



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Posgrado en Ciencias Biológicas

Filogenia del género *Zapoteca* (Leguminosae,
Caesalpinioideae), Ingeae

Proyecto que presenta

Christian Tun Tun

MAESTRÍA EN CIENCIAS

(Ciencias Biológicas: Opción Recursos Naturales)

Mérida, Yucatán, México

*CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A. C.
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS*

CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A. C.
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS



RECONOCIMIENTO

Por medio de la presente, hago constar que el trabajo de tesis de Christian Emmanuel Tun Tun titulado "Filogenia del género *Zapoteca* (Leguminosae, Caesalpinioideae), Ingeae" fue realizado en la Unidad de Recursos Naturales, Línea de Sistemática y Taxonomía, Laboratorio de Marcadores Moleculares y el herbario CICY del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. bajo la dirección del Dr. Rodrigo Duno de Stefano y Héctor Manuel Hernández Macías, dentro de la opción de Recursos Naturales, perteneciente al Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas de este Centro.

Atentamente.



Dr. Manuel Martínez Estévez
Director de Docencia

Mérida, Yucatán, México, a 30 de agosto de 2018

DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en la sección de Materiales y Métodos Experimentales, los Resultados y Discusión de este documento proviene de las actividades de experimentación realizadas durante el período que se me asignó para desarrollar mi trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y que a razón de lo anterior y en contraprestación de los servicios educativos o de apoyo que me fueron brindados, dicha información, en términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, le pertenece patrimonialmente a dicho Centro de Investigación. Por otra parte, en virtud de lo ya manifestado, reconozco que de igual manera los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que deriven o pudieran derivar de lo correspondiente a dicha información, le pertenecen patrimonialmente al Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y en el mismo tenor, reconozco que si derivaren de este trabajo productos intelectuales o desarrollos tecnológicos, en lo especial, estos se regirán en todo caso por lo dispuesto por la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, en el tenor de lo expuesto en la presente Declaración.



Firma: _____

Nombre: Christian Emmanuel Tun Tun

Este trabajo se llevó a cabo en la Unidad de Recursos Naturales del Centro de Investigación Científica de Yucatán, y forma parte del proyecto titulado Sistemática de la familia Leguminosae bajo la dirección del Dr. Rodrigo Duno de Stefano y Héctor Manuel Hernández Macías.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca recibida (Numero 767064) para realizar los estudios de Maestría, así como también por los fondos recibidos para realizar el trabajo a través proyecto de ciencia básica 00000000081799. A la Dirección General del CICY por el apoyo económico y a la Dra. Miriam Monforte de la Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas por toda su ayuda. Al Laboratorio de Marcadores Moleculares por todo el trabajo molecular. Al Herbario CICY por sus facilidades y el manejo del material en préstamos del género *Zapoteca*. Quedo especialmente agradecido a la bióloga Lilia Lorena Can por todo su apoyo y trabajo molecular, y también a Matilde Margarita Ortiz García y Verónica Limones Briones. A Silvia Hernández Aguilar por el manejo de las muestras de herbario. Se agradece a los herbarios MEXU y MO en donde se hizo una considerable parte del trabajo. También se agradece a la Bióloga Yamilly Padilla por su ayuda en la elaboración de la matriz morfológica.

Agradezco a la toda el staff del Jardín Botánico de Missouri en los Estados Unidos de America. Estoy especialmente agradecido con Olga Martha Montiel por el soporte económico para visitar el Jardín Botánico de Missouri, a la Dra. Burgund Bassüner por su asesoría en la elaboración de mapas de distribución y a Mary Merello por su ayuda en el herbario MO.

Al Dr. Carlos Leopardi por su asesoría en el uso de los programas filogenéticos, así como también a la Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la universidad de Colima por permitirme hacer una estancia en dicha institución.

Quedo agradecido con los miembros revisores del presente trabajo; el Dr. German Carnevali, la Dra. Ivon ramirez y el Dr. William Cetzal. Por último, agradezco al Doctor Héctor Hernández y al Dr. Rodrigo Duno de Stefano, tutores de esta investigación.

ÍNDICE

ÍNDICE.....	i
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iv
ÍNDICE DE CUADROS.....	iv
1.1 RESUMEN.....	v
1.1 ABSTRACT.....	vi
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 ANTECEDENTES.....	2
1.1.1 La familia Leguminosae.....	2
1.1.2 <i>Zapoteca</i> H. M. Hern., un género dedicado a México.....	3
1.1.3 <i>Zapoteca</i> , un género Neotropical con una considerable diversidad en los bosques tropicales secos.....	6
1.1.4 Afinidades morfológicas y taxonómicas en <i>Zapoteca</i>	8
1.1.5 Posición sistemática de <i>Zapoteca</i> en el clado Ingeae + Acacieae.....	12
1.1.6 Bases conceptuales: estudios filogenéticos basados en evidencia morfológica y molecular.....	13
1.1.7 Métodos de análisis: De la máxima parsimonia a los métodos bayesianos.....	15
1.2 PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN E HIPÓTESIS.....	17
1.3 OBJETIVOS.....	19

1.3.1 Objetivo general.....	19
1.3.2 Objetivos específicos.....	19
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
2.1 ANÁLISIS MORFOLÓGICO.....	21
2.1.1 Taxones utilizados en el análisis filogenético morfológico.....	21
2.1.2 Caracteres utilizados en el análisis morfológico.....	22
2.2 ANÁLISIS MOLECULARES.....	29
2.2.1 Taxones utilizados.....	29
2.2.2 Extracción de ADN.....	29
2.2.3 Amplificación.....	33
2.2.4 Secuenciación.....	34
2.2.5 Ensamblaje y limpieza.....	34
2.2.6 Análisis de parsimonia.....	34
2.2.7 Análisis con inferencia bayesiana.....	35
2.2.8 Estimación de los tiempos de divergencia (reloj molecular).....	35
CAPÍTULO III: RESULTADOS.....	37
3.1 ANÁLISIS MOLECULAR EXTENSO DE LA TRIBU INGEAE (ETS).....	37
3.2 ANÁLISIS DE PARSIMONIA BASADO EN CARACTERES MORFOLÓGICOS.....	39
3.3 ANÁLISIS BAYESIANOS CON MARCADORES NUCLEARES Y DE CLOROPLASTO	41

3.4 ANÁLISIS BAYESIANO COMBINADO (ETS, ITS, <i>MATK</i>, <i>TRNK</i>).....	43
3.5 ANÁLISIS DE EVIDENCIA TOTAL (ADN+MORFOLOGÍA).....	47
3.6 RELOJ MOLECULAR.....	49
CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN GENERAL.....	51
4.1 RELACIÓN DE <i>ZAPOTECA</i> CON OTROS GÉNEROS DE LA TRIBU INGEAE.....	51
4.2 RELACIONES INTERNAS EN <i>ZAPOTECA</i>, LA CLASIFICACIÓN INFRAGENÉRICA.....	54
4.3 CONSIDERACIONES TAXONÓMICAS	56
4.4 PATRONES FILOGENÉTICOS EN <i>ZAPOTECA</i>.....	58
4.5 RELACIONES INFRAESPECÍFICAS EN <i>ZAPOTECA</i>.....	60
4.6 PERSPECTIVA HISTÓRICA.....	62
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....	65
5.1 CONCLUSIONES.....	65
5.2 PERSPECTIVAS.....	66
BIBLIOGRAFÍA.....	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Patrones de diversidad (riqueza de taxones) de <i>Zapoteca</i> en el Neotrópico.....	5
Figura 2. Políades de <i>Zapoteca</i> y <i>Calliandra</i>	8
Figura 3. Árbol más probable de la region ETS obtenido con inferencia bayesiana de la tribu Ingeae+ Acacieae.....	38
Figura 4. Árbol de consenso de mayoría del análisis de parsimonia.....	40
Figura 5. Árboles más probables realizados con inferencia bayesiana utilizando las regiones de núcleo (izquierda) vs. cloroplasto (derecha).....	42
Figura 6-A. Árbol más probable realizado con inferencia bayesiana utilizando toda la información molecular (cloroplasto + núcleo).....	45
Figura 6-B. Árbol más probable realizado con inferencia bayesiana utilizando toda la información molecular (cloroplasto + núcleo).....	46
Figura 7. Árbol más probable (no ultramétrico) del análisis filogenético bayesiano de evidencia total (ADN+morfología).....	48
Figura 8. Árbol obtenido en el análisis de reloj molecular.....	50

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Distribución, tipo de ambiente y altitud de <i>Zapoteca</i>	7
Cuadro 2. Clasificación actual del género <i>Zapoteca</i>	11
Cuadro 3. Material de ADN utilizado para realizar los análisis moleculares.....	30
Cuadro 4. Fósiles relacionados con la tribu Ingeae utilizados en el análisis de reloj molecular.....	36
Cuadro 5. Caracteres diagnósticos para <i>Zapoteca</i> , <i>Calliandra</i> y sus segregados.....	53

RESUMEN

Zapoteca H.M. Hern. es un género de Leguminosae (Fabaceae) con 22 especies y 13 subespecies, distribuido en el Neotrópico, con centro de diversidad en México. No existen estudios enfocados en delimitar su taxonomía desde un enfoque filogenético y menos estudios que exploren su evolución. Por tal razón, se realizó un análisis filogenético utilizando evidencia morfológica y molecular. También se utilizó análisis de reloj molecular para explorar las causas de diversificación en el pasado. Los análisis filogenéticos obtenidos sugieren que *Zapoteca* es monofilético, pero no los subgéneros que la componen. En este sentido, es necesario realizar cambios nomenclaturales. También se encontró una alta propensión a la convergencia morfológica, pero con una clara señal filogenética en la distribución; las especies basales sudamericanas forman un grado y las más derivadas se encuentran en Megaméxico. Esto sugiere un origen sudamericano para *Zapoteca*. El análisis de reloj molecular, sugiere una fecha de 34.4 mda para el grupo corona de *Zapoteca* y de 13.4 mda para el clado Megaméxico. Este análisis sugiere que la mayoría de los eventos de especiación sucedieron entre los 11 y 3 mda y que el levantamiento de los Andes fue el responsable del cese en el flujo genético de *Zapoteca* y la formación del eje Neovolcánico transversal fue el causante de la aceleración en las tasas de diversificación en el clado Megamexicano.

ABSTRACT

Zapoteca H.M. Hern. is a genus of Leguminosae (Fabaceae) with 22 species and 13 subspecies, distributed in the Neotropics, with a center of diversity in Mexico. There are no studies focused on delimiting its taxonomy from a phylogenetic approach neither studies that explore its evolution. For this reason, a phylogenetic analysis was performed using morphological and molecular evidence. Also, a molecular clockwise analysis was used to explore the causes of diversification of *Zapoteca* in the past. The phylogenetic analyzes obtained suggest the monophyly of *Zapoteca* but no of its subgenera. In this sense, is necessary to do some nomenclatural changes. Also, a high tendency to morphological convergence was found but with a evident phylogenetic signal in the distribution; south american species are basal and form a grade, while the most derived species are found in Megamexico. This suggest a South American origin. The molecular clock analysis suggests a date of 34.4 my for the *Zapoteca* crown group and 13.4 my for the Megamexico clade. This analysis suggests that the majority of speciation events occurred between 11 and 3 mda and that the uplift of the Andes was responsible for the stop of the genetic flow in *Zapoteca* and the formation of the transversal Neo-Volcanic axis was the cause of the acceleration in diversification rates in the Megamexico clade.

CAPITULO I: INTRODUCCIÓN

Zapoteca H.M. Hern. es un miembro de la familia Leguminosae (Caesalpinoideae, Ingeae) que esta actualmente conformado por 22 especies y 13 subespecies. Este género tiene su centro de diversidad en el estado de Oaxaca, México y se establece principalmente en los bosques secos del Neotrópico, aunque se puede encontrar en una diversidad de ambientes desde bosque mesofilo hasta matorral xerofilo.

Zapoteca fue segregado de *Calliandra* Benth. por Hernández (1986) quien encontró una serie de características con patrones estables de variación como por ejemplo el número cromosómico, características de los cotiledones la plántulas, de la inflorescencia y el polen. Una de las características mas distintivas del género son sus unas estructuras en foma de lenteja en las células centrales de la poliade. Posteriormente Hernández (1989) propuso una clasificación infragenérica basada en características de la hoja (ej. la nervación) y la inflorescencia (ej. formación de pseudopanículas).

Existen pocos trabajos enfocados en delimitar taxonómicamente a *Calliandra* y sus segregados con un enfoque filogenético (ej. Rodriguez de Souza *et al.*, 2016; Rodriguez de Souza *et al.*, 2013) y hasta la fecha no se ha realizado un estudio con suficiente muestreo de *Zapoteca*. En vista de lo anterior, es evidente la necesidad de estudio del género desde un enfoque filogenético. Por tal motivo, en el presente trabajo, se realizo el primer análisis filogenético con un muestreo suficiente de *Zapoteca* utilizando información morfológica y molecular para someter a prueba la propuesta taxonómica de Hernández (1986, 1989). También fue posible responder algunas preguntas referentes al origen del género y sus posibles causas de diversificación.

1.1 ANTECEDENTES

1.1.1 La familia Leguminosae

Leguminosae (Eudicotiledóneas, Superrosidas, Rosidas, Fabidas, Fabales [APG IV, 2016]) es la tercera familia más diversa de angiospermas más importantes en las tierras bajas del Neotrópico (Cardoso, 2017; Gentry, 1988). Además concentra una alta diversidad morfológica que se refleja en su taxonomía: 727 géneros, (68 % de ellos monotípicos como *Faidherbia A. Chev.* o con menos de 10 especies, hasta géneros muy diversos como *Astragalus L.*) que concentran un total de 2,400 especies.

