/s41437-020-0348-2>

Minh, B. Q., H. A. Schmidt, O. Chernomor, D. Schrempf, M. D. Woodhams, A. von Haeseler, and R. Lanfear (2020). IQ-TREE 2: new models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. *Mol. Biol. Evol.* 37: 1530–1534.

Montes, J. R., Peláez, P., Moreno-Letelier, A., & Gernandt, D. S. (2022). Coalescent-based species delimitation in North American pinyon pines using low-copy nuclear genes and plastomes. *American journal of botany*, 109(5), 706–726. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1847>

Moreau, C.S. (2008). Unraveling the evolutionary history of the hyperdiverse ant genus *Pheidole* (Hymenoptera: Formicidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48, 224-239. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.02.020>

Müller, C.J., Matos-Maraví, P.F. & Beheregaray, L.B. (2013). Delving into *Delias* Hübner (Lepidoptera: Pieridae): fine-scale biogeography, phylogenetics and systematics of the world's largest butterfly genus. *Journal of Biogeography*, 40: 881-893. <https://doi.org/10.1111/jbi.12040>

Murphy, S. A., Double, M. C., & Legge, S. M. (2007). The phylogeography of palm cockatoos, *Probosciger aterrimus*, in the dynamic Australo-Papuan region. *Journal of Biogeography* 34, 1534–1545.

Pons J, Barraclough TG, Gomez-Zurita J et al. (2006) Sequence based species delimitation for the ADN taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology*, 55, 595–609.

Pringle, E. G., Ramírez, S. R., Bonebrake, T. C., Gordon, D. M., & Dirzo, R. (2012). Diversification and phylogeographic structure in widespread *Azteca* plant-ants from the northern Neotropics. *Molecular ecology*, 21 (14), 3576–3592. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05618.x>

Pringle EG. 2014 Harnessing ant defence at fruits reduces bruchid seed predation in a symbiotic ant–plant mutualism. *Proc. R. Soc. B* 281: 20140474. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2014.0474>

Pu, Y., Naikatini, A., Pérez-Escobar, O. A., Silber, M., Renner, S. S., & Chomicki, G. (2021). Genome-wide transcriptome signatures of ant-farmed *Squamellaria* epiphytes reveal key functions in a unique symbiosis. *Ecology and evolution*, 11 (22), 15882–15895. <https://doi.org/10.1002/ece3.8258>

Qian, Z.Q., Schlick-Steiner, B.C., Steiner, F.M. Robson, S.K.A, Schlüns, H., Schlüns, A., & Crozier, R.H. (2012). Colony genetic structure in the Australian jumper ant *Myrmecia pilosula*. *Insect. Soc.* 59, 109–117. <https://doi.org/10.1007/s00040-011-0196-4>

Qin, X., Lock, T. R., & Kallenbach, R. L. (2022). DA: Population structure inference using discriminant analysis. *Methods in Ecology and Evolution*, 13, 485–499. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13748>

Qin, X., Chiang, C. W. K., & Gaggiotti, O. E. (2022). KLFDA: a supervised machine learning approach for spatial genetic structure analysis. *Briefings in bioinformatics*, 23(4), bbac202. <https://doi.org/10.1093/bib/bbac202>

Ranasinghe, U. G. S. L., Eberle, J., Thormann, J., Bohacz, C., Benjamin, S. P., & Ahrens, D. (2022). Multiple species delimitation approaches with COI barcodes poorly fit each other and morphospecies – An integrative taxonomy case of Sri Lankan Sericini chafers (Coleoptera: Scarabaeidae). *Ecology and Evolution*, 12, e8942. <https://doi.org/10.1002/ece3.8942>

R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>

Sanetra, M. & Crozier, R.H. (2003), Patterns of population subdivision and gene flow in the ant *Nothomyrmecia macrops* reflected in microsatellite and mitochondrial ADN markers. *Molecular Ecology*, 12: 2281-2295. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.01900.x>

Sarnat, E. M., & Moreau, C. S. (2011). Biogeography and morphological evolution in a Pacific island ant radiation. *Molecular ecology*, 20 (1), 114–130. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04916.x>

Schifani, E., Giannetti, D., Csősz, S., Castellucci, F., Luchetti, A., Castracani, C., Spottl, F.A., Mori, A. & Grasso D.A. (2022). Biogeography, ecology, ethology, genetics and morphology define a second West-Palaeartic *Colobopsis* species (Hymenoptera: Formicidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 194 (4), 1424–1450, <https://doi.org/10.1093/zoolinlean/zlab035>

Schlüns, E. A., Wegener, B. J., Schlüns, H., Azuma, N., Robson, S. K., & Crozier, R. H. (2009). Breeding system, colony and population structure in the weaver ant *Oecophylla smaragdina*. *Molecular ecology*, 18 (1), 156–167. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.04020.x>

Schultz, T.R., Brady, S.G., 2008. Major evolutionary transitions in ant agriculture. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 5435–5440. doi:10.1073/pnas.0711024105

Shattuck, S. O. (1992). Generic revision of the ant subfamily Dolichoderinae (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* 21:1-181.

Shattuck, S.O. (1995), Generic-level relationships within the ant subfamily Dolichoderinae (Hymenoptera: Formicidae). *Systematic Entomology*, 20 (3), 217-228. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.1995.tb00093.x>

Shults, P., Hopken, M., Eyer, P. A., Blumenfeld, A., Mateos, M., Cohnstaedt, L. W., & Vargo, E. L. (2022). Species delimitation and mitonuclear discordance within a species complex of biting midges. *Scientific reports*, 12(1), 1730. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05856-x>

Smith, F. (1859). Catalogue of hymenopterous insects collected by Mr. A. R. Wallace at the islands of Aru and Key. [part]. *Journal and Proceedings of the Linnean Society of London. Zoology* 3:132-158.

Stenchly, K., Clough, Y., Buchori, D. & Tschardtke, T. (2011). Spider web guilds in cacao agroforestry – comparing tree, plot and landscape-scale management. *Diversity and Distributions*, 17 (4), 748-756. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2011.00774.x>

Suchard MA, Lemey P, Baele G, Ayres DL, Drummond AJ & Rambaut A (2018). Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10 *Virus Evolution* 4, vey016. DOI:10.1093/ve/vey016

Suhr, E.L., O'Dowd, D.J., McKechnie, S.W. & Mackay, D.A. (2011), Genetic structure, behaviour and invasion history of the Argentine ant supercolony in Australia. *Evolutionary Applications*, 4, 471-484. <https://doi.org/10.1111/j.1752-4571.2010.00161.x>

Sukumaran, J., & Knowles, L. L. (2017). Multispecies coalescent delimits structure, not species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(7), 1607–1612. <https://doi.org/10.1073/pnas.1607921114>

Suni, S. S., & Gordon, D. M. (2010). Fine-scale genetic structure and dispersal distance in the harvester ant *Pogonomyrmex barbatus*. *Heredity*, 104(2), 168–173. <https://doi.org/10.1038/hdy.2009.124>

Tafoya-Alvarado, Y. (2016). "Estructura social y filogeografía de hormigas del género *Philidris* (Formicidae; Dolichoderinae) de la región Indo-australiana, integrando datos genéticos contemporáneos e históricos". Tesis de maestría. Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad de Genómica Avanzada.