De acuerdo a Candolle (1825), la familia fue dividida en tres subfamilias: Caesalpinoideae, (2,250 especies), Papilionoideae (13,800 especies) y Mimosoideae (3270 especies) que podían ser diagnosticadas principalmente a través de la morfología de la flor (Lewis *et al.*, 2005). Diversos estudios filogenéticos (ej., Doyle *et al.*, 1997; Käss y Wink, 1996; Irwin, 1981) han sugerido que dicha clasificación basada en caracteres florales no representaba tres líneas de evolución divergentes. Recientemente, la LPWG propuso una nueva clasificación infragenérica donde se reconocen seis subfamilias. Esta propuesta no reconoce a la subfamilia Mimosoideae, a pesar de que forma un clado fácilmente diagnosticable con caracteres morfológicos. Los autores de esta propuesta, sugieren referirsele como el clado Mimosoide (LPWG, 2017). Este clado puede reconocerse fácilmente por las flores pequeñas actinomorfas y radialmente asimétricas, pétalos valvados y unidos en la base igual que los sépalos; además las flores se encuentran dispuestas generalmente en inflorescencias en forma de cabezuela; vegetativamente se caracteriza por sus hojas generalmente bipinadas y con nectarios extraflorales en el peciolo (Lewis *et al.*, 2005).

Dentro del clado Mimosoide se encuentra la tribu Ingeae que fue propuesta por Bentham (1865) con base en los caracteres florales como por ejemplo sus estambres unidos en la base formando un tubo que son diagnóstico para la tribu. Sin embargo, existen algunas

excepciones dentro de la tribu que no las presentan, por ejemplo, varias especies de *Havardia* Small (Brown *et al.*, 2008), o también miembros de otras tribus pueden presentar dicho tubo como por ejemplo *Acacia adenogonia* (Pedley) R.S. Cowan & Máslin, *A. eriocarpa* Brenan y *A. ogadensis* Chiov. La tribu Ingeae es considerada como un grupo relativamente especializado, dada la progresión dentro de Leguminosae de los tubos con 10 estambres, con muchos estambres y eventualmente la fusión de éstos (Doyle y Luckow, 2003).

Brown *et al.* (2008) sugiere que la tribu Ingeae en su presente circunscripción, no es monofilética ya que incluye a varios miembros segregados de la tribu Acacieae (*Acaciella* Britton & Rose, *Mariosousa* Seigler & Ebinger, *Senegalia* Raf. y *Vachellia* Wight & Arn.). En este sentido, el entendimiento de las relaciones de la tribu Ingeae está inherentemente asociado a entender también las relaciones de Acacieae. Actualmente, muchos autores (Kyalangalilwa *et al.*, 2013; Gómez-Acevedo *et al.*, 2010; Brown *et al.*, 2008) ya reconocen un grupo que incluye a miembros la tribu Ingeae y algunos miembros de la tribu Acacieae.

1.1.2 Zapoteca H. M. Hern., un género dedicado a México

Zapoteca es un género de la tribu Ingeae (Leguminosae, Caesalpinioideae, clado Mimosoide), cuyo nombre fue designado por Héctor Manuel Hernández Macías en 1986, en homenaje a la etnia *Zapoteca* que se estableció principalmente en el estado de Oaxaca, México, que es el centro de diversidad de *Zapoteca* (Hernández, 1986). Es un grupo relativamente especializado como lo sugieren algunas características ecológicas, como la anthesis nocturna de sus flores y su polinización por polillas (orden Lepidóptera). Actualmente, el género está compuesto por 22 especies y 13 subespecies con una amplia distribución en el Nuevo Mundo, extendiéndose desde el suroeste de los Estados Unidos de América (Sureste de Arizona y Suroeste de Texas), México, Centro América, gran parte de Sudamérica hasta el norte de Argentina y las Antillas (Figura 1). Aunque *Zapoteca* está mejor representado en los bosques tropicales secos, este grupo se establece en una variedad de ambientes que van desde vegetación semiárida, hasta

bosques tropicales perennifolios con un rango altitudinal que varía de los 0–2850 metros sobre el nivel del mar.

La distribución alopátrida de la mayoría de las especies de *Zapoteca* dificulta definir un centro de riqueza a escala local. Sin embargo, a nivel regional es posible definir el sureste de México como el centro de riqueza (Hernandez, 1989). En esta región se sobrelapa la distribución de varias especies como *Zapoteca alinae* H.M. Hern., *Z. formosa* (Kunth) H.M. Hern., *Z. lambertiana* H.M. Hern., *Z. media* H.M. Hern., *Z. portoricensis* (Jacq.) H.M. Hern., *Z. ravenii* H.M. Hern., *Z. sousae* H.M. Hern. & A. Campos (Hernández y Campos 1994), *Z. tehuana* H.M. Hern. (Hernández, 1989) y *Z. tetragona* (Willd.) H.M. Hern (Hernández, 1986). Se puede considerar otros dos centros secundarios de riqueza; uno en Centroamérica (principalmente Costa Rica y Guatemala) donde se encuentra *Z. costaricensis* (Britton & Rose) H.M. Hern., *Z. formosa*, *Z. mollis* (Standl.) H.M. Hern., *Z. portoricensis* y *Z. tetragona*, y otro en el norte de los Andes donde se encuentran *Z. aculeata*, *Z. andina* H.M. Hern., *Z. caracasana* (Jacq.) H.M. Hern., *Z. formosa*, *Z. microcephala* (Britton & Killip) H.M. Hern. y *Z. portoricensis*. A escala global, Megaméxico y Sudamérica parecen tener una riqueza similar (Figura 1), pero la riqueza en Megaméxico está concentrada principalmente en el sureste de México mientras que en Sudamérica las especies presentan distribuciones considerablemente más restringidas que Megaméxico.

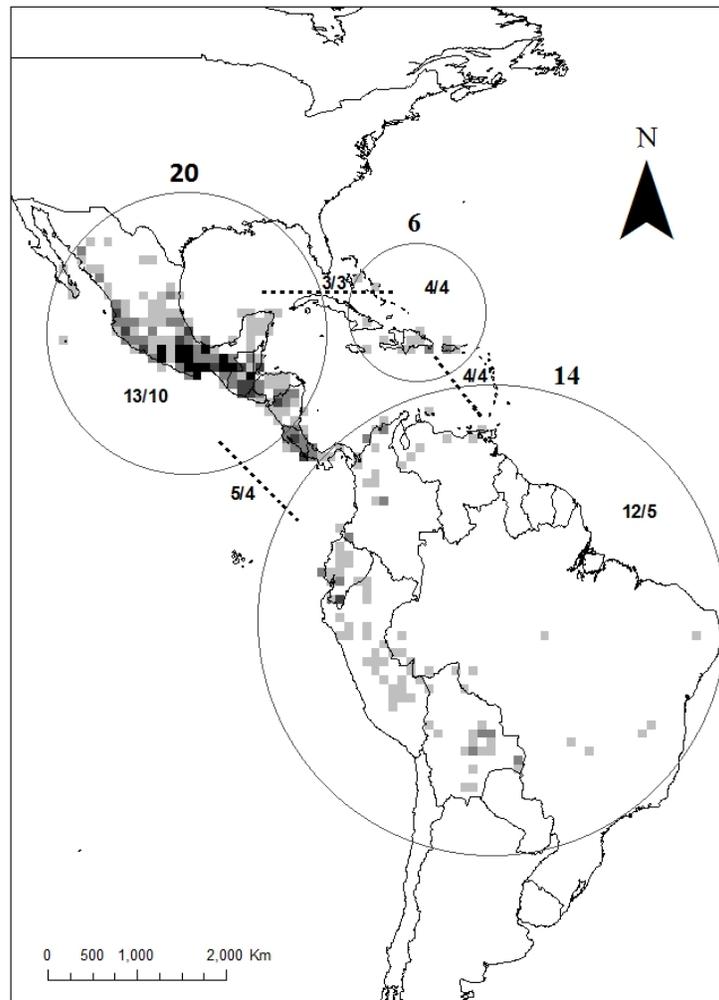


Figura 1 Patrones de diversidad (riqueza de taxones) de *Zapoteca* en el Neotrópico. La intensidad del negro de los cuadros (100x100 km) indica las zonas con más riqueza (más oscuro= más riqueza). Los círculos representan las tres zonas que se consideraron para comparar los patrones de riqueza (Megaméxico, Sudamérica y el Caribe). Los números arriba de los círculos representan el número de unidades taxonómicas (especies más subespecies). Dentro de los círculos se encuentra el número de especies (izquierda) y subespecies (derecha) por región. Por último, los números a un lado de las líneas punteadas señalan el número de especies (izquierda) y subespecies (derecha) que comparten. Mapa basado en 1024 ejemplares de herbario (MEXU, MO, NY) donde las especies más raras generalmente fueron georeferenciadas.

1.1.3 *Zapoteca*, un género Neotropical con una considerable diversidad en los bosques tropicales secos

A pesar de que *Zapoteca* se puede encontrar en una variedad de ambientes (Ver cuadro 1), la mayor riqueza se encuentra en ambientes de climas secos y cálidos. A escala local, el estado de Oaxaca es el centro de riqueza de *Zapoteca*. Dada la posición geográfica de este estado, los climas secos ocupan una considerable porción de la entidad favoreciendo el establecimiento de bosques tropicales secos. Por otro lado, especies como *Z. aculeata*, *Z. amazonica*, *Z. quichoi* y *Z. ravenii* (la mayoría sudamericanas), claramente optan por ecosistemas más húmedos, mientras que *Z. formosa* y *Z. portoricensis*, ambas ampliamente distribuidas, se encuentran en una variedad de ambientes.

Cuadro 1 Distribución geográfica, vegetación y altitud de las especies de *Zapoteca*. Vegetación: bosque tropicla seco (BTS), bosque húmedo tropical (BTH), bosque húmedo de montaña (BHM), matorral semiárido (MS).

Especie	Distribución, vegetación y altitud
<i>Z. acuelata</i>	Ecuador: Ambato, en el Monte Tungurahua. BHM (1600-2850 m).
<i>Z. alinae</i>	México: Oaxaca. BTS, fresco (vegetación secundaria). (1050-1800 m).
<i>Z. amazonica</i>	Brasil: Acre. Ecuador: Morona-Santiago. Perú: Cuzco, Huanuco, Loreto, Pasco y Ucayali. BTH. (350-900 m).
<i>Z. andina</i>	Ecuador: Azuay y Loja. Perú: Cajamarca, La libertad y Piura. Bolivia: La Paz. Endémica de los Andes. BTS. (1400-2650 m).
<i>Z. balsasensis</i>	México: Guerrero. Bosques ribereños de la cuenca del río Balsas. BTS, fresco. (1650-1970 m).
<i>Z. caracasana</i>	Norte de Sudamérica y Antillas (La Española). En áreas perturbadas de diversos tipos de vegetación.
<i>Z. costaricensis</i>	Costa Rica: Limón y San José. BTH. (50–) 700–1300(–1700+).
<i>Z. cruzii</i>	México: Guerrero. BTS. (995-1060 m).
<i>Z. filipes</i>	Brasil: Amazonas, Goiás, Minas Gerais y Rondônia. Cerrados. (950 m).
<i>Z. formosa</i>	Ampliamente distribuido en el Neotrópico. BTS (generalmente en áreas derivadas de matorral xerófilo y bosque tropical caducifolio).
<i>Z. lambertiana</i>	México (distribución discontinua en la vertiente Atlántica del norte de México y en Oaxaca y Chiapas. BTS. (190-900 m).
<i>Z. media</i>	E. U. (Texas) y ampliamente distribuido en México. MS. (1000-2150 m).
<i>Z. microcephala</i>	Colombia: Santander, en el Valle del río Magdalena.
<i>Z. mollis</i>	Costa Rica: Guanacaste, Puntarenas y San José. Panamá: Panamá. BTS.
<i>Z. nervosa</i>	La Española. BTS (sobre rocas calcáreas con poco suelo). (0-250 m).
<i>Z. portoricensis</i>	Ampliamente distribuido en el Neotrópico. BHM, BTH, BTS (sitios abiertos).
<i>Z. quichoi</i>	México: Tabasco, en la Sierra de El Madrigal. BTH.
<i>Z. ravenii</i>	México: Chiapas y Belice. BHM. (400-900 m).
<i>Z. scutellifera</i>	Brasil: Pará, Rondônia. Bolivia: Santa Cruz y Beni. Endémico de la cuenca Amazónica., BTS (generalmente en lugares abiertos y arenosos).
<i>Z. sousae</i>	México: Oaxaca y Colima. BHM. (930-1500).
<i>Z. tehuana</i>	México: Oaxaca. Endémica del istmo de Tehuantepec. BTS. (330-1100).
<i>Z. tetragona</i>	México, Centroamérica y Sudamérica. BTH (hábitats ruderales derivados de bosques tropicales y subtropicales perenifolios). (0-1500 [2300] m).

1.1.4 Afinidades morfológicas y taxonómicas en *Zapoteca*

Zapoteca posee caracteres morfológicos que permiten diagnosticarla fácilmente tales como sus plántulas con cotiledones ovados, sésiles, foliáceos y efímeros; inflorescencias formadas por capítulos compactos esféricos homomórficos; flores con estigmas en forma de copa; polen dispuesto en políades discoidales, acalimadas con 16 granos de polen con una estructura en forma de lenteja en las células centrales (con excepción de *Z. nervosa*); el fruto es elásticamente dehiscente con valvas membranáceas o coriáceas. Todas estas características también se pueden encontrar en otros miembros de la tribu Ingeae con la excepción de las estructuras en forma de lenteja de las políades (Figura 2). En términos prácticos, *Zapoteca* se puede diferenciar de otros grupos relacionados por sus frutos elásticamente dehiscentes, las flores homomórficas, nunca con estambres color rojo y estructuras florales finamente membranosas como por ejemplo, el cáliz y la corola en relación a *Calliandra*. y generalmente sin nectarios extraflorales (excluyendo *Z. nervosa*, *Z. filipes* y *Z. scutellifera*) a diferencia de *Faidherbia*, *Sanjappa* a E.R. Souza & M.V. Krishnaraj, *Thailentadopsis* Kosterm., géneros también segregados de *Calliandra*.

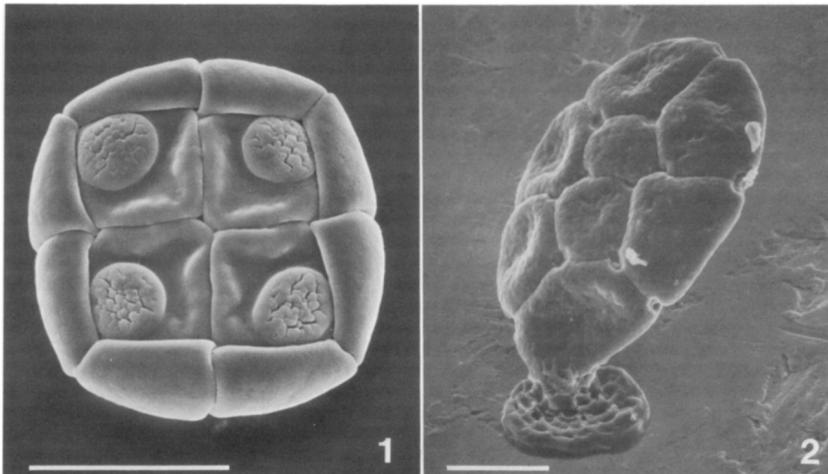


Figura 2 Políades de *Zapoteca* y *Calliandra*. A la izquierda *Z. tetragona*. A la derecha, *C. houstoniana*). Tomado de Hernández (1986).

Zapoteca fue segregado de *Calliandra* por Hernández (1986) con base en la existencia de una serie de características con patrones estables de variación (políades, morfología de las plántulas, números cromosómicos, así como varios rasgos reproductivos) que revelaron la presencia de dos unidades taxonómicas bien definidas en *Calliandra s.l.* El reconocimiento de otros segregados de *Calliandra* como: *Viguieranthus* Villiers (Villiers, 2002), *Afrocalliandra* E.R. Souza & L.P. Queiroz y *Sanjappa*, resulta en una clasificación más natural (grupos monofiléticos). En el caso de *Calliandra*, la segregación de *Zapoteca*, y de otros segregados, reduce la variabilidad y distribución del género; por ejemplo, se generaliza la presencia de políades calimadas con ocho granos de polen y se restringe el género a América). Por otro lado, algunos estudios han sugerido que estos segregados de *Calliandra* del Viejo Mundo forman un clado (Rodríguez de Souza *et al.*, 2016) lo cual puede sugerir un evento de dispersión único al Viejo Mundo.

Originalmente, *Zapoteca* se conformó por las especies de *Calliandra* serie *Laetevirentes*. y una revisión del género realizada por Hernández (1989), reconoce 17 especies, de las cuales tres fueron nuevas para la ciencia (*Z. alinae*, *Z. andina* y *Z. tehuana*). En el mismo trabajo se reconocen 11 subespecies, de las cuales *Z. portoricensis* subsp. *pubicarpa* se describe como nueva. A la fecha se han descrito cinco nuevos taxones: *Z. ravenii* (Hernández, 1990), *Z. sousae* (Hernández y Campos, 1994), *Z. quichoi* H.M. Hern. & A.M. Hanan (Hernández y Hanan-Alipi, 1998), *Z. balsasensis* H.M. Hern. y *Z. cruzii* H.M. Hern. (Hernández, 2015) y las subespecies *Z. formosa* subsp. *sinaloana* H.M. Hern. (Hernández, 2015) y *Z. formosa* subsp. *socorrensensis* (I.M. Johnst.) G.A. Levin, H.M. Hern. & Moran (Levin *et al.*, 1989). En resumen, el género cuenta con 22 especies y 13 subespecies (Cuadro 2).

Referente a las relaciones infragenéricas, Hernández (1989) subdividió a *Zapoteca* en cuatro subgéneros en función de las características de la vaina, los patrones de venación, la textura y el tamaño de los folíolos y el número de pares de folíolos por pinna. Posteriormente, con el descubrimiento de *Z. ravenii* (1990), se reconoce *Zapoteca*

subgénero *Ravenia* H.M. Hern. (1990) y se transfiere *Z. tehuana* a este subgénero. Actualmente, se reconocen cinco subgéneros que posiblemente reflejen diferentes líneas evolutivas dentro del género (Hernández, 1989).

Cuadro 2 Clasificación actual del género *Zapoteca*. Tomado de Hernández (2015, 1990, 1989, 1986); Hernández y Hanan-Alipi (1998); Hernández y Campos (1994).

Zapoteca Subgénero	Especie	Subespecie
<i>Nervosa</i> H.M. Hern.	<i>Z. nervosa</i> (Urb.) H.M. Hern.	
<i>Acuelata</i> H.M. Hern.	<i>Z. aculeata</i> (Spruce ex Benth.) H.M. Hern.	
<i>Ravenia</i> H.M. Hern.	<i>Z. ravenii</i> H.M. Hern. <i>Z. tehuana</i> H.M. Hern.	
<i>Amazonica</i> H.M. Hern.	<i>Z. microcephala</i> (Britton & Killip) H.M. Hern. <i>Z. amazonica</i> (Benth.) H.M. Hern. <i>Z. quichoi</i> H.M. Hern. & A.M. Hanan	
<i>Zapoteca</i>	<i>Z. media</i> (M. Martens & Galeotti) H.M. Hern. <i>Z. alinae</i> H.M. Hern. <i>Z. lambertiana</i> (G. Don) H.M. Hern. <i>Z. filipes</i> (Benth.) H.M. Hern. <i>Z. portoricensis</i> (Jacq.) H.M. Hern.	<i>Z. subsp. portoricensis</i> <i>A. subsp. pubicarpa</i> H.M. Hern. Subsp. <i>flavida</i> (Urb.) H.M. Hern.
	<i>Z. mollis</i> (Standl.) H.M. Hern. <i>Z. caracasana</i> (Jacq.) H.M. Hern.	<i>Z. subsp. caracasana</i> <i>Z. subsp. weberbaueri</i> (Harms) H.M. Hern.
	<i>Z. tetragona</i> (Willd.) H.M. Hern. <i>Z. andina</i> H.M. Hern. <i>Z. costaricensis</i> (Britton & Rose) H.M. Hern. <i>Z. formosa</i> (Kunth) H.M. Hern.	<i>Z. formosa</i> subsp. <i>formosa</i> <i>Z. formosa</i> subsp. <i>salvadorensis</i> (Britton & Rose) H.M. Hern. <i>Z. formosa</i> subsp. <i>gracilis</i> (Griseb.) H.M. Hern. <i>Z. formosa</i> subsp. <i>rosei</i> (Wiggins) H.M. Hern. <i>Z. formosa</i> subsp. <i>mollicula</i> (J.F. Macbr.) H.M. Hern. <i>Z. formosa</i> subsp. <i>schottii</i> (Torr. ex S. Watson) H.M. Hern. <i>Z. formosa</i> subsp. <i>sinaloana</i> H.M. Hern. <i>Z. formosa</i> subsp. <i>socorrensis</i> (I.M. Johnst.) G.A. Levin, H.M. Hern. & Moran
	<i>Z. scutellifera</i> (Benth.) H.M. Hern. <i>Z. cruzii</i> H.M. Hern. <i>Z. sousae</i> H.M. Hern. & A. Campos V.	

1.1.5 Posición sistemática de *Zapoteca* en el clado Ingeae + Acacieae

La relación de *Zapoteca* con otros géneros de la tribu Ingeae + Acacieae aún no es clara. Hernández (1989), sugiere que posiblemente *Zapoteca* tenga una relación más cercana con otros miembros de la tribu Ingeae que con *Calliandra*. La presencia de varios caracteres (e.j., características de la políade, número de cromosomas, morfología floral) atípicos en Ingeae, sugieren que *Calliandra* es evolutivamente divergente de otros géneros de la tribu. Algunos análisis morfológicos (Barneby y Grimes, 1996; Grimes, 1995) y moleculares (Iganci *et al.*, 2015; Brown *et al.*, 2008; Luckow *et al.*, 2000), han relacionado a *Zapoteca* con *Calliandra* pero estos trabajos se caracterizan por contar con un insuficiente muestreo de los géneros de la tribu Ingeae. Es recurrente encontrar como grupo hermano de *Zapoteca* a *Faidherbia* (Kyalangalilwa *et al.*, 2013; Luckow *et al.* 2003; Miller *et al.*, 2003), a la alianza *Pithecellobium* (Brown *et al.*, 2008) o a *Viguieranthus* Villiers (Rodríguez de Souza *et al.*, 2013). La discrepancia en las relaciones genéricas de *Zapoteca* seguramente se debe a que no se ha realizado un análisis integrando a todas las especies (*Calliandra*, *Faidherbia*, *Thaigentadopsis* y *Viguieranthus*) con las que se le ha encontrado relacionada. Los análisis filogenéticos más completos considerando un mayor número de especies de *Zapoteca* y grupos relacionados, han sido los de Rodríguez de Souza *et al.* (2013) y Rodríguez de Souza *et al.* (2016). Sin embargo, ninguno obtuvo resultados suficientemente robustos para definir una hipótesis filogenética fiable, aunque sugieren que *Zapoteca* está más relacionado con los segregados de *Calliandra* que con el mismo género *Calliandra*.

Las características reproductivas fueron utilizadas para definir a los segregados en *Calliandra* y podrían brindar información valiosa acerca de las relaciones de *Zapoteca* con otros géneros. Por ejemplo, las políades formadas por 16 granos de polen son una característica común de *Zapoteca* y *Viguieranthus* (Rodríguez de Souza *et al.*, 2013). *Faidherbia*, aunque presenta políades con más granos de polen, continúa asemejándose más a *Zapoteca* que a *Calliandra*. Con respecto al estigma, *Zapoteca* presenta un estigma en forma de copa y estrecho lo que quiere decir que tiene apenas el suficiente espacio para una sola políade (Hernández, 1986). Este tipo de estigma parece ser común en la

tribu Ingeae, a excepción de *Calliandra*. Entonces, la información morfológica también sugiere que *Zapoteca* puede estar más asociada a otros géneros (como los segregados de *Calliandra*) que con *Calliandra*.

Varios estudios basados en datos moleculares (Iganci *et al.*, 2015; Kyalangalilwa *et al.* 2013; Brown, 2008; Brown *et al.*, 2008; Miller *et al.*, 2003) se han concentrado en entender las relaciones internas de la tribu Ingeae. En *Calliandra* y sus segregados, se han realizado algunos trabajos enfocados en la delimitación taxonómica desde un enfoque filogenético (Rodríguez de Souza *et al.*, 2016; Rodríguez de Souza *et al.*, 2013), pero *Zapoteca* ha estado pobremente representado en estos análisis. En este sentido, ninguno trabajo se ha realizado enfocado en *Zapoteca*. Sin embargo, Hernández (1989, 1986) estableció un punto de partida para entender las relaciones infragenericas en *Zapoteca*. Con un análisis filogenético utilizando tanto evidencia morfológica como molecular, es posible someter a prueba la propuesta de Hernández, así como responder preguntas referentes al origen del género y sus posibles causas de diversificación.

1.1.6 Bases conceptuales: estudios filogenéticos basados en evidencia morfológica y molecular

Al inicio de la sistemática filogenética, la evidencia morfológica fue la única fuente de información para someter a prueba hipótesis de relaciones evolutivas (Henning, 1950). Esta fuente de información había sido utilizada desde que se crearon los primeros sistemas de clasificación con la ayuda del método comparativo. La evidencia morfológica tiene varias virtudes entre las que se puede destacar el hecho de que es posible obtener información a partir de muestras de herbario. El uso de información morfológica también implicaba que el investigador debe conocer el grupo que trabaja para garantizar una codificación correcta de los estados de carácter. Todo esto resulta en hipótesis de relaciones que son el resultado de un riguroso proceso de interpretación de la morfología del grupo que se estudia. Sin embargo, estas hipótesis de relaciones basadas en evidencia morfológica no podían ser siempre sometidas a prueba o comparadas con otras fuentes de evidencia (Wiens, 2004).

A mediados de los años 1960 se comenzó a acumular una nueva fuente de información que más adelante ocuparía protagonismo en los análisis filogenéticos: iniciaba el desarrollo de la biología molecular. Se inicia la secuenciación de las primeras cadenas de proteínas y de ADN. Esta nueva fuente de información se utilizó como uno de los principales puntos de comparación de las propuestas taxonómicas e hipótesis de relaciones obtenidas con la información morfológica (Scotland *et al.* 2003).

En la actualidad, el incremento en la capacidad de cómputo de las tecnologías informáticas, la revolución de las teorías filogenéticas y el desarrollo de la tecnología molecular, llevó a que, en la última década, hubiera un aumento en los estudios filogenéticos (Doyle y Luckow, 2003). Actualmente, es posible trabajar con matrices de información cada vez más grandes e incluso es posible procesar diferentes tipos de información en un solo análisis, a través de los análisis denominados de evidencia total (Kluge, 1989).

Desde que los datos moleculares se incorporaron a los análisis filogenéticos, ha existido un debate sobre si éstos o los morfológicos resultan mejores como fuente de información para estimar la filogenia (Patterson *et al.*, 1993). Por un lado, la información morfológica ha sido criticada por su susceptibilidad a la convergencia evolutiva (Sanderson y Donoghue, 1989): también se ha criticado el hecho que la información morfológica no tiene modelos de evolución concretos y su caracterización pudiera ser ambigua (Scotland *et al.*, 2003). Los detractores de la información molecular opinan que los caracteres moleculares brindan una señal muy débil y en algunos casos han señalado que ha habido dificultad para establecer homologías (Patterson, 1987).