Thia, J. A. (2023). Guidelines for standardizing the application of discriminant analysis of principal components to genotype data. *Molecular Ecology Resources*, 23, 523– 538. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13706>

Tsutsui, N. D., & Case, T. J. (2001). Population genetics and colony structure of the Argentine ant (*Linepithema humile*) in its native and introduced ranges. *Evolution; international journal of*

organic evolution, 55 (5), 976–985. [https://doi.org/10.1554/0014-3820\(2001\)055\[0976:pgacso\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1554/0014-3820(2001)055[0976:pgacso]2.0.co;2)

Tsutsui, N.D., Suarez, A.V., Holway, D.A. & Case, T.J. (2001), Relationships among native and introduced populations of the Argentine ant (*Linepithema humile*) and the source of introduced populations. *Molecular Ecology*, 10, 2151–2161. <https://doi.org/10.1046/j.0962-1083.2001.01363.x>

Van Wilgenburg, E., Torres, C. W., & Tsutsui, N. D. (2010). The global expansion of a single ant supercolony. *Evolutionary applications*, 3 (2), 136–143. <https://doi.org/10.1111/j.1752-4571.2009.00114.x>

Volp T. M. & Lach L. (2019). An Epiphytic Ant-Plant Mutualism Structures Arboreal Ant Communities. *Environmental Entomology*, 48 (5), 1056–1062, <https://doi.org/10.1093/ee/nvz083>

Voris, H. K. (2000). Maps of Pleistocene sea levels in southeast Asia: shorelines, river systems and time durations. *Journal of Biogeography* 27, 1153–1167.

Ward, P.S., Downie, D.A., 2005. The ant subfamily Pseudomyrmecinae (Hymenoptera: Formicidae): phylogeny and evolution of big-eyed arboreal ants. *Syst. Entomol.* 30, 310–335. [doi:10.1111/j.1365-3113.2004.00281.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.2004.00281.x)

Ward, P. S., Brady, S. G., Fisher, B. L., & Schultz, T. R. (2010). Phylogeny and biogeography of dolichoderine ants: effects of data partitioning and relict taxa on historical inference. *Systematic biology*, 59 (3), 342–362. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syq012>

Wielgoss A., Tschardtke, T., Buchori, D., Fiala, B., & Clough Y. (2010). Temperature and a dominant dolichoderine ant species affect ant diversity in Indonesian cacao plantations. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 135 (4), 253–259. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2009.10.003>

Wild, A.L. (2009), Evolution of the Neotropical ant genus *Linepithema*. *Systematic Entomology*, 34, 49–62. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.2008.00435.x>

Williams, D. J., O'shea, M., Daguerre, R. I., Pook, C. E., Wüster, W., & Christopher, J. (2008). Origin of the eastern brownsnake, *Pseudonaja textilis* (Dumeril, Bibron and Dumeril) (Serpentes: Elapidae: Hydrophiinae) in New Guinea: evidence of multiple dispersals from Australia, and comments on the status of *Pseudonaja textilis pughii* Hoser 2003. *Zootaxa* 1703, 47–61.

Williams J. L., Zhang Y. M., LaPolla J. Y., Schultz T. R., Lucky A (2022). Phylogenomic Delimitation of Morphologically Cryptic Species in Globetrotting *Nylanderia* (Hymenoptera: Formicidae) Species Complexes. *Insect Systematics and Diversity*, 6 (1). <https://doi.org/10.1093/isd/ixab027>

Woinarski, J.C., Reichel, H., & Andersen, A.N. (1998). The distribution of ants on the Wessel and English Company Islands, in the seasonal tropics of Australia's Northern Territory. *Australian Journal of Zoology*, 46, 557-579. DOI:10.1071/ZO98012

Yang Z. (2015). The BPP program for species tree estimation and species delimitation. *Curr. Zool.* 61:854–865.

Yi, X., & Latch, E. K. (2022). Nonrandom missing data can bias Principal Component Analysis inference of population genetic structure. *Molecular Ecology Resources*, 22, 602– 611. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13498>

Zhang J (2010) Ancestral Informative Marker Selection and Population Structure Visualization Using Sparse Laplacian Eigenfunctions. *PLoS ONE* 5(11): e13734. doi:10.1371/journal.pone.0013734

Zhang, Jiajie, Kapli, P., Pavlidis, P., and Stamatakis, A. (2013). A General Species Delimitation Method with Applications to Phylogenetic Placements. *Bioinformatics*, 29 (22): 2869-2876.

Zheng, C., Yang, F., Zeng, L., Vargo, E. L., & Xu, Y. (2018). Genetic diversity and colony structure of *Tapinoma melanocephalum* on the islands and mainland of South China. *Ecology and evolution*, 8 (11), 5427–5440. <https://doi.org/10.1002/ece3.4065>

Zhou, S. & Zheng, Z. (1998). *Philidris* (Hymenoptera: Formicidae), a genus new to China, with description of a new species. *Entomologia Sinica*, 5 (2), 136-138.



## TABLAS SUPLEMENTARIAS

**Tabla Suplementaria 1. Información de las muestras, indicando su ID, la asignación por la delimitación de cinco genes y por la delimitación de UCE's y su ubicación geográfica.**

ID	SD_5genes	SD_UCEs	LATITUD	LONGITUD	PAIS	LOCALIDAD	PROVINCIA
CASENT0171058	nagasau	nagasau	-16.8300	179.9800	FIJI	Taveuni	Cakaudrove
EMS1946	nagasau	nagasau	-16.8300	179.9800	FIJI	Taveuni	Cakaudrove
RA0312	PHI001	PHI001	-11.6822	142.7092	AUSTRALIA	Iron_Range	Queensland
MJ13196	PHI001	PHI001	-16.7987	145.7110	AUSTRALIA	Cairns	Queensland
MJ21400	PHI001	PHI001	-16.8170	145.6873	AUSTRALIA	Cairns	Queensland
MJ21401	PHI001	PHI001	-16.8170	145.6873	AUSTRALIA	Cairns	Queensland
MJ21402	PHI001	PHI001	-16.8945	145.7507	AUSTRALIA	Cairns	Queensland
MJ21403	PHI001	PHI001	-16.8945	145.7507	AUSTRALIA	Cairns	Queensland
gi_87046812_gb_DQ353313_1	PHI001	PHI001	-11.6822	142.7092	AUSTRALIA	Iron_Range	Queensland
MJ13195	PHI001	PHI001	-18.2908	146.0197	AUSTRALIA	Queensland	Queensland
MJ21345	PHI001	PHI001	-12.7383	143.2224	AUSTRALIA	Lockhart River	Queensland
MJ21346	PHI001	PHI001	-12.7383	143.2224	AUSTRALIA	Lockhart River	Queensland
MJ21350	PHI001	PHI001	-12.7383	143.2224	AUSTRALIA	Lockhart River	Queensland
MJ8836	PHI002	PHI002	-5.5466	141.5040	PAPUA NEW GUINEA	Kaiangabip	Western Southern Highlands
MJ6940	PHI002	PHI002	-6.7260	143.5670	PAPUA NEW GUINEA	Kantobo	Highlands
B_MIWE09_080	PHI003_A	PHI003	-4.9100	141.6330	PAPUA NEW GUINEA	Telefomin	Sandaun
MJ15404	PHI003_A	PHI003	-5.1268	141.6399	PAPUA NEW GUINEA	Telefomin	Sandaun
MJ19283	PHI003_A	PHI003	-4.9098	141.6331	PAPUA NEW GUINEA	Mianmin	Sandaun
MJ15411	PHI003_A	PHI003	-4.9098	141.6331	PAPUA NEW GUINEA	Mianmin	Sandaun
PNG047	PHI003_A	PHI003	-6.4190	145.5950	PAPUA NEW GUINEA	Okapa	Eastern Highlands
PNG052	PHI003_A	PHI003	-6.4170	145.5750	PAPUA NEW GUINEA	Okapa	Eastern Highlands
PNG064	PHI003_A	PHI003	-6.4170	145.5750	PAPUA NEW GUINEA	Okapa	Eastern Highlands
ASPNA1586_10	PHI003_A	PHI003	-6.4160	145.5780	PAPUA NEW GUINEA	Okapa	Eastern Highlands
PNG050	PHI003_A	PHI003	-6.4160	145.5780	PAPUA NEW GUINEA	Okapa	Eastern Highlands
MJ19285	PHI003_B	PHI003	-4.9098	141.6331	PAPUA NEW GUINEA	Mianmin	Sandaun
CASENT0200391	PHI003_B	PHI003	-5.4400	143.1970	PAPUA NEW GUINEA	Porgera Mine	Enga
MJ19258	PHI003_B	PHI003	-4.9098	141.6331	PAPUA NEW GUINEA	Mianmin	Sandaun
MJ13263	PHI004_A	PHI004	-8.7103	141.6492	PAPUA NEW GUINEA	Morehead	Western
MJ13249	PHI004_A	PHI004	-9.0174	143.2418	PAPUA NEW GUINEA	Dorogori	Western
MJ18064	PHI004_A	PHI004	-9.0174	143.2418	PAPUA NEW GUINEA	Daru	Western
MJ13648	PHI004_A	PHI004	-9.0174	143.2418	PAPUA NEW GUINEA	Dorogori	Western
MJ13250	PHI004_A	PHI004	-9.0867	143.2097	PAPUA NEW GUINEA	Daru	Western
MJ13264	PHI004_A	PHI004	-9.0174	143.2418	PAPUA NEW GUINEA	Dorogori	Western