El debate morfología *versus* moléculas como mejor estimador de relaciones filogenética aún sigue en discusión (Jenner, 2004). A pesar de lo anterior, la comunidad científica parece estar de acuerdo en que ambos son un complemento y al no ser incongruentes entre sí, deben ser analizados en conjunto. Jenner (2004), por su parte propone que los análisis filogenéticos actuales no deben excluir a los caracteres morfológicos en la generación de filogenias ya que pueden aportar información valiosa. Son numerosos los

casos en los que ambas fuentes de información han logrado resolver relaciones filogenéticas en conjunto. Por ejemplo, la familia Leguminosae se reconoció a partir de un pequeño conjunto de datos morfológicos (Jussieu, 1789) y posteriormente, una gran cantidad de estudios moleculares han confirmado su monofilia e incluso reconocieron subfamilias estableciendo las relaciones entre éstas (LPWG, 2017). De igual manera, la información morfológica permite incluir especies de las que no se han podido obtener secuencias. Finalmente, la incorporación de taxones extintos en las filogenias actuales solo es posible al incorporar información morfológica.

1.1.7 Métodos de análisis: de la máxima parsimonia a los métodos bayesianos

La parsimonia ha sido durante mucho tiempo el principio metodológico más usado para inferir relaciones filogenéticas a partir de caracteres discretos, morfológicos y moleculares (Lewis, 2001). El principio metodológico en la máxima parsimonia radica en obtener el árbol que requiera el menor número de pasos evolutivos para explicar el conjunto de datos que se presenta (Swofford *et al.*, 1996). Este sencillo principio permite entender con mayor facilidad el proceso que sufren los datos al ser analizados con los algoritmos de parsimonia, lo que permite tener un mayor control y entendimiento sobre los resultados. Sin embargo, los métodos basados en parsimonia presentaban el problema de analizar de manera incorrecta conjuntos de datos cuando existía una variación amplia en las longitudes de las ramas del árbol (Holder y Lewis, 2003). Este problema metodológico se conoce como atracción de ramas largas (Felsenstein, 1978).

En los últimos años se ha popularizado el uso de métodos estadísticos en los análisis filogenéticos. La máxima probabilidad y la inferencia bayesiana son métodos estadísticos basados en modelos de evolución molecular, donde se toma en cuenta conocimiento *a priori* acerca de los caracteres (Holder y Lewis, 2003). Estas consideraciones son particularmente importantes en caracteres moleculares donde se puede considerar las fuerzas evolutivas y las características genéticas de los caracteres. El método de máxima verosimilitud estima la probabilidad de qué tan bien la matriz de caracteres es explicada por los árboles filogenéticos (Felsenstein, 2004), mientras que la inferencia bayesiana

estima la probabilidad de qué tan bien los árboles filogenéticos son explicados por los datos (la matriz de caracteres) (Brooks *et al.* 2007; Huelsenbeck *et al.* 2001). A pesar que ambos métodos de análisis cuentan con la virtud de no ser susceptibles a la atracción de rama larga, generalmente se ha preferido el uso de la inferencia bayesiana debido a que este método utiliza “atajos” para los cálculos, al emplear el algoritmo conocido como Markov Chain Monte Carlo (MCMC), el cual permite realizar búsquedas a través de un número menor de árboles según sus valores de probabilidades posteriores (Huelsenbeck *et al.*, 2001). Esto permite que la inferencia bayesiana demande menos poder computacional y sea más rápida que la máxima verosimilitud. Estos dos métodos también presentan problemás al ser poco confiables cuando las tasas de evolución de ADN no son homogéneas en el tiempo ni entre linajes (Kolaczkowski y Thornton 2004).

Ninguno de los tres métodos es inmune a errores, por lo que es necesario entender el proceso de cálculo para elegir el método que menos tenga errores según el conjunto de datos que se tiene. También se puede considerar el usar diferentes métodos y analizar la concordancia de las hipótesis filogenéticas resultantes como indicios de robustez. Si existe discordancia, entonces se debe tener cautela al discutir las relaciones filogenéticas de los nodos discordantes (Kolaczkowski y Thornton, 2004; Pol, 2001).

1.2 PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN E HIPÓTESIS

1. ¿Zapoteca forma un clado monofilético, así como los subgéneros que lo conforman?

a. **Hipótesis asociada.** Hernández (1989,1986), al estudiar el género *Calliandra*, encontró una serie de características con patrones estables de variación que le permitió proponer el género *Zapoteca*. Como parte de este trabajo, se realizó una clasificación infragenérica basada principalmente en rasgos vegetativos. Trabajos posteriores han comprobado la monofilia del género, pero con un muestreo limitado. Por ejemplo, Rodríguez de Souza *et al.*, 2016 y Rodríguez de Souza *et al.*, 2013. Ambos incluyeron únicamente a los miembros del subgénero *Zapoteca*.

Entonces:

- Todas las especies incluidas en *Zapoteca* bajo la actual circunscripción formaran un clado exclusivo sin otros miembros de la tribu Ingeae, como por ejemplo, miembros de *Calliandra* o sus segregados del Viejo Mundo. Es decir, las relaciones filogenéticas obtenidas serán coherentes con la circunscripción de Hernández (1986).
- Los cinco subgéneros de *Zapoteca* propuestos por Hernández (1989), serán grupos monofiléticos. Por lo tanto, se predice que las relaciones filogenéticas serán coherentes con la clasificación infragenérica.

2. ¿Fueron los cambios climáticos del Pleistoceno los principales responsables de la diversificación y la modelación de la actual distribución de *Zapoteca*?

a. Hipotesis asociada. Hernández (1989) destacó la baja frecuencia de híbridos y una distribución alopátrica en las especies de *Zapoteca*, sugiriendo que la especiación fue resultado de un proceso de aislamiento genético producto del aislamiento geográfico. Por otro lado, pensando que los límites de los bosques tropicales secos pueden funcionar como una barrera efectiva en la distribución de *Zapoteca*, se espera que la mayoría de los eventos cladogenéticos en *Zapoteca* estén asociados al Pleistoceno, época que fue crucial en la expansión de los bosques tropicales secos en el Neotrópico.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo general

- Evaluar la filogenia del género *Zapoteca* utilizando evidencia morfológica y molecular.

1.3.2 Objetivos específicos

- Elaborar una filogenia para el género *Zapoteca* utilizando dos regiones nucleares (ITS e ETS), dos regiones de cloroplasto (*trnK* y *matK*), e información morfológica (asociado a la pregunta 1).
- Analizar la evolución de caracteres morfológicos que tengan señal filogenética en *Zapoteca* (asociado a la pregunta 1).
- Realizar un cronograma de la evolución de *Zapoteca* por medio de la calibración de los cladogramas con fósiles cercanos al grupo (asociado a la pregunta 2).

CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 ANÁLISIS MORFOLÓGICO

Se realizó un análisis filogenético basado en caracteres morfológicos los cuales fueron extraídos de las descripciones de Hernández (2015, 1994, 1990, 1989, 1986) y Hernández y Hannan-Alipi (1998). Se corroboraron los caracteres morfológicos mediante la observación de especímenes provenientes principalmente de los herbarios MEXU y MO. También se revisaron ejemplares pertenecientes a otros herbarios: CICY, CIQRO, FCME y UCAM así como el material digitalizado de los herbarios P, K y NY (acrónimos según Thiers, 2015).

2.1.1 Taxones utilizados en el análisis morfológico

Los criterios que se utilizaron para seleccionar los taxones para el análisis morfológico, fue con base en aquellas especies que se encuentran en el análisis molecular, especies que se puedan corroborar con material de herbario disponible y especies de géneros que según la literatura están relacionados con *Zapoteca*.

El análisis filogenético morfológico se enraizó con *Vachellia farnesiana*. Se tomaron tres especies de *Lysiloma*: *L. latisiliquum*, *L. divaricatum* y *L. sabicu*. Un carácter único para *Lysiloma* es la dehiscencia craspedial de sus frutos. Sin embargo, dos de las tres especies consideradas en el análisis (*L. latisiliquum* y *L. sabicu*), no cuentan con esta característica. Otro carácter notable (también presente en *Hesperalbizia*), son sus estípulas muy desarrolladas en comparación con otros géneros de la tribu Ingeae (Thompson, 1980). Se tomaron las siguientes especies de la alianza Pithecellobium: *Ebenopsis ebano* (Berland.) Barneby & J.W. Grimes, *Havardia albicans* (Kunth) Britton &

Rose, *H. campylacantha* (L. Rico & M. Sousa) Barneby & J.W. Grimes, *Painteria leptophylla* (DC.) Britton & Rose y *Pithecellobium keyense* Britton.

Se utilizó al menos un representante de los segregados de *Calliandra* del Viejo Mundo: *Sanjappa cynometroides* (Bedd.) E.R. Souza & Krishnaraj (monoespecífico), *Viguieranthus densinervus* Villiers y *Thailentadopsis tenuis* (Craib) Kosterm. También se utilizó *Faidherbia albida* debido a que análisis filogenéticos previos (Rodríguez de Souza *et al.*, 2016; Brown *et al.*, 2008) han sugerido que está estrechamente relacionada con *Zapoteca*. Sin embargo, en lo que respecta a su morfología *Faidherbia* comparte poco con *Zapoteca*. De *Calliandra* fueron tomados *C. haematocephala* Hassk. y *C. eriophylla* Benth.. Por último se tomaron casi todas las especies que conforman a *Zapoteca*. No se contó con suficiente material de las subespecies de *Zapoteca*. Solo se obtuvieron tres subespecies de *Z. formosa* (*Z. formosa* subsp. *formosa*, *Z. formosa* subsp. *rosei* y *Z. formosa* subsp. *sinaloana*).

2.1.2 Caracteres utilizados en el análisis morfológico.

A continuación, se presenta una lista de los caracteres que fueron codificados para el análisis filogenético morfológico, así como también algunos caracteres ecológicos y de distribución.

0. Distribución. Nuevo Mundo (0); Viejo Mundo (1). En general se tomaron especies americanas con excepción de los segregados de *Calliandra* del Viejo Mundo y *Faidherbia*. *Vachellia*, a pesar de presentar distribución anfiatlántica, fue codificada como presente en el Nuevo Mundo debido a que en este lugar, se encuentra su centro de origen. Análisis filogenéticos exploratorios han sugerido que en la tribu Ingeae los grupos del Viejo Mundo forman clados, lo cual tiene sentido con la idea que los eventos de dispersión transcontinentales son poco frecuentes.

1. Distribución geográfica. Megaméxico y las Antillas (0); Sudamérica (1). Este carácter es particularmente útil para el grupo interno, donde la mayoría de los subgéneros se encuentran mejor representados en Sudamérica. Sin embargo, la mayoría de las especies está en Megaméxico. Se incluyó Megaméxico y las Antillas bajo el mismo estado de carácter ya que ésta última comparte casi todas sus especies con Megaméxico (excepto *Z. nervosa*)

2. Número cromosómico. 16 (0), 26 (1). *Calliandra* es el único género incluido en el análisis morfológico que tiene un número cromosómico de 16.

3. Hábito. Arbusto (0), árbol (1). El tipo de hábito es generalmente constante en los géneros. Por ejemplo, las especies de *Zapoteca* son generalmente arbustos, en tanto que las especies de *Lysiloma* presentan un hábito arbóreo.

4. Espinas estipulares en el tronco. Ausente (0), presente (1). Este carácter está relacionado al desarrollo de espinas estipulares. Sin embargo, en algunos casos estas espinas pueden expresarse únicamente en los nodos de las ramas jóvenes y no en el tronco, como es el caso de *Faidherbia*, *Sanjappa* o *Vachellia*.

5. Braquiblastos. Ausentes (0); presentes (1). En el contexto de este carácter, los braquiblastos hacen referencia a sistemas de brotes vegetativos cortos que son el resultado de una adaptación a climas xerofitos. Este carácter es diagnóstico para los miembros de la alianza *Pithecellobium*, aunque también lo presentan otros grupos como por ejemplo *Afrocalliandra* y algunas especies de *Calliandra* como *C. eriophylla*.

6. Filotaxia. Espiral (0); dística (1). Este carácter varía considerablemente dentro de la tribu Ingeae. En los taxa incluidos en el análisis, *V. farnesiana* y la alianza *Pithecellobium* presentan hojas con filotaxia en espiral mientras que el resto, presentan filotaxia dística (con hojas alternas en lados opuestos de un tallo y en el mismo plano).

La persistencia, forma, y textura del cotiledón de la plántula son de utilidad a nivel genérico e infragenérico. Estos caracteres se utilizaron para proponer a *Zapoteca*. De acuerdo a Hernández (1986), la ausencia de estados de carácter intermedio entre ambos taxones, reflejan la ausencia de una cercana relación; a pesar de que este autor incluyo a ocho especies del subgénero *Zapoteca* y ninguna especie de otro subgénero, las plántulas estudiadas muestran un alto grado de homogeneidad morfológica intra e interespecífica, lo que sugieren su consistencia al menos en el subgénero *Zapoteca*. Debido a que las plántulas generalmente son poco estudiadas, solo se tiene información para *Calliandra* y el subgénero *Zapoteca*.

7. Forma del cotiledón. Elíptico ovado (0); sagitado (1).

8. Pedicelo del cotiledón. Ausente (0); presente (1).

9. Textura del cotiledón. Foliáceo (0); carnososo (1).

10. Tipo de estípulas. Foliáceas (0); foliaceas rígidas y agudas (1); transformada en espina (2). El tipo de estípulas varía considerablemente en la tribu Ingeae. Sin embargo, es consistente a nivel de género. En *Zapoteca*, la mayoría de las especies presentan estípulas foliáceas con excepción de *Z. aculeata* cuyas estípulas son foliáceas, pero rígidas. Por tal razón, este atributo fue codificado como un carácter aparte que se podría considerar como intermedio entre la estípula foliácea y espiniforme.