MJ21339	PHI004_A	PHI004	-12.7396	143.2323	AUSTRALIA	Lockhart River	Queensland
MJ21399	PHI004_A	PHI004	-12.6310	143.4261	AUSTRALIA	Lockhart River	Queensland
MJ13771	PHI004_A	PHI004	-9.4360	147.3480	PAPUA NEW GUINEA	Port Moresby	Port Moresby
MJ21355	PHI004_A	PHI004	-12.7100	143.2923	AUSTRALIA	Lockhart River	Queensland
MJ21375	PHI004_A	PHI004	-12.6299	143.4223	AUSTRALIA	Lockhart River	Queensland
MJ21340	PHI004_A	PHI004	-12.7396	143.2323	AUSTRALIA	Lockhart River	Queensland
MJ6929	PHI004_A	PHI004	-5.1433	145.7722	PAPUA NEW GUINEA	Baitabag	Madang
MJ18416	PHI004_A	PHI004	-6.7570	143.6080	PAPUA NEW GUINEA	Fogomaiu	Southern Highlands
HP0154	PHI004_B	PHI004	-5.1430	145.0580	PAPUA NEW GUINEA	Wanang	Madang
HP0165	PHI004_B	PHI004	-5.1430	145.0580	PAPUA NEW GUINEA	Wanang	Madang
HP0166	PHI004_B	PHI004	-5.1430	145.0580	PAPUA NEW GUINEA	Wanang	Madang
PKEE178	PHI004_B	PHI004	-5.2333	145.1830	PAPUA NEW GUINEA	Wanang	Madang
MJ13274	PHI004_B	PHI004	-5.1317	145.8123	PAPUA NEW GUINEA	Sinub	Madang
PNG004	PHI004_B	PHI004	-5.1980	145.8192	PAPUA NEW GUINEA	Kranket	Madang
PNG005	PHI004_B	PHI004	-5.1980	145.8192	PAPUA NEW GUINEA	Kranket	Madang
MJ10283	PHI004_B	PHI004	-5.5466	141.5040	PAPUA NEW GUINEA	Kaiangabip	Western
MJ18058	PHI004_B	PHI004	-5.1690	145.8380	PAPUA NEW GUINEA	Pig	Madang
MJ7932	PHI005_A	PHI005	-6.5080	143.0780	PAPUA NEW GUINEA	Fogomaiu	Southern Highlands
MJ13194	PHI005_A	PHI005	-4.9608	143.9650	PAPUA NEW GUINEA	Lembena	Enga
MJ15559	PHI005_A	PHI005	-4.9098	141.6331	PAPUA NEW GUINEA	Mianmin	Sandaun
MJ15057	PHI005_A	PHI005	-6.5080	143.0780	PAPUA NEW GUINEA	Fogomaiu	Southern Highlands
MJ18286	PHI005_A	PHI005	-6.5080	143.0780	PAPUA NEW GUINEA	Fogomaiu	Southern Highlands
MJ2858	PHI005_A	PHI005	-3.3868	141.5852	PAPUA NEW GUINEA	Utai	Sandaun
MJ6913	PHI005_A	PHI005	-5.1430	145.0580	PAPUA NEW GUINEA	Wanang	Madang
MJ6873	PHI005_A	PHI005	-6.5080	143.0780	PAPUA NEW GUINEA	Fogomaiu	Southern Highlands
MJ6874	PHI005_A	PHI005	-6.5080	143.0780	PAPUA NEW GUINEA	Fogomaiu	Southern Highlands
MJ6946	PHI005_A	PHI005	-6.7260	143.5670	PAPUA NEW GUINEA	Kantobo	Southern Highlands
MJ6932	PHI005_A	PHI005	-6.5080	143.0780	PAPUA NEW GUINEA	Fogomaiu	Southern Highlands
MJ6899	PHI005_A	PHI005	-5.2241	145.6848	PAPUA NEW GUINEA	Ohu	Madang
MJ6907	PHI005_A	PHI005	-6.1652	143.6530	PAPUA NEW GUINEA	Mendi	Southern Highlands
MJ6927	PHI005_A	PHI005	-5.1433	145.7722	PAPUA NEW GUINEA	Baitabag	Madang
MJ6938	PHI005_A	PHI005	-6.7570	143.6080	PAPUA NEW GUINEA	Kutubu	Southern Highlands
MJ6937	PHI005_A	PHI005	-6.1652	143.6530	PAPUA NEW GUINEA	Mendi	Southern Highlands
MJ6935	PHI005_A	PHI005	-6.1652	143.6530	PAPUA NEW GUINEA	Mendi	Southern Highlands
MJ6936	PHI005_A	PHI005	-6.1652	143.6530	PAPUA NEW GUINEA	Mendi	Southern Highlands
MJ15358	PHI005_A	PHI005	-5.5466	141.5040	PAPUA NEW GUINEA	Kaiangabip	Western