11. Forma del pecíolo. Terete (0); angulado (1). En general, los pecíolos son teretes (o redondeados) y en un solo caso es alado (*Viguieranthus densinervus*).

12. Canal en el pecíolo. Ausente (0); presente (1).

13. Nectarios extraflorales en el pecíolo de la hoja. Ausente (0); presente (1). La ausencia o presencia de los pecíolos ha sido utilizada para diagnosticar géneros debido a su consistencia en especies filogenéticamente emparentadas, por ejemplo en especies del mismo género. En *Zapoteca*, la mayoría de sus miembros, no presentan nectarios en el pecíolo, con excepción de tres especies (*Z. nervosa*, *Z. scutellifera* y *Z. filipes*). Considerando que la mayoría de los géneros con los que se ha asociado a *Zapoteca* se caracterizan por tener nectarios extraflorales en el pecíolo, se asume que este carácter es ancestral para *Zapoteca*.

14. Longitud media de los folíolos (mm). Micrófilo (2.35 a 17.5) (0); macrófilo (39 mm o más) (1). Las hojas microfilas se encuentran comúnmente en *Zapoteca* subgénero *Zapoteca* y las hojas macrofilas son más comunes en el resto de los subgéneros.

15. Consistencia del folíolo. Membranáceo (0); cartáceo o coriáceo (1): este carácter se ha empleado a nivel de subgéneros para dividir a las especies de *Zapoteca*.

16. Pubescencia de los folíolos. Ausente (0); potencialmente presente (1). La pubescencia es considerada como un carácter poco útil como indicador de relaciones filogenéticas, debido a que es altamente variable en diferentes poblaciones de la misma especie. Sin embargo, se notó que los miembros de *Zapoteca* subgénero *Aculeata*, *Zapoteca* subgénero *Amazonica* y *Zapoteca* subgénero *Nervosa* presentan folíolos consistentemente glabros.

Los caracteres relacionados a los folíolos, por ejemplo, los relacionados a la nervación o consistencia, fueron utilizados por Hernández (1989) como diagnóstico para identificar los subgéneros de *Zapoteca*. Según este autor, estos caracteres reflejan la naturaleza divergente de los subgéneros de *Zapoteca*.

17. Tipo de venación en la región basal de los folíolos. eucamptódromo (0); broquidódromo (1). Este carácter es autopomórfico para *Z. nervosa*. Se decidió incluir en

el análisis debido a que reflejaría evolución anagenética representada en el largo de las ramas.

18. Número de venas primarias. 1 (0); 2 (1). *Zapoteca amazonica* y *Z. microcephala* son las únicas especies que presentan dos venas primarias. Este carácter fue utilizado como diagnóstico para *Zapoteca* subgénero *Amazonica* (Hernández, 1989).

19. Venación marginal. Curvas (0); torcidas (1); fimbriada (2).

20. Visibilidad de las venas secundarias y terciarias. Inconspicua (0); conspicua (1).

21. Presencia de la areola (nervación terciaria). Ausente (0); presente (1). La nerviación secundaria y terciaria puede ser conspicua o inconspicua. Para el primer caso, a veces esta nerviación forma areolas como en el caso de los miembros de *Zapoteca* subg. *Amazonica* donde Hernandez (1989) lo describió como “*imperfectly developed areoles*”. Para el caso del resto de los subgéneros fue descrito como “incompletely closed”.

22. Formación de pseudopaniculas. 0=ausente o no desarrollada; 1=a veces presente o consistentemente presente y poco desarrollada; 2=consistentemente presente y muy desarrollada. Una característica consistente en la mayoría de las especies de *Zapoteca*, es la presencia de pseudopanicula. Existen variantes a esta condición dentro del género. La más importante es en *Zapoteca* subgénero *Amazonica*, donde las pseudopaniculas están contrastantemente más desarrolladas que el resto de los subgéneros. Por tal razón, se sugiere que este carácter es altamente informativo.

23. Sistema sexual. Hermafrodita (0); andromonoico (1). La andromonoecia es un fenómeno caracterizado por la presencia de flores bisexuales y flores unisexuales masculinas en el mismo individuo. Esto ha sido registrado para varios grupos de plantas incluyendo *Zapoteca*.

24. Color de los filamentos de la flor. Blanco, crema, blanco-verdoso o amarillo (0); rojo o rosado con la mitad basal (rara vez la distal) blanca (1); completamente rojo intenso (2).

25. Antesis. Diurna (0); nocturna (1). Hernández (1989) sugirió que todas las especies estudiadas de este género presentan antesis nocturna. Observaciones recientes han confirmado también este patrón que también se ha observado para géneros como *Sphinga* Barneby & J.W. Grimes.

Las características más contrastantes que reflejan la naturaleza divergente de *Calliandra* se encuentran en las políades. *Zapoteca* por otro lado, presenta características típicas en sus políades en relación a otros miembros de la tribu Ingeae.

26. Número de granos de polen por políade. 7 (0); 8 (1); 16 (2); 30 (3).

27. Forma de las políades. Discoides (0); bisimétricas (1).

28. Apéndice de la políades. Ausente (0); presente (1).

29. Cohesión de las políades Acalimadas (0); calimadas (1).

30. Células centrales de la políade formando unas estructuras lentiformes en la superficie. Ausente (0); presente (1). Esta característica es considerada como un carácter distintivo y único para *Zapoteca*.

Los caracteres morfológicos asociados al fruto han sido altamente valorados como caracteres informativos en la familia Leguminosae y particularmente en la tribu Ingeae. Un claro ejemplo de esto son los géneros de la alianza *Pithecellobium* los cuales fueron

descritos apartir de características del fruto. Filogenias recientes han corroborado la integridad de estos géneros con ligeras modificaciones.

31. Forma del fruto en vista frontal. Falcado (0); moniliforme (1); oblanceolado (2); oblongo (3); cilíndrico (4).

32. Forma del fruto en vista transversal. Lineal (0); sub-terete a terete (1).

33. Fruto (sección lateral). Compreso (0); no compreso (1).

34. Textura de la vaina. Membranosa (0); cartacea (1); coriácea (2).

35. Dehiscencia. Indehiscente (0); elásticamente dehiscente (1); craspedial (2); Dehiscencia regular (3).

36. Endospermo. Ausente (0); presente (1). Solo los géneros *Painteria* y *Havardia* presentan endospermo.

37. Polinizador. Generalista (0); por polillas (1). Las observacionde de Hernández se concentraron en 10 poblaciones que representan 5 especies de *Zapoteca*, donde encontró que las inflorescencias eran visitadas por una variedad de familias de polillas.

2.2 ANÁLISIS MOLECULARES

Primero se realizó un análisis de parsimonia en extenso de secuencias de la región de ETS para 116 taxones. La información de este análisis fue obtenida principalmente a través de Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) y el objetivo de este primer análisis fue someter a prueba la monofilia de la alianza en un contexto amplio. El resto de los análisis se enfocaron en someter a prueba la monofilia de *Zapoteca*, los subgéneros y las relaciones infraespecíficas. Para este fin se utilizaron matrices más pequeñas que incluyan más información de *Zapoteca*. En total fueron utilizadas tres regiones; dos de núcleo (ETS, ITS) y dos de cloroplasto (cloroplasto) (*trnK* y *matK*).

2.2.1 Taxones utilizados

Como grupo interno se trató de incluir a todos los miembros que conforman el género *Zapoteca*. No fue posible extraer ADN de algunas especies críticas en el estudio (ej. *Z. nervosa*) debido a la naturaleza del material (Material muy fibroso o a veces proveniente de ejemplares muy antiguos). Como grupo externo se incluyeron todos los grupos que se han estado filogenéticamente relacionados a *Zapoteca* en la literatura. Estos grupos son *Calliandra*, la alianza *Pithecellobium* (que incluye *Ebenopsis* Britton & Rose, *Havardia* Small, *Painteria* Britton & Rose, *Pithecellobium* Mart., *Sphinga*), *Viguieranthus*, *Thailentadopsis*, *Sanjappa* y *Afrocalliandra*. El análisis extenso que fue realizado con la región ETS, también incluye géneros como *Lysiloma*, *Cojoba*, *Acacia* Mill. En todos los análisis moleculares se utilizó a *Vachellia farnesiana* como raíz y géneros basales como *Senegalia*, *Mariosousa* y *Acaciella*.

2.2.2 Extracción ADN

Para los análisis moleculares se obtuvieron tejidos vegetales de hojas de plantas recolectadas en el campo, en el Jardín Botánico Regional del CICY y muestras de herbario conservadas en instituciones nacionales e internacionales (Cuadro 3) (CICY,

MEXU, MO). Las secuencias generadas son principalmente de *Zapoteca* mientras que la información de el resto de los taxones provino principalmente de GenBank de publicaciones como Brown *et al.* (2008), Heil *et al.* (2009), y Miller y Bayer (2003) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Material de ADN utilizado para realizar los análisis moleculares. Los simbolos *,+ y # indican de que ejemplar proviene el ADN.

<i>Especie</i>	Colector, número (herbario)	ETS	ITS	<i>trnK</i>	<i>matK</i>
Ingroup					
<i>Zapoteca</i>	<i>I. Ramírez 1992 (CICY)</i>			√	
<i>Zapoteca alinae</i>	<i>G. Manzanero M. 1137 (MEXU) *</i> , <i>J. Pascual 1849 (MO)</i>	√	JX870779.1 * √	√	√
<i>Zapoteca filipes</i>	<i>E.R. de Souza 324 (HUEFS)</i>		JX870780.1		
<i>Zapoteca aff. formosa</i>	<i>E. López 1131 (CICY)</i>	√			
<i>Zapoteca formosa</i>	<i>J. Peñaranda 216 (MO),</i> <i>R. Duno JBR*</i> <i>M. Sousa 9441 (HUEFS)+</i> Cornell Conservatory (BH)#	√ √*	√ JX870781.1+	√ √*	√ AY125854#
<i>Zapoteca formosa subsp. rosei</i>	<i>S.H. Salas 5439 (MO)</i>	√	√		√
<i>Zapoteca lambertiana</i>	<i>A.L.H. Mayfield 854 (MEXU)</i>		JX870782.1		
<i>Zapoteca media</i>	<i>S. Valencia 4393 (FCME)</i>	√	√		√
<i>Zapoteca mollis</i>	<i>J.F. Morales & R.J. Abarca 3450 (MO)</i> BioBot00546*		√		JQ587906.1*
<i>Zapoteca portoricensis</i>	<i>C. A. Pérez Benítez 111 (MEXU)</i>	√	√	√	
<i>Zapoteca portoricensis subsp. portoricensis</i>	<i>J. Pascual 1711 (MO)</i>	√	√		√

<i>Zapoteca sousae</i>	A. Campos 5224 (MEXU)		JX870783.1		
<i>Zapoteca tehuana</i>	A. Campos V. 4108 (MEXU) R. Torres 8934 (MEXU)*	√ √*	√ √*	√ √*	√
<i>Zapoteca tetragona</i>	CANB 615635 Flores F. 669 (MEXU)* ¿?+ BioBot10128-	EF63813 3.1	JX870784.1*	AF5230 97+	JQ587912. 1-
Outgroup					
<i>Acaciella angustissima</i>	E. López 1128 (CICY) ILL D. Seigler 15993+	EF63808 2+		√	>HM02073 3
<i>Calliandra eriophylla</i>	E. López 1099 (CICY) R. Gutierrez 510 (ASU)* R.T. Colin 14773 (MEXU)+	√	JX870685.1+		EU025883. 1*
<i>Calliandra haematocephala</i>	JB FTBG 2007 0163 A D. Soto 1235 (USZ)* R. Duno 2425 (CICY)+	√	JX870694.1*	√+	
<i>Faidherbia albida</i>	CANB 632235 RBN165.1* ¿?+	EF63816 3.1		AF2741 29a+	√*
<i>Hesperalbizia occidentalis</i>	CANB 577717 R. García Sosa 71 (MO)* E. López 1133 (CICY)+	EF63813 9.1		√+	√*
<i>Lysiloma divaricatum</i>	M. Ayala et. al. 918 (FCME) 198756*	√	AF487755.1*	√	√

<i>Lysiloma watsonii</i>	JBR	√		√	√
<i>Lysiloma sabicu</i>	B. Jestrow FTBG Herbarium 2012 039	√		√	√
<i>Mariosousa dolichostachya</i>	ILL DS16035 DS16040_JM1339* ¿?+	EF63808 4	EF638199.1	AF5231 90.1+	EU812056. 1*
<i>Painteria elachystophyllum</i>	N. Diego 339				√
<i>Painteria revoluta</i>	E. López 1107 (CICY)				√
<i>Senegalia parviceps</i>	L.E. Quispe 63 (MO)	√		√	√
<i>Vachellia farnesiana</i>	MEL 204567 MH101* MEL 2045067+ RF-sp1a-	EF63812 8	EF638219.1 +	AY5741 03.1*	FJ711552.1 -

El material genómico se obtuvo utilizando el Kit DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN Inc., Valencia, California) siguiendo el protocolo del fabricante. Para comprobar la concentración y calidad relativa de ADN, se colocaron 3 μL del volumen final más 2 μL de buffer de carga (azul de bromofenol, cianol xileno, de glicerina y EDTA), en un gel de agarosa 1% preparado con TBE 0.5X y se corrió a 120 voltios por 30 min (6 vots/cm). Luego, el ADN en el gel se visualizó por inmersión en una solución de bromuro de etidio 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ por 20-30 minutos y revelado en un transiluminador DigiDoc-It Imaging System (version 6.7.1; UVP, Inc., Cambridge, UK). Además, se cuantificó la concentración y pureza del ADN con un NanoDrop 2000c. Posteriormente, todas las muestras de ADN se estandarizaron a una concentración de 10 $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$.