B-MIWE09-157	PHI005_A	PHI005	-4.9098	141.6331	PAPUA NEW GUINEA	Mianmin	Sandaun
HP0234	PHI005_A	PHI005	-5.2333	145.1830	PAPUA NEW GUINEA	Wanang	Madang
ML10457	PHI005_A	PHI005	-5.2333	145.1830	PAPUA NEW GUINEA	Wanang	Madang
MJ13269	PHI005_A	PHI005	-5.1417	145.7761	PAPUA NEW GUINEA	Baitabag	Madang
MJ15410	PHI005_A	PHI005	-4.9098	141.6331	PAPUA NEW GUINEA	Mianmin	Sandaun
ML10299	PHI005_A	PHI005	-5.2333	145.1830	PAPUA NEW GUINEA	Wanang	Madang
ML10692	PHI005_A	PHI005	-5.2333	145.1830	PAPUA NEW GUINEA	Wanang	Madang
PK-EE133	PHI005_A	PHI005	-5.1430	145.0580	PAPUA NEW GUINEA	Wanang	Madang
CASENT0200475	PHI005_A	PHI005	-5.7290	142.2630	PAPUA NEW GUINEA	Muller range	Western
MJ15394	PHI005_A	PHI005	-5.1433	145.7722	PAPUA NEW GUINEA	Baitabag	Madang
MJ7892	PHI005_A	PHI005	-5.5466	141.5040	PAPUA NEW GUINEA	Kaiangabip	Western
B-MIWE09-220	PHI005_A	PHI005	-4.9098	141.6331	PAPUA NEW GUINEA	Mianmin	Sandaun
MJ6947	PHI005_A	PHI005	-5.1430	145.0580	PAPUA NEW GUINEA	Wanang	Madang
MJ15392	PHI005_A	PHI005	-5.4395	150.0884	PAPUA NEW GUINEA	New Britain	Bismarck Archipelago
MJ7871	PHI005_A	PHI005	-5.4673	149.9740	PAPUA NEW GUINEA	New Britain	Bismarck Archipelago
MJ7844	PHI005_A	PHI005	-5.5466	141.5040	PAPUA NEW GUINEA	Kaiangabip	Western
MJ7854	PHI005_A	PHI005	-5.5466	141.5040	PAPUA NEW GUINEA	Kaiangabip	Western
HP0164	PHI005_A	PHI005	-5.1430	145.0580	PAPUA NEW GUINEA	Wanang	Madang
B_MIWE09_49	PHI005_A	PHI005	-4.9100	141.6330	PAPUA NEW GUINEA	Telefomin	Mianmin
B_MIWE09_122	PHI005_A	PHI005	-4.9100	141.6330	PAPUA NEW GUINEA	Telefomin	Mianmin
B_BAWE09_77	PHI005_A	PHI005	-5.1330	145.7830	PAPUA NEW GUINEA	Baitabag	Madang
ASPNA747_09	PHI005_A	PHI005	-5.2333	145.1830	PAPUA NEW GUINEA	Wanang	Madang
MJ6906	PHI005_A	PHI005	-5.4670	149.9740	PAPUA NEW GUINEA	New Britain	Bismarck Archipelago
MJ18059	PHI005_A	PHI005	-5.2241	145.6848	PAPUA NEW GUINEA	Ohu	Madang
MJ15393	PHI005_A	PHI005	-5.5466	141.5040	PAPUA NEW GUINEA	Kaiangabip	Western
MJ14978	PHI005_A	PHI005	-6.5080	143.0780	PAPUA NEW GUINEA	Fogomaiu	Southern Highlands
MJ14985	PHI005_A	PHI005	-6.5080	143.0780	PAPUA NEW GUINEA	Fogomaiu	Southern Highlands
MJ15475	PHI005_A	PHI005	-6.5080	143.0780	PAPUA NEW GUINEA	Fogomaiu	Southern Highlands
MJ7292	PHI005_A	PHI005	-6.5080	143.0780	PAPUA NEW GUINEA	Fogomaiu	Southern Highlands
MJ698	PHI005_A	PHI005	-6.5076	143.0780	PAPUA NEW GUINEA	Fogomaiu	Southern Highlands
MJ15363	PHI005_A	PHI005	-5.5466	141.5040	PAPUA NEW GUINEA	Kaiangabip	Western
MJ18288	PHI005_A	PHI005	-6.5080	143.0780	PAPUA NEW GUINEA	Fogomaiu	Southern Highlands
MJ15407	PHI005_A	PHI005	-4.9098	141.6331	PAPUA NEW GUINEA	Mianmin	Sandaun
MJ7853	PHI005_A	PHI005	-5.5466	141.5040	PAPUA NEW GUINEA	Kaiangabip	Western
MJ19274	PHI005_A	PHI005	-4.9098	141.6331	PAPUA NEW GUINEA	Mianmin	Sandaun

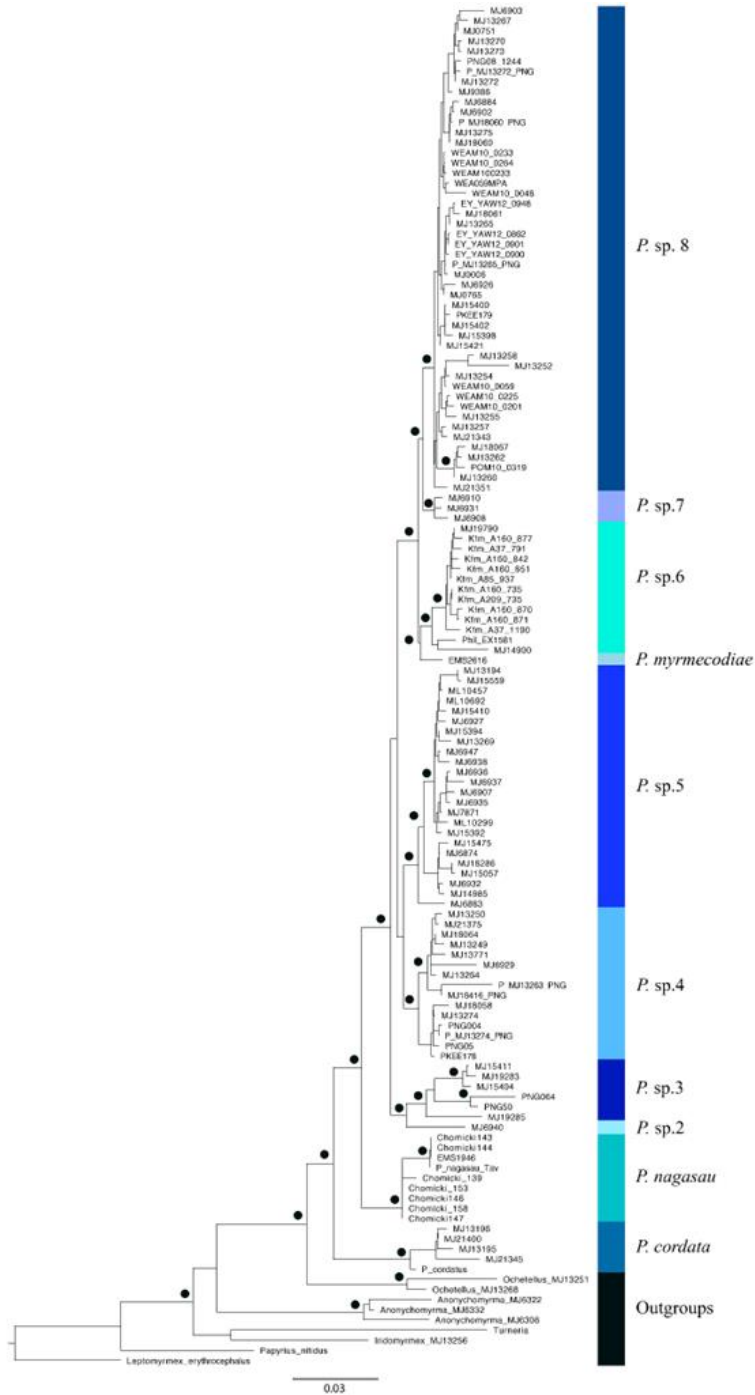
MJ2821	PHI005_A	PHI005	-3.3868	141.5852	PAPUA NEW GUINEA	Utai	Sandaun
MJ15425	PHI005_A	PHI005	-4.9098	141.6331	PAPUA NEW GUINEA	Mianmin	Sandaun
MJ15014	PHI005_A	PHI005	-6.5080	143.0780	PAPUA NEW GUINEA	Fogomaiu	Southern Highlands
MJ15437	PHI005_A	PHI005	-4.9098	141.6331	PAPUA NEW GUINEA	Mianmin	Sandaun
MJ15220	PHI005_A	PHI005	-5.5466	141.5040	PAPUA NEW GUINEA	Kaiangabip	Western
MJ6883	PHI005_B	PHI005	-5.5466	141.5040	PAPUA NEW GUINEA	Kaiangabip	Western
MJ19799	PHI006_A	PHI006	3.4083	101.9983	MALAYSIA		
MJ19794	PHI006_A	PHI006	7.9494	99.2703	THAILAND	Klong Thom	Sudthailand
MJ19822	PHI006_A	PHI006	5.1472	116.4778	MALAYSIA	Nabawan	Borneo Is
MJ19802	PHI006_A	PHI006	8.8064	98.6294	THAILAND	Bencha	Sudthailand
MJ19831	PHI006_A	PHI006	9.0050	98.5583	THAILAND	Kao Sok	Sudthailand
MJ19828	PHI006_A	PHI006	5.0275	116.5975	MALAYSIA	Nabawan	Borneo Is
MJ19829	PHI006_A	PHI006	5.0275	116.5975	MALAYSIA	Nabawan	Borneo Is
MJ19811	PHI006_A	PHI006	5.0433	116.3528	MALAYSIA	Nabawan	Borneo Is
MJ19800	PHI006_A	PHI006	8.0003	99.2897	THAILAND	Klong Thom	Sudthailand
MJ19825	PHI006_A	PHI006	8.0003	99.2897	THAILAND	Klong Thom	Sudthailand
MJ19783	PHI006_A	PHI006	4.4736	115.7542	MALAYSIA	Long Pasia	Borneo Is
MJ19784	PHI006_A	PHI006	-1.7136	110.4828	MALAYSIA	Bako	Borneo Is
MJ19795	PHI006_A	PHI006	4.4736	115.7542	MALAYSIA	Long Pasia	Borneo Is
MJ19796	PHI006_A	PHI006	5.1117	116.3975	MALAYSIA	Nabawan	Borneo Is
MJ19797	PHI006_A	PHI006	-7.2594	110.4494	INDONESIA	Salatiga	Java Is
MJ19804	PHI006_A	PHI006	4.9575	116.4250	MALAYSIA	Nabawan	Borneo Is
MJ19787	PHI006_A	PHI006	-7.2594	110.4494	INDONESIA	Salatiga	Java Is
MJ19817	PHI006_A	PHI006	5.0433	116.3528	MALAYSIA	Nabawan	Borneo Is
MJ19819	PHI006_A	PHI006	5.1472	116.4778	MALAYSIA	Nabawan	Borneo Is
MJ19793	PHI006_A	PHI006	5.1472	116.4778	MALAYSIA	Nabawan	Borneo Is
MJ19805	PHI006_A	PHI006	5.1472	116.4778	MALAYSIA	Nabawan	Borneo Is
MJ19806	PHI006_A	PHI006	5.1472	116.4778	MALAYSIA	Nabawan	Borneo Is
MJ19824	PHI006_A	PHI006	5.0275	116.5975	MALAYSIA	Nabawan	Borneo Is
MJ19798	PHI006_A	PHI006	4.4736	115.7542	MALAYSIA	Long Pasia	Borneo Is
MJ24169	PHI006_A	PHI006	6.9997	100.7456	THAILAND	Songkla	Sudthailand
MJ24170	PHI006_A	PHI006	14.5058	101.9311	THAILAND	Sakaerat	Ratchasima
MJ19820	PHI006_A	PHI006	9.0050	98.5583	THAILAND	Kao Sok	Sudthailand
MJ19816	PHI006_A	PHI006	8.9550	98.6397	THAILAND	Kao Sok	Sudthailand
MJ19788	PHI006_A	PHI006	-1.7136	110.4828	MALAYSIA	Bako	Borneo Is
MJ19790	PHI006_A	PHI006	4.9575	116.4250	MALAYSIA	Nabawan	Borneo Is
MJ19808	PHI006_A	PHI006	4.7492	115.8917	MALAYSIA	Long Pasia	Borneo Is
MJ19809	PHI006_A	PHI006	4.4736	115.7542	MALAYSIA	Long Pasia	Borneo Is
MJ19812	PHI006_A	PHI006	5.1472	116.4778	MALAYSIA	Nabawan	Borneo Is
MJ19813	PHI006_A	PHI006	8.9550	98.6397	THAILAND	Kao Sok	Sudthailand
MJ19814	PHI006_A	PHI006	4.9575	116.4250	MALAYSIA	Nabawan	Borneo Is