2.2.3 Amplificación

Todas las amplificaciones se realizaron en un termociclador de la marca Applied Biosystems modelo Veriti 96 Well Thermal Cycler. Las condiciones (desnaturalización inicial, ciclos de la PCR: desnaturalización, alineamiento y extensión y extensión final) para cada cebador se indican a continuación.

Para el ETS se utilizó una mezcla de reacción de 30 μL conteniendo 3 μL de Buffer 10X, 2.5 μL de MgCl_2 , 0.6 μL (~10 ng) de los cebadores, 4 μL solución Q, 1 μL de 1.25 mM L^{-1} de dNTP, 0.2 μL (1 U) de TAQ polimerasa, 2 μL (~10 ng) de ADN y se completó con agua ultra-pura (16.1 μL). Las condiciones de la PCR son las siguientes: 94°C x 3 min + 30 ciclos (94° x 1 min + 60.5° x 1 min + 72°C x 2 min) + 72° x 7 min. Los cebadores utilizados fueron 18S-IGS y 26S-IGS, ambos propuestos por Baldwin y Markos (1998).

Para el ITS se utilizó una mezcla con 2.5 μL de Buffer 10X (con MgCl_2 incluido), 200 mM de dNTP, 10% v/v de DMSO, 20 moles de cada cebador, 0.2 U de TAQ polimerasa y 3 μL de ADN, en un volumen final de 25 μL ; con el programa: desnaturalización inicial 94°C/4 min., 35 ciclos x (94°C/30 seg, 50°C/30 seg, 72°C/1 min); 72°C/7 min.

Para *trnK* se utilizó una mezcla de reacción de 20 μL conteniendo 2.0 μL de Buffer 10X, 0.8 μL de MgCl_2 , 1 μL (~ 10 ng) de los cebadores, 4 μL de solución Q, 1.5 μL de 1.25 mM L^{-1} de dNTP, 0.2 μL (1 U) de TAQ polimerasa, 3 μL (~10 ng) de ADN y se completó con agua ultra-pura (6.5 μL). Las condiciones de la PCR son las siguientes: 94°C x 3 min + 30 ciclos (94° x 1 min + 55°C x 1 min + 72°C x 2 min) + 72° x 7 min. Los cebadores utilizados fueron *trnK* 3914 y *Ac* 283R, ambos propuestos por Johnson y Soltis (1994).

Para *matK* se utilizó una mezcla de reacción de 20 μL conteniendo 2.0 μL de Buffer 10X, 0.8 μL de MgCl_2 , 1 μL (~ 10 ng) de los cebadores, 4 μL de solución Q, 1.5 μL de 1.25 mM L^{-1} de dNTP, 0.2 μL (1 U) de TAQ polimerasa, 3 μL (~10 ng) de ADN y se completó con agua ultra-pura (6.5 μL). Las condiciones de la PCR son las siguientes: 94°C x 3 min + 30

ciclos (94° x 1 min + 55°C x 1 min + 72°C x 2 min) + 72° x 7 min. Los cebadores utilizados fueron Ac 12F y Ac 1290R, ambos propuestos por Miller y Bayer (2001).

2.2.4 Secuenciación

El material obtenido de las amplificaciones fueron enviados a secuenciar en MacroGen Corea (<http://www.macrogen.com/>).

2.2.5 Ensamblaje y limpieza

El ensamblaje y limpieza de los productos de la secuenciación, se realizaron con el programa BioEdit v 7.0.9 (Hall, 1999). Las secuencias fueron colocadas en una matriz, acorde a la región (ITS, ETS, *trnK* y *matK*) y luego, se alinearon con el programa Muscle (Edgar, 2004). Posterior a la alineación automática, el alineamiento fue refinado manualmente con el mismo programa.

2.2.6 Análisis de parsimonia

El análisis preliminar (parsimonia) se realizó con el programa NONA (Goloboff, 1994) implementado en Winclada (Nixon, 2002) donde se desactivaron los caracteres no informativos. Los datos se consideraron como no ordenados y con el mismo peso. Para identificar la topología más parsimoniosa, se realizó una búsqueda de Ratchet con 1000 iteraciones (10 árboles retenidos por iteración para el 100% de los caracteres muestreados en cada iteración (mult* 10000, ho/10; max*). Se evaluó el soporte de los clados con el algoritmo de Jackknife implementado en Winclada.

2.2.7 Análisis con inferencia bayesiana

La selección del modelo de evolución para cada alineamiento se realizó con el programa JmodelTest (Posada, 2008). Para todos los alineamientos se utilizaron tres esquemas de sustitución (JC, HKY y GTR), y se utilizaron como criterio de búsqueda un árbol de máxima verosimilitud calculado con la opción “best” que ofrece el programa. El modelo seleccionado fue el sugerido por el Criterio de Información de Akaike (AIC) y por el Criterio de Información Bayesiana (BIC).

El análisis bayesiano se realizó con MrBayes v.3.2.5 (Ronquist *et al.*, 2012). Al igual que con Máxima Parsimonia, el análisis se hizo para las particiones separadas y de manera concatenada, en este último caso cada partición se trató como independiente y se le asignó su propio modelo. En general se utilizaron los parámetros por defecto del programa, excepto por el número de generaciones que fue de 5 millones, se utilizaron dos corridas independientes. El diagnóstico de convergencia se realizó tanto con MrBayes como Tracer v 1.6. La siguiente escala se utilizó para evaluar los valores de probabilidad posterior (PP): ≤ 0.95 , débilmente apoyado; 0.95-1.0 fuertemente apoyado. Los datos faltantes fueron codificados como “?” en la matriz concatenada.

2.2.8 Estimación de los tiempos de divergencia (reloj molecular)

Se utilizaron cuatro fósiles de leguminosas del clado Mimosoide en la subfamilia Caesalpinoideae (Cuadro 4).

Cuadro 4 Fósiles relacionados con la tribu Ingeae utilizados en el análisis de reloj molecular. En el cuadro se indica toda la información importante de cada registro fósil: nombre de la formación geológica, procedencia, época así como una edad mínima estimada. Por ultimo se encuentra la referencia para cada fósil utilizado.

Nombre del fósil	Formación geológica	Procedencia	Época	Edad mínima	Referencia
<i>Protomimosoidea buchananensis</i>	Wilcox	Tennessee, EU	Paleoceno-Eoceno	55.8	Crepet y Taylor 1986
<i>Pithecellobium grimesii</i>	Coatzingo	Puebla, México	Oligoceno temprano	28.4	Calvillo y Ceballos 2005
<i>Pithecellobium barnebyi</i>	Coatzingo	Puebla, México	Oligoceno temprano	28.4	Calvillo y Ceballos 2005
<i>Lysiloma mixteca</i>	Pié de Vaca	Puebla, México	Oligoceno	28.4	Magallón y Ceballos 1994
<i>Calliandra sp.</i>	La Ollita	San Juan, Argentina	Mioceno medio	16	Caccavari y Barrera 1999

El análisis de reloj molecular se realizó con secuencias del Genbank y secuencias generadas en este estudio. Se utilizaron las regiones de ETS e ITS, debido a que son las regiones con la mayor cantidad de caracteres filogenéticamente informativos. Los parámetros utilizados en la alineación y el modelo evolutivo serán los mismos que en el análisis Bayesiano. El análisis fue preparado en BEAUti 1.7.5 y ejecutado en Beast 1.7.5 (Drummond *et al.*, 2012). Se utilizará la opción “lognormal relaxed clock” y a cada partición se asignó el modelo sugerido por JmodelTest. Se utilizó el modelo de especiación de Yule (Gernhard, 2008; Yule, 1925).

Se realizaron dos corridas de 40 millones de generaciones cada una, muestreando cada dos mil. El diagnóstico de convergencia se realizó con Tracer 1.6 (Rambaut *et al.*, 2014). El burn-in fue del 20 %. El árbol presentado será el que tenga la mayor probabilidad por clados. Se prefiere el uso de la distribución exponencial para las calibraciones, pues supone que a medida que el estimado se aleja del propuesto por el fósil es menos probable.

CAPÍTULO III: RESULTADOS

3.1 ANÁLISIS MOLECULAR EXTENSO DE LA TRIBU INGEAE (ETS)

En la figura 3 se presenta el árbol más probable realizado con la region ETS de la tribu Ingeae+ Acacieae obtenido con inferencia bayesiana (117 taxa). Dicho árbol presenta la siguiente topología. Los miembros más basales de la tribu Ingeae forman una topología escalonada (grado) con el siguiente orden: *Vachellia*, *Acaciella*, *Senegalia* y *Mariosousa*. Las probabilidades posteriores de los nueve principales clados (señalados en color) en el análisis, es de uno con excepción del clado Ingeae VM +Acacieae VM. (pp= 0.7). *Calliandra* es hermano del resto de las especies. El clado hermano de *Calliandra* tiene una politomia en la que se encuentran cuatro principales clados. El primero, *Cojoba* como hermano de el clado *Lysiloma+Hesperalbizia*. El segundo es el clado Ingeae del Nuevo Mundo (que incluye *Abarema*, *Albizia*, *Enterolobium*, *Leuchocloron*, *Macrosamanea*, *Pseudosamanea*, *Inga*, *Zygia*). El tercero, un clado formado por tres subclados: clado *Thailentadopsis* (que incluye a *Thailentadopsis*, *Sanjappa* y *Faidherbia*), *Viguieranthus* y *Zapoteca*. El cuarto clado, formado por los subclados Ingeae VM+Acacieae VM. (que incluye a *Archidendron*, *Falcataria*, *Pararchidendro*, *Paraserianthes*, *Wallaceodendron* y algunos miembros de *Acacia* del Viejo Mundo) y Alianza *Pithecellobium*.

En este análisis, *Zapoteca* es monofilético (p.p.=1) y es hermano de *Viguieranthus*. Este clado a su vez es hermano del clado *Thailentadopsis*. Este último clado se encuentra conformado por *Faidherbia*, *Sanjappa* y *Thailentadopsis* cuyas dos especies incluidas, no forman un clado monofilético y son hermanas de los dos géneros antes mencionados.

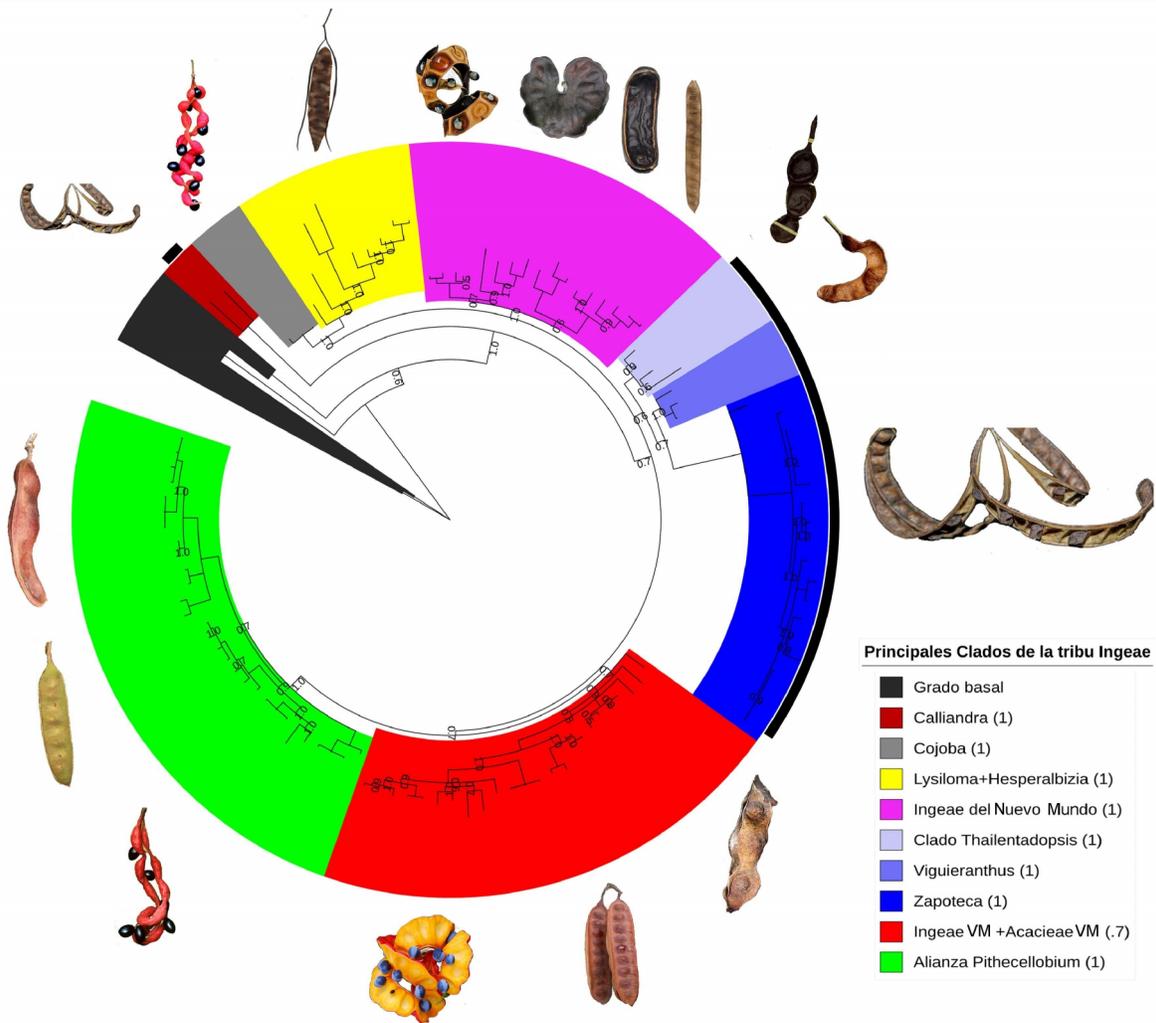


Figura 3 Árbol más probable de la region ETS obtenido (116 taxones) con inferencia bayesiana de la tribu Ingeae+ Acacieae. Los diferentes colores indican los principales clados formados. Las probabilidades posteriores de los nueve principales clados se encuentran a un lado de los nombres en la parte inferior derecha de la imagen. La imagen trata de ejemplificar la diversidad morfológica del fruto en la tribu. Sin embargo, los clados Ingeae VM+Acacieae VM e Ingeae del Nuevo Mundo (debido a la gran diversidad morfológica del fruto) se encuentran pobremente representados.