MJ14900	PHI006_B	PHI006	-8.3961	126.0128	EAST TIMOR	Timor	Timor
EX1581	PHI006_B	PHI006	4.7528	115.7875	MALAYSIA	Sabah	Borneo Is
ZRC_ENT00014138	PHI006_B	PHI006	1.3861	103.7994	SINGAPORE	Singapore	Singapore
EMS2616	myrmecodiae	PHI008	-10.5635	161.9206	SOLOMON ISLANDS	Makira	Makira Is
36_Assembly	myrmecodiae	PHI008	-5.9270	155.0864	BOUGAINVILLE	Kokoturi	Bougainville
GUA0563	myrmecodiae	PHI008	-9.5556	160.1169	SOLOMON ISLANDS	Guadalcanal	Solomon
MJ6908	PHI007	PHI008	-5.6680	150.4190	PAPUA NEW GUINEA	New Britain	Bismarck Archipelago
MJ6910	PHI007	PHI008	-5.4395	150.0884	PAPUA NEW GUINEA	New Britain	Bismarck Archipelago
MJ6931	PHI007	PHI008	-5.4395	150.0884	PAPUA NEW GUINEA	New Britain	Bismarck Archipelago
MJ6909	PHI007	PHI008	-5.4395	150.0884	PAPUA NEW GUINEA	New Britain	Bismarck Archipelago
MJ6930	PHI007	PHI008	-5.4395	150.0884	PAPUA NEW GUINEA	New Britain	Bismarck Archipelago
BG_5799	PHI007	PHI008	-5.4131	154.6410	BOUGAINVILLE	Tsmanienan	Bougainville
1124_Assembly	PHI007	PHI008	-3.0528	151.6135	PAPUA NEW GUINEA	Langenia	Bismarck Archipelago
MJBG19_5799	PHI007	PHI008	-5.4131	154.6410	BOUGAINVILLE	Bougainville	Bougainville
MJ0751	PHI008	PHI008	-5.1433	145.7722	PAPUA NEW GUINEA	Baitabag	Madang
MJ6902	PHI008	PHI008	-5.1560	145.7950	PAPUA NEW GUINEA	Nagada	Madang
EY-YAW12-0872	PHI008	PHI008	-6.1352	146.8446	PAPUA NEW GUINEA	Yawan	Morobe
EY-YAW12-0940	PHI008	PHI008	-6.1352	146.8446	PAPUA NEW GUINEA	Yawan	Morobe
EY-YAW12-0978	PHI008	PHI008	-6.1352	146.8446	PAPUA NEW GUINEA	Yawan	Morobe
EY-YAW12-1027	PHI008	PHI008	-6.1352	146.8446	PAPUA NEW GUINEA	Yawan	Morobe
EY-YAW12-1032	PHI008	PHI008	-6.1352	146.8446	PAPUA NEW GUINEA	Yawan	Morobe
EY-YAW12-1049	PHI008	PHI008	-6.1352	146.8446	PAPUA NEW GUINEA	Yawan	Morobe
EY-YAW12-0890	PHI008	PHI008	-6.1352	146.8446	PAPUA NEW GUINEA	Yawan	Morobe
MJ15421	PHI008	PHI008	-4.9608	143.9650	PAPUA NEW GUINEA	Lembena	Enga
B-LEW09-002	PHI008	PHI008	-4.9608	143.9650	PAPUA NEW GUINEA	Lembena	Enga
MJ15413	PHI008	PHI008	-4.9608	143.9650	PAPUA NEW GUINEA	Lembena	Enga
PKEE179	PHI008	PHI008	-5.2333	145.1830	PAPUA NEW GUINEA	Wanang	Madang
EY-YAW12-0901	PHI008	PHI008	-6.1352	146.8446	PAPUA NEW GUINEA	Yawan	Morobe
EY-YAW12-0948	PHI008	PHI008	-6.1352	146.8446	PAPUA NEW GUINEA	Yawan	Morobe
MJ13265	PHI008	PHI008	-6.1595	146.8406	PAPUA NEW GUINEA	Yawan	Morobe
MJ13270	PHI008	PHI008	-5.1047	145.8218	PAPUA NEW GUINEA	Nagada	Madang
oo6	PHI008	PHI008	-5.1281	145.8014	PAPUA NEW GUINEA	Nagada	Madang
MJ13273	PHI008	PHI008	-5.1470	145.8000	PAPUA NEW GUINEA	Riwo	Madang
MJ6903	PHI008	PHI008	-5.1560	145.7950	PAPUA NEW GUINEA	Nagada	Madang
MJ6926	PHI008	PHI008	-5.1560	145.7950	PAPUA NEW GUINEA	Nagada	Madang
MJPNG08-1244	PHI008	PHI008	-6.5080	143.0780	PAPUA NEW GUINEA	Fogomaiu	Southern Highlands

NAG11-0401	PHI008	PHI008	-5.1467	145.7997	PAPUA NEW GUINEA	Nagada	Madang
MJ13254	PHI008	PHI008	-8.6192	141.1203	PAPUA NEW GUINEA	Weam	Western
WEAM10-0059	PHI008	PHI008	-8.6182	141.1208	PAPUA NEW GUINEA	Weam	Western
MJ18069	PHI008	PHI008	-8.6182	141.1208	PAPUA NEW GUINEA	Weam	Western
WEA-059-MPA	PHI008	PHI008	-8.6182	141.1208	PAPUA NEW GUINEA	Weam	Western
WEAM10-0233	PHI008	PHI008	-8.6182	141.1208	PAPUA NEW GUINEA	Weam	Western
MJ9386	PHI008	PHI008	-9.4360	147.3480	PAPUA NEW GUINEA	Varirata	Port Moresby
WEAM10-0264	PHI008	PHI008	-8.6182	141.1208	PAPUA NEW GUINEA	Weam	Western
MJ13267	PHI008	PHI008	-6.1490	146.8472	PAPUA NEW GUINEA	Yawan	Morobe
PK-EE155	PHI008	PHI008	-5.1430	145.0580	PAPUA NEW GUINEA	Wanang	Madang
MJ13275	PHI008	PHI008	-5.1333	145.7667	PAPUA NEW GUINEA	Nagada	Madang
MJ18060	PHI008	PHI008	-5.1047	145.8218	PAPUA NEW GUINEA	Nagada	Madang
MJ6884	PHI008	PHI008	-5.5466	141.5040	PAPUA NEW GUINEA	Kaiangabip	Western
MJ21341	PHI008	PHI008	-12.7416	143.2312	AUSTRALIA	Lockhart River	Queensland
MJ21390	PHI008	PHI008	-12.7128	143.3001	AUSTRALIA	Lockhart River	Queensland
MJ21392	PHI008	PHI008	-12.7100	143.2923	AUSTRALIA	Lockhart River	Queensland
MJ21391	PHI008	PHI008	-12.7069	143.2937	AUSTRALIA	Lockhart River	Queensland
MJ21387	PHI008	PHI008	-12.7128	143.3001	AUSTRALIA	Lockhart River	Queensland
MJ21337	PHI008	PHI008	-12.7396	143.2323	AUSTRALIA	Lockhart River	Queensland
MJ21344	PHI008	PHI008	-12.7383	143.2224	AUSTRALIA	Lockhart River	Queensland
MJ13258	PHI008	PHI008	-8.6470	141.1343	PAPUA NEW GUINEA	Weam	Western
MJ13162	PHI008	PHI008	-5.7291	142.2633	PAPUA NEW GUINEA	Muller range	Western
MJ13257	PHI008	PHI008	-8.6470	141.1343	PAPUA NEW GUINEA	Weam	Western
MJ13255	PHI008	PHI008	-8.6470	141.1343	PAPUA NEW GUINEA	Weam	Western
MJ7935	PHI008	PHI008	-6.5080	143.0780	PAPUA NEW GUINEA	Fogomaiu	Southern Highlands
MJ9367	PHI008	PHI008	-8.7620	141.9160	PAPUA NEW GUINEA	Morehead	Morehead
WEAM10-0201	PHI008	PHI008	-8.6182	141.1208	PAPUA NEW GUINEA	Weam	Western
WEAM10-0225	PHI008	PHI008	-8.6182	141.1208	PAPUA NEW GUINEA	Weam	Western
MJ21374	PHI008	PHI008	-12.6299	143.4223	AUSTRALIA	Lockhart River	Queensland
MJ13260	PHI008	PHI008	-9.7011	147.4666	PAPUA NEW GUINEA	Port Moresby	Port Moresby
MJ13262	PHI008	PHI008	-9.5651	147.3660	PAPUA NEW GUINEA	Magi	Port Moresby
MJ18067	PHI008	PHI008	-9.7011	147.4666	PAPUA NEW GUINEA	Magi	Port Moresby
POM10-0319	PHI008	PHI008	-9.7011	147.4666	PAPUA NEW GUINEA	Magi	Port Moresby
MJ21343	PHI008	PHI008	-12.7383	143.2224	AUSTRALIA	Lockhart River	Queensland
MJ21351	PHI008	PHI008	-12.7145	143.3186	AUSTRALIA	Lockhart River	Queensland
MJ21364	PHI008	PHI008	-12.7933	143.2938	AUSTRALIA	Lockhart River	Queensland
HP0200	PHI008	PHI008	-5.1430	145.0580	PAPUA NEW GUINEA	Wanang	Madang