3.2 ANÁLISIS DE PARSIMONIA BASADO EN CARACTERES MORFOLÓGICOS

El análisis de parsimonia basado en caracteres morfológicos con el algoritmo Ratchet, produjo 2707 árboles igualmente parsimoniosos con los siguientes estadísticos: L=97, Ci=51, Ri=80. En la figura 4 se presenta el árbol de consenso de mayoría. Los valores por debajo de las ramas representan el soporte de jackknife de los clados. Los miembros de los diferentes subgéneros de *Zapoteca*, se señalan con una barra de color en el lado derecho. La distribución de los linajes se señala según el color de las ramas donde el color rojo representa linajes distribuidos en el Viejo Mundo, el color verde a linajes sudamericanos y el color azul a linajes megamexicanos. El análisis resolvió la monofilia de la alianza *Pithecellobium* (BS<50) y de *Lysiloma* (94). Este último género es hermano de un clado compuesto por *Afrocalliandra*, *Calliandra*, *Sanjappa*, *Thailentadopsis*, *Viguieranthus* y *Zapoteca* (denominado ahora como *Calliandra sensu lato*). El clado *Calliandra sensu lato* se caracteriza (con excepción de *Thailentadopsis*) porque sus miembros presentan un fruto oblongo, elásticamente dehiscente del ápice del fruto a la base. Las relaciones internas de este clado no están resueltas. Sin embargo, se pueden identificar cuatro grandes clados. *Viguieranthus*, el clado *Sanjappa* + *Thailentadopsis* (85), el clado *Calliandra* + *Afrocalliandra* (60) y *Zapoteca* (89). En general las relaciones internas de *Zapoteca* presentan bajos apoyos. *Z. nervosa* es especie hermana de un clado compuesto por el resto de los miembros de *Zapoteca*. El clado hermano de *Z. nervosa* presenta una politomía que divide el clado en tres linajes: *Z. quichoi*; el clado (*Z. aculeata*, (*Z. microcephala* y *Z. amazonica*)); el resto de los miembros de *Zapoteca*. En este último clado se obtuvo una topología escalonada (grado) formada por estos miembros; *Z. tehuana*, *Z. ravenii*, *Z. cruzii*, *Z. costaricensis* y *Z. formosa*. Esta última especie, es hermana de un clado dividido en tres subclados.

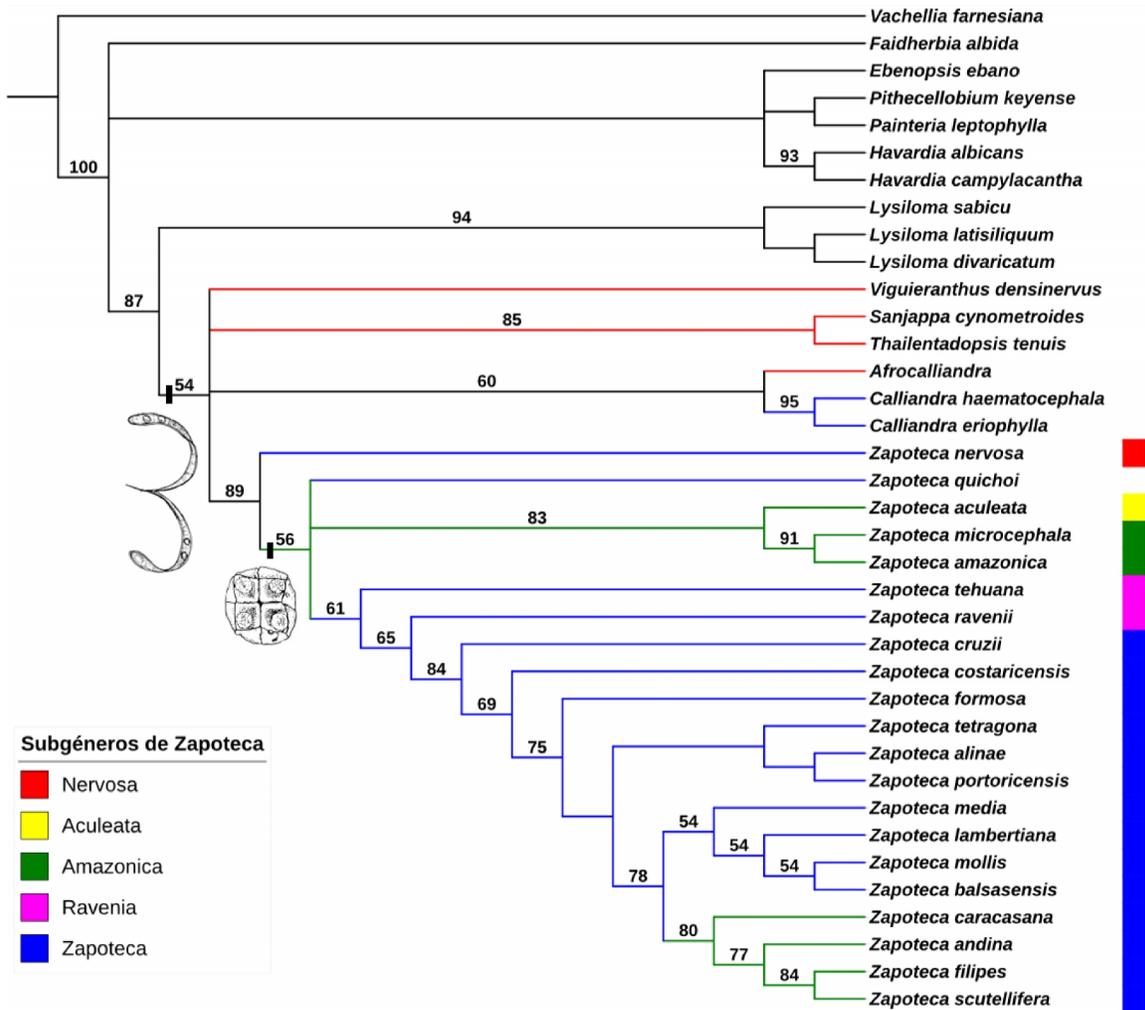


Figura 4 Árbol de consenso de mayoría del análisis de parsimonia con 38 caracteres (casi todos morfológicos) (L=97, Ci=51, Ri=80). Los valores sobre las ramas representan los soportes de jackknife superiores a 50. De lado derecho se señalan la clasificación infragenérica de *Zapoteca*. El color de las ramas representa la distribución de cada linaje donde el color rojo representa linajes distribuidos en el Viejo Mundo, el color verde a linajes sudamericanos y el color azul a linajes megamexicanos. Las imágenes del fruto y la poliade fueron extraídas de Hernández (1989).

3.3 ANÁLISIS BAYESIANOS CON MARCADORES NUCLEARES Y DE CLOROPLASTO

En la figura 5 se presentan los análisis filogenéticos bayesianos con secuencias de cloroplasto y núcleo. Estos presentaron topologías similares. Sin embargo, el análisis de núcleo obtuvo en muchos de los clados probabilidades posteriores más altas. En ambos análisis se utilizó a *Vachellia* como raíz. Los miembros basales de la filogenia se componen en ambos análisis por géneros como *Senegalia*, *Acaciella*, *Mariosousa* y *Calliandra* aunque en distinto orden. La topología de los principales clados es casi la misma. Un clado conformado por los miembros de la alianza *Pithecellobium*. Luego el clado *Hesperalbizia*+*Lysiloma* es hermano de un clado compuesto por todos los segregados de *Calliandra* que también incluye a *Faidherbia* y *Thailentadopsis*. Este último clado está dividido por dos grandes clados. El primero formado por miembros del Viejo Mundo como *Faidherbia*, *Sanjappa*, *Thailentadopsis* y *Viguieranthus*. Este clado es hermano de *Zapoteca* que es monofilético en ambos análisis (en núcleo con $pp=1$ y cloroplasto $pp=0.88$).

Las relaciones internas en *Zapoteca* de los clados más divergentes es muy similar. En ambos análisis *Z. filipes* es la especie hermana del resto de *Zapoteca* seguida de un grado formado por miembros sudamericanos como *Z. aculeata*, *Z. amazonica* (solo en el análisis de núcleo) y *Z. caracasana*. En ambos análisis, *Z. caracasana* es hermano de un clado formado por especies que se encuentran en Megaméxico (en cloroplasto $pp=1$ y en núcleo $pp=0.99$). Las relaciones internas de este clado en ambos análisis tienen bajos apoyos. Algunas afinidades que se pueden recuperar de este clado poco resuelto considerando los análisis exploratorios realizados con parsimonia (no presentados), son las siguientes; *Zapoteca* sp. 508 y *Zapoteca* sp. 509 son hermanos y están filogenéticamente más relacionadas a *Z. ravenii*, *Z. cruzii* y *Z. sousae* que a otros miembros de *Zapoteca*.

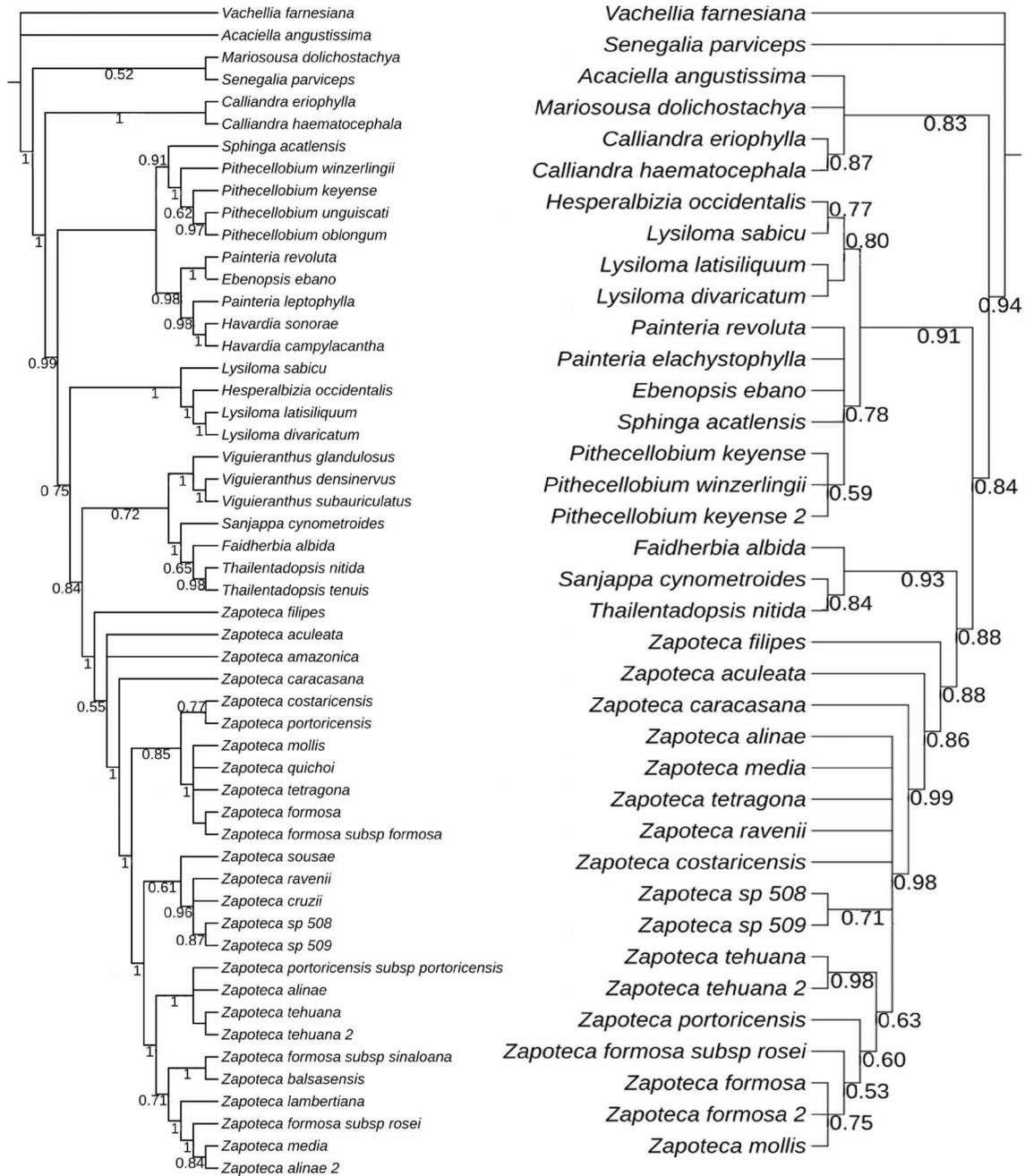


Figura 5 Árboles más probables (no ultramétricos) realizados con inferencia bayesiana utilizando las regiones de núcleo (izquierda) vs. cloroplasto (derecha). Los valores por debajo de las ramas señalan las probabilidades posteriores que están por arriba de 50.

3.4 ANÁLISIS BAYESIANO COMBINADO (ETS, ITS, *MATK*, *TRNK*)

En la figura 6 (A y B) se presenta el árbol más probable utilizando inferencia bayesiana con toda la evidencia molecular. El presente árbol presenta topologías congruentes con todos los análisis presentados anteriormente.