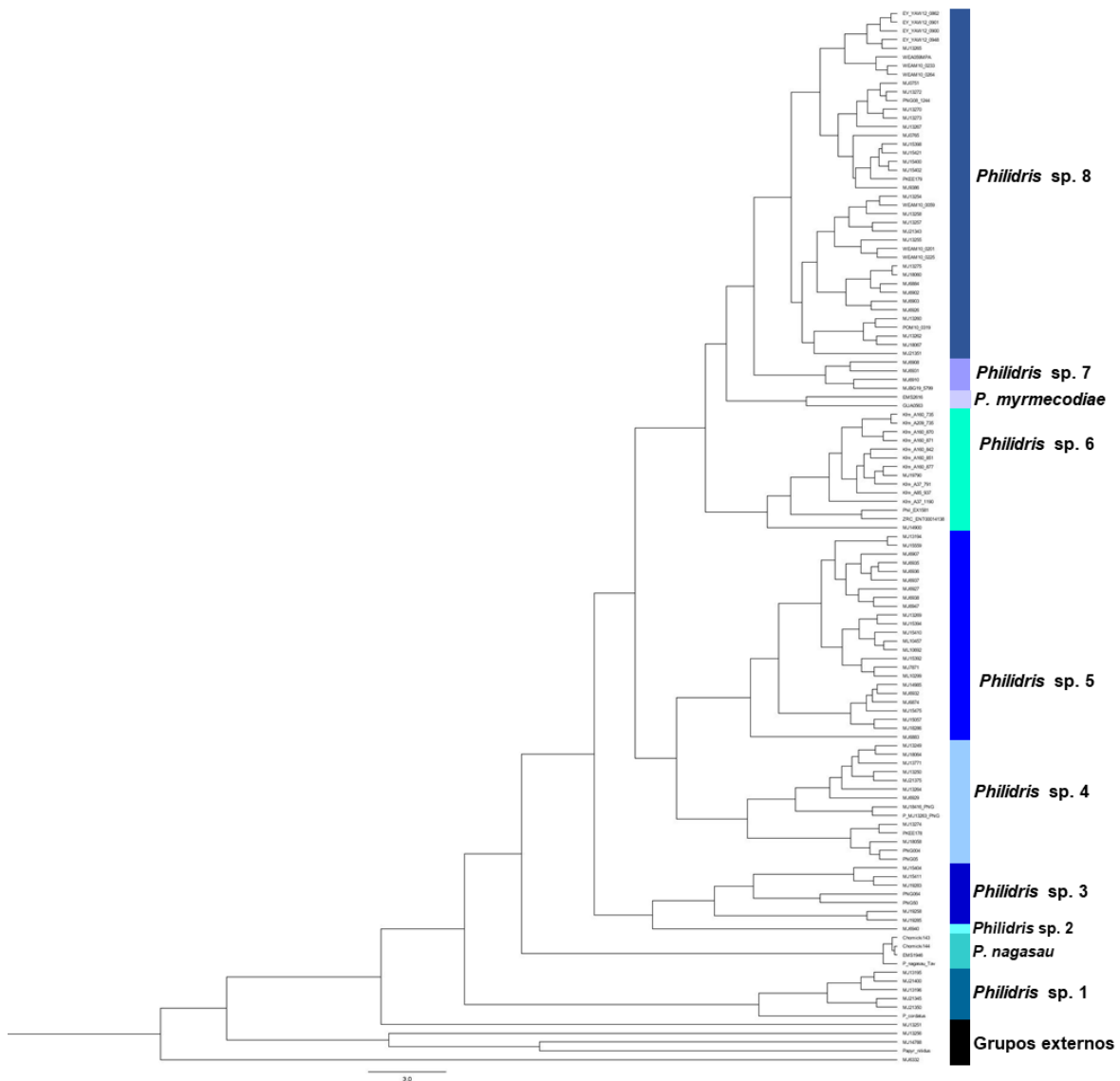
HP0448	PHI008	PHI008	-5.1430	145.0580	PAPUA NEW GUINEA	Wanang	Madang
EY-NAGII-0756	PHI008	PHI008	-5.1560	145.7950	PAPUA NEW GUINEA	Nagada	Madang
MJ15402	PHI008	PHI008	-4.9608	143.9650	PAPUA NEW GUINEA	Lembena	Enga
MJ15400	PHI008	PHI008	-4.9608	143.9650	PAPUA NEW GUINEA	Lembena	Enga
MJ13272	PHI008	PHI008	-5.1470	145.8000	PAPUA NEW GUINEA	Riwo	Madang
MJ0765	PHI008	PHI008	-5.1433	145.7722	PAPUA NEW GUINEA	Baitabag	Madang
MJ21389	PHI008	PHI008	-12.7128	143.3001	AUSTRALIA	Lockhart River	Queensland
EY-YAW-12-0862	PHI008	PHI008	-6.1352	146.8446	PAPUA NEW GUINEA	Yawan	Morobe
EY-YAW-12-0948	PHI008	PHI008	-6.1352	146.8446	PAPUA NEW GUINEA	Yawan	Morobe
MJ21373	PHI008	PHI008	-12.6283	143.3845	AUSTRALIA	Lockhart River	Queensland
MJ18061	PHI008	PHI008	-6.1595	146.8406	PAPUA NEW GUINEA	Yawan	Morobe
MJ13157	PHI008	PHI008	-5.7295	142.2644	PAPUA NEW GUINEA	Muller range	Western
MJ15398	PHI008	PHI008	-4.9608	143.9650	PAPUA NEW GUINEA	Lembena	Enga
MJ13251	PHI008	PHI008	-9.0867	143.2097	PAPUA NEW GUINEA	Daru	Western
MJ13268	PHI008	PHI008	-5.3090	145.7300	PAPUA NEW GUINEA	Astrolabe Bay	Madang
CASENT0200369	-	-	-5.6590	142.3010	PAPUA NEW GUINEA	Muller range	Western

## FIGURAS SUPLEMENTARIAS

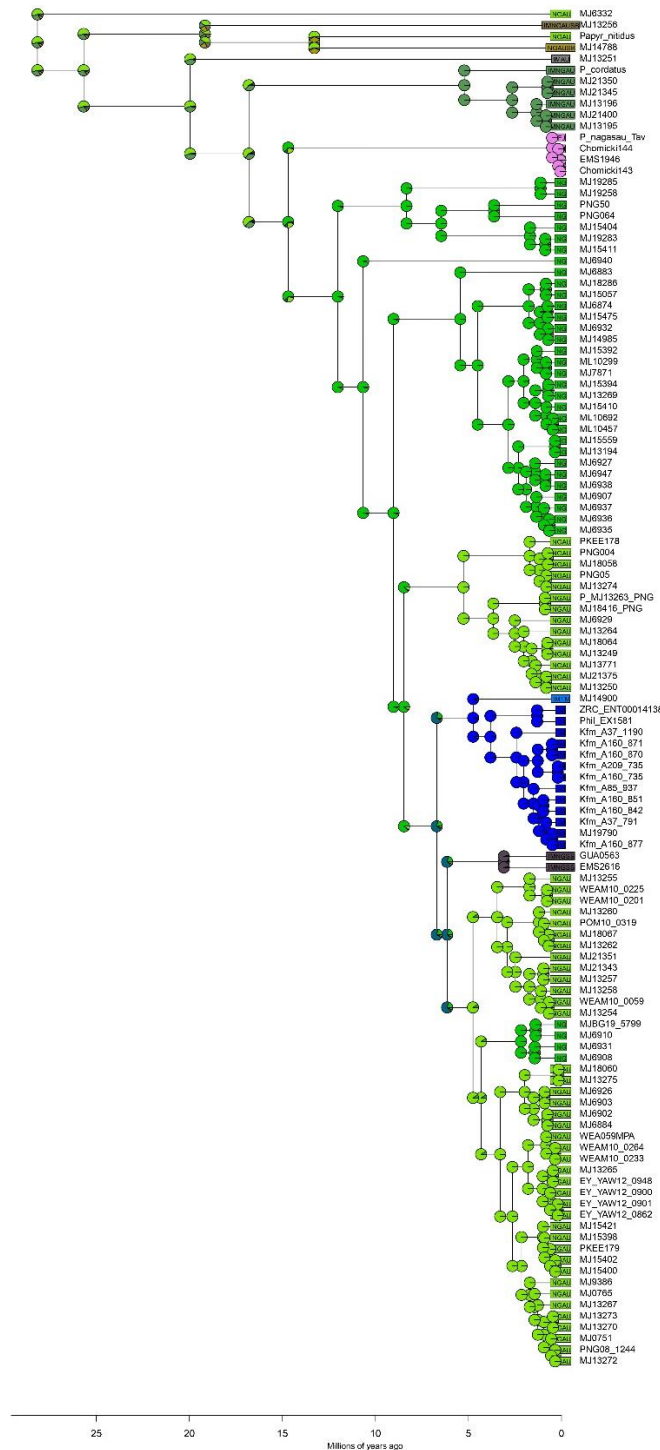


**Figura Suplementaria 1. Reconstrucción filogenética de cinco genes por máxima verosimilitud.** Los resultados están basados en un árbol de cinco genes (COI, CAD, LR, EF1, EF2), por máxima verosimilitud, IQTREE v.1.5.5, con una longitud de 2,894 pb y 9 particiones (PartitionFinder: COI: 1st, 2nd, 3rd; CAD: exón, intrón; LR: exón, intrón; EF1; EF2). Los puntos muestran valores probabilidades posteriores >0.5.

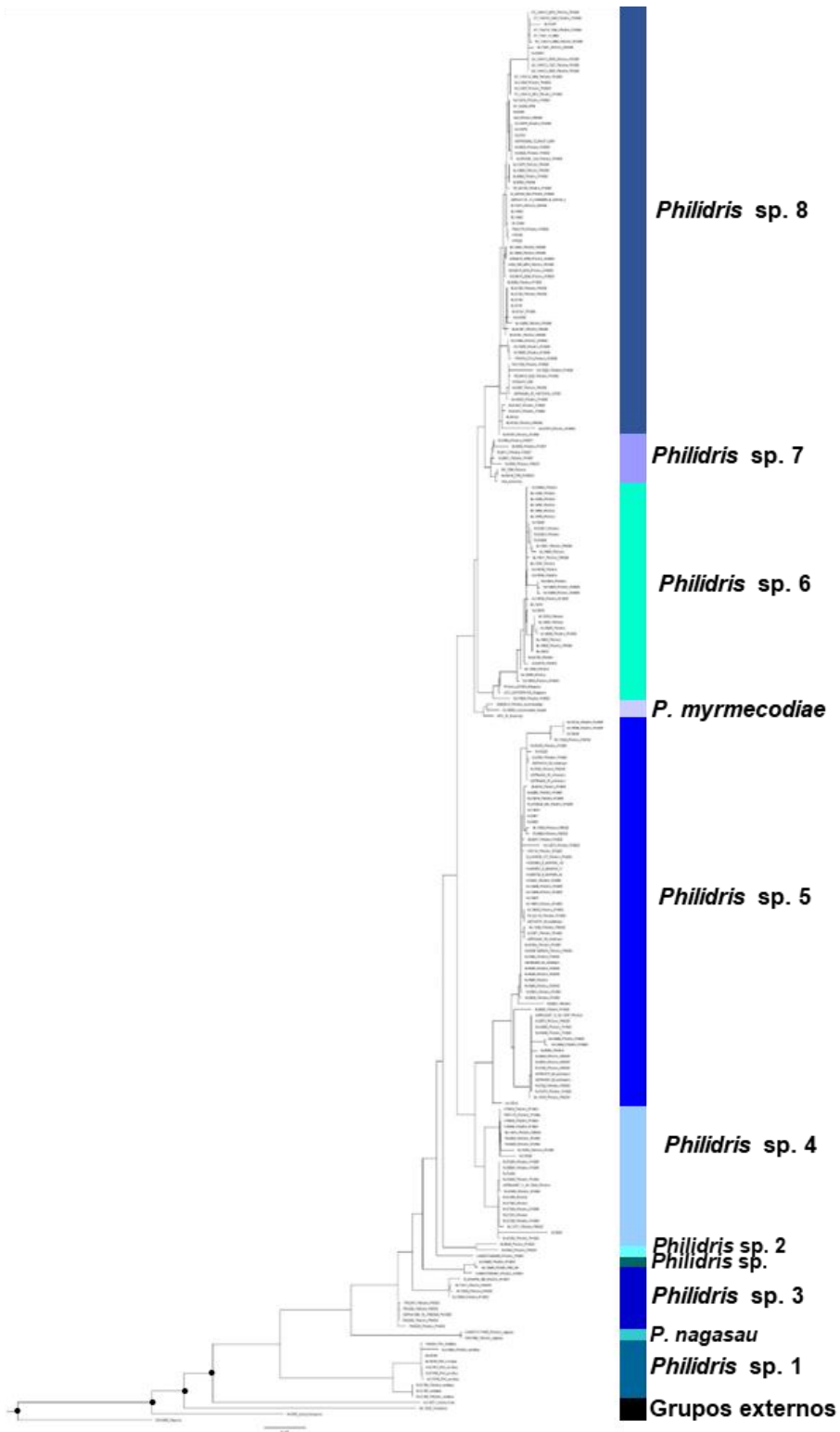




**Figura Suplementaria 2. Reconstrucción filogenética de cinco genes por un Análisis Bayesiano.** Análisis Bayesiano realizado en BEAST, con un modelo de evolución GTR+G, con 4 categorías de frecuencia gamma y un reloj logarítmico normal no correlacionado. La matriz de genes consistió en cinco genes, una longitud de 2,894 pb, nueve particiones (COI: 1st, 2nd, 3rd; CAD: exón e intrón; LR: exón e intrón; EF1; EF2).



**Figura Suplementaria 3. Reconstrucción biogeográfica basada en cinco genes.** Reconstrucción biogeográfica de BIOGEOBEARS, modelo Bayarealike. Basado en un Análisis Bayesiano realizado en BEAST, con un modelo de evolución GTR+G, con 4 categorías de frecuencia gamma y un reloj logarítmico normal no correlacionado. La matriz de genes consistió en cinco genes, una longitud de 2,894 pb, nueve particiones (COI: 1st, 2nd, 3rd; CAD: exón e intrón; LR: exón e intrón; EF1; EF2). Las gráficas circulares en los nodos muestran las probabilidades de las áreas ancestrales.



**Figura Suplementaria 4. Reconstrucción filogenética con marcador molecular COI.** Los resultados están basados en un árbol de citocromo oxidasa (COI), por máxima verosimilitud, IQTREE v.1.5.5, con una longitud de 631 pb, tres particiones (COI: 1st, 2nd, 3rd) y 241 secuencias. Los puntos muestran valores probabilidades posteriores >0.5.