Se observa que se encuentran *Vachellia*, *Acaciella*, *Senegalia*, *Mariosousa* y *Calliandra* como miembros más basales. *Calliandra* es hermano de un clado compuesto por tres principales subclados: el primero está compuesto por los miembros de la alianza *Pithecellobium* (pp=0.94). El segundo y tercero son hermanos pero sin apoyo (pp= 0.57) y son el clado *Lysiloma+Hesperalbizia* (pp=0.95) y el tercer clado compuesto por los segregados de *Calliandra* (*Sanjappa*, *Viguieranthus* y *Zapoteca*) que también incluye a *Thailentadopsis* y *Faidherbia*. La afinidad morfológica del clado *Zapoteca*, (*Viguieranthus*, (*Faidherbia*,(*Thailentadopsis*, *Sanjappa*))) es el fruto elásticamente dehiscente con excepción de *Thailentadopsis* (con tres especies), que presenta frutos plano-compresos submoniliformes y *Faidherbia* (monoespecífico) con fruto engrosado y falcado.

Zapoteca es *monofilético* y con un alto soporte (pp=1). Este es hermano de un clado con bajo apoyo (pp=0.58) que está conformado por especies que se distribuyen en el Viejo Mundo, y la única afinidad morfológica es la presencia de nectarios extraflorales en el pecíolo. Dentro de este clado, *Viguieranthus* es hermano del clado *Faidherbia*, (*Thailentadopsis*, *Sanjappa*). El clado *Thailentadopsis* + *Sanjappa* se distribuye esencialmente en Asia.

Las relaciones internas de *Zapoteca* están generalmente bien apoyadas en las ramas más divergentes y débilmente apoyadas en las ramas más derivadas. *Z. filipes* es la especie más basal seguida de *Z. aculeata*, *Z. amazonica* y *Z. caracasana* respectivamente. *Z. caracasana* es hermana de un clado (pp=1) conformado principalmente por especies que se distribuyen en Megaméxico. Dentro de este clado se encuentra un clado débilmente apoyado (pp=0.67) conformado esencialmente por especies centroamericanas (*Z. costaricensis* y *Z. mollis*) y de amplia distribución (*Z.*

tetragona, *Z. portoricensis* y *Z. formosa*) y una sola especie que se distribuye en Megaméxico (*Z. quichoi*). Este clado es hermano de un clado fuertemente apoyado (pp=1) que se divide en dos subclados. El primero con bajo apoyo (pp=0.78) que se conforma por especies con distribución en la vertiente del Pacífico. En este clado se encuentran dos especies que aún no han sido descritas que se distribuyen en Honduras. Este clado es hermano de un clado fuertemente apoyado (pp=1) conformado por *Z. lambertiana*, *Z. media* (distribuidas en la vertiente Atlántica), *Z. tehuana*, *Z. alinae* (endémicas de Oaxaca), *Z. balsasensis* (endémica de Guerrero), *Z. formosa* subsp. *sinaloana* (Sinaloa) y *Z. formosa* subsp. *rosei* (vertiente del Pacífico).

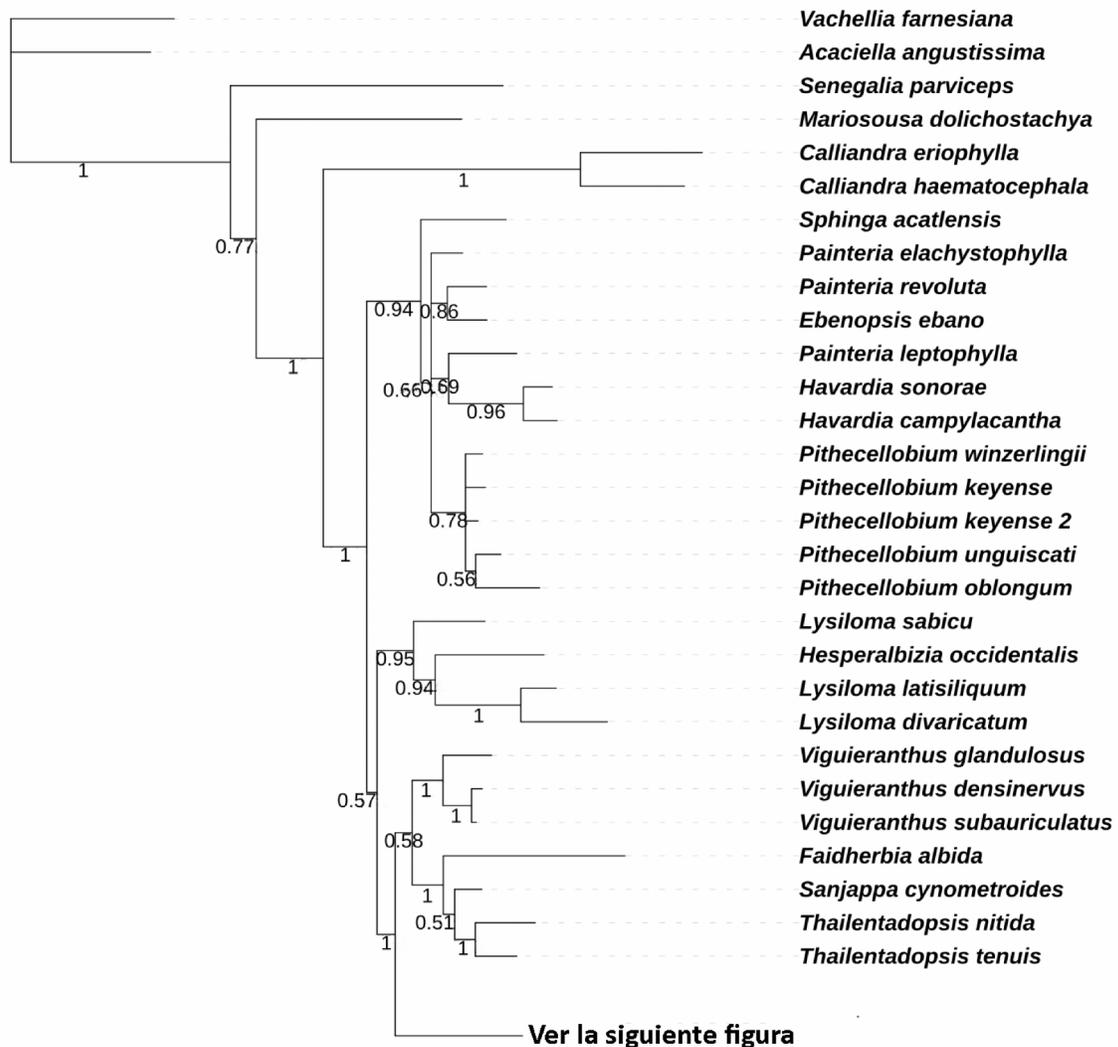


Figura 6-A Árbol más probable (ultramétrico) realizado con inferencia bayesiana utilizando toda la información molecular (cloroplasto + núcleo). Los valores por debajo de las ramas señalan las probabilidades posteriores que están por arriba de 50. Esta primera sección de la figura incluye a todo el grupo externo de *Zapoteca*.

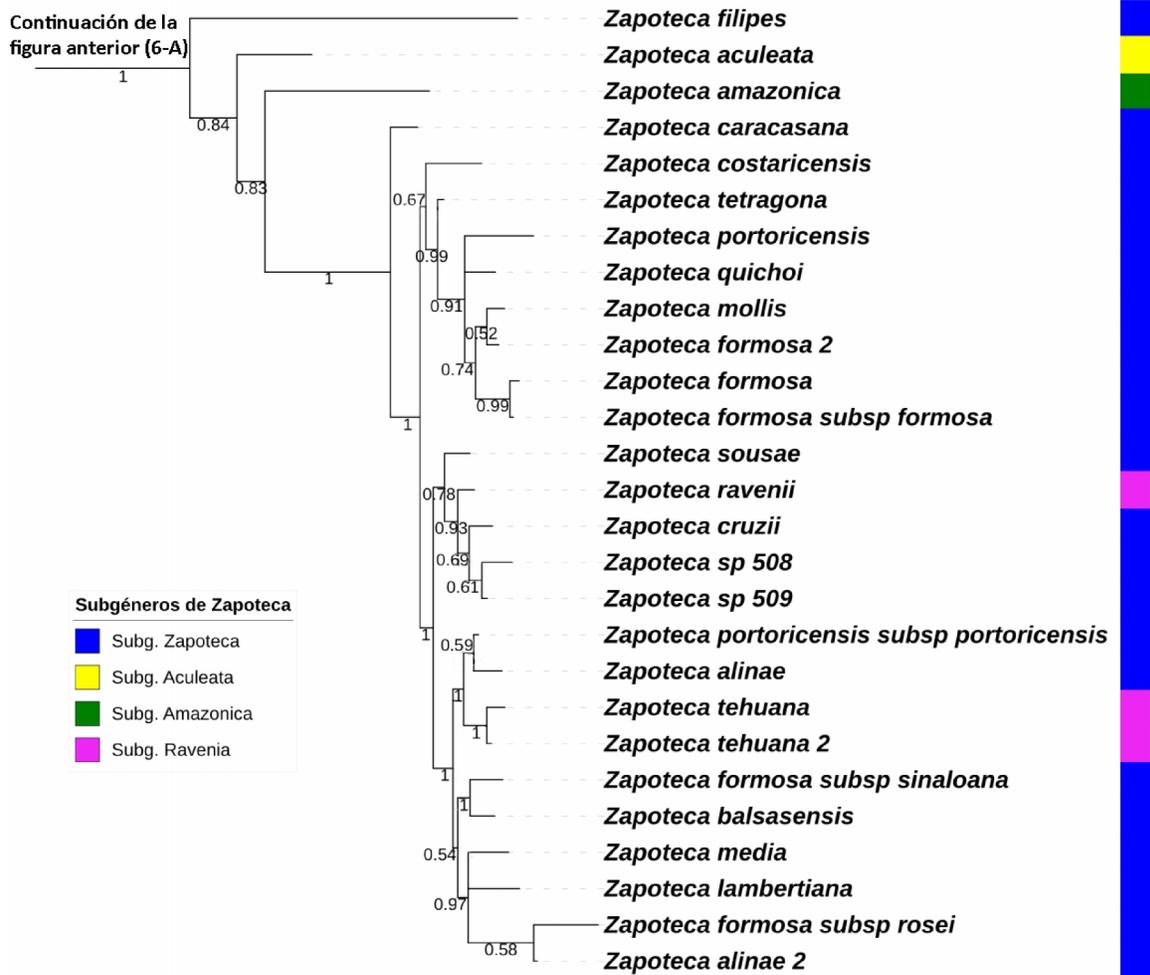


Figura 6-B Árbol más probable (ultramétrico) realizado con inferencia bayesiana utilizando toda la información molecular (cloroplasto + núcleo). Los valores por debajo de las ramas (en algunos casos arriba de la rama) señalan las probabilidades posteriores que están por arriba de 50. Esta sección de la figura solo incluye a *Zapoteca*.

3.5 ANÁLISIS DE EVIDENCIA TOTAL (ADN+MORFOLOGÍA)

En la figura 7 se presenta el árbol más probable utilizando inferencia bayesiana con toda la evidencia disponible (moléculas+morfología). Este presenta una topología congruente con los análisis previos. *Vachellia*, *Acaciella*, *Senegalia*, *Mariosousa*, *Afrocalliandra* y *Calliandra* son los miembros más basales formando un grado en el orden mencionado. Formando un clado politómico se encuentran *Afrocalliandra*, *Calliandra* y un clado compuesto por el resto de los miembros de la tribu Ingeae. En este último clado, se pueden reconocer tres principales clados: el primero se conforma con los miembros de *Lysiloma* y *Hesperalbizia* (pp=0.94); el segundo, está compuesto por los miembros de la alianza *Pithecellobium* (pp=0.92); y el último compuesto por los segregados de *Calliandra* (*Sanjappa*, *Viguiernthus* y *Zapoteca*), *Thailentadopsis* y *Faidherbia*.

Zapoteca es monofilético y con un alto soporte (pp=0.99). Las relaciones internas son generalmente bien apoyadas en las ramas más divergentes y débilmente apoyadas en las más derivadas. *Z. nervosa* es la especie más basal. Posteriormente, se forma una politomía que se encuentra conformada principalmente por clados sudamericanos. (*Z. aculeata*), (*Z. microcephala*+*Z. amazonica*), (*Z. filipes*+*Z. scutellifera*). Luego se encuentra un clado esencialmente megamexicano con dos únicas especies restringidas en Sudamérica (*Z. caracasana* y *Z. andina*) (pp=0.59) las cuales son las más divergentes. El clado completamente megamexicano tiene un soporte alto (pp=0.97) y se pueden reconocer tres clados: el clado (a) que es débilmente apoyado (pp=0.60). Este está conformado esencialmente por especies centroamericanas (*Z. costaricensis*, *Z. mollis*) y de amplia distribución (*Z. tetragona*, *Z. portoricensis*, *Z. formosa*) y una sola especie que se distribuye en Megaméxico (*Z. quicho*). Este clado es hermano de un clado fuertemente apoyado (pp=0.98) que se divide en dos subclados. El clado (b) que tiene bajo apoyo (pp=0.57) y se conforma por especies con distribución en la vertiente del Pacífico. En este clado se encuentran dos especies que aún no han sido descritas que se distribuyen en Honduras. Este clado es hermano del clado (c) que es fuertemente apoyado (pp=1) y está conformado por *Z. lambertiana*, *Z. media* (distribuidas en la vertiente Atlántica), *Z. tehuana*, *Z. alinae* (endémicas de Oaxaca), *Z. balsasensis* (Endémica de Guerrero), *Z. formosa* subsp. sinaloana (Sinaloa) y *Z. formosa* subsp. *rosei* (vertiente del Pacífico).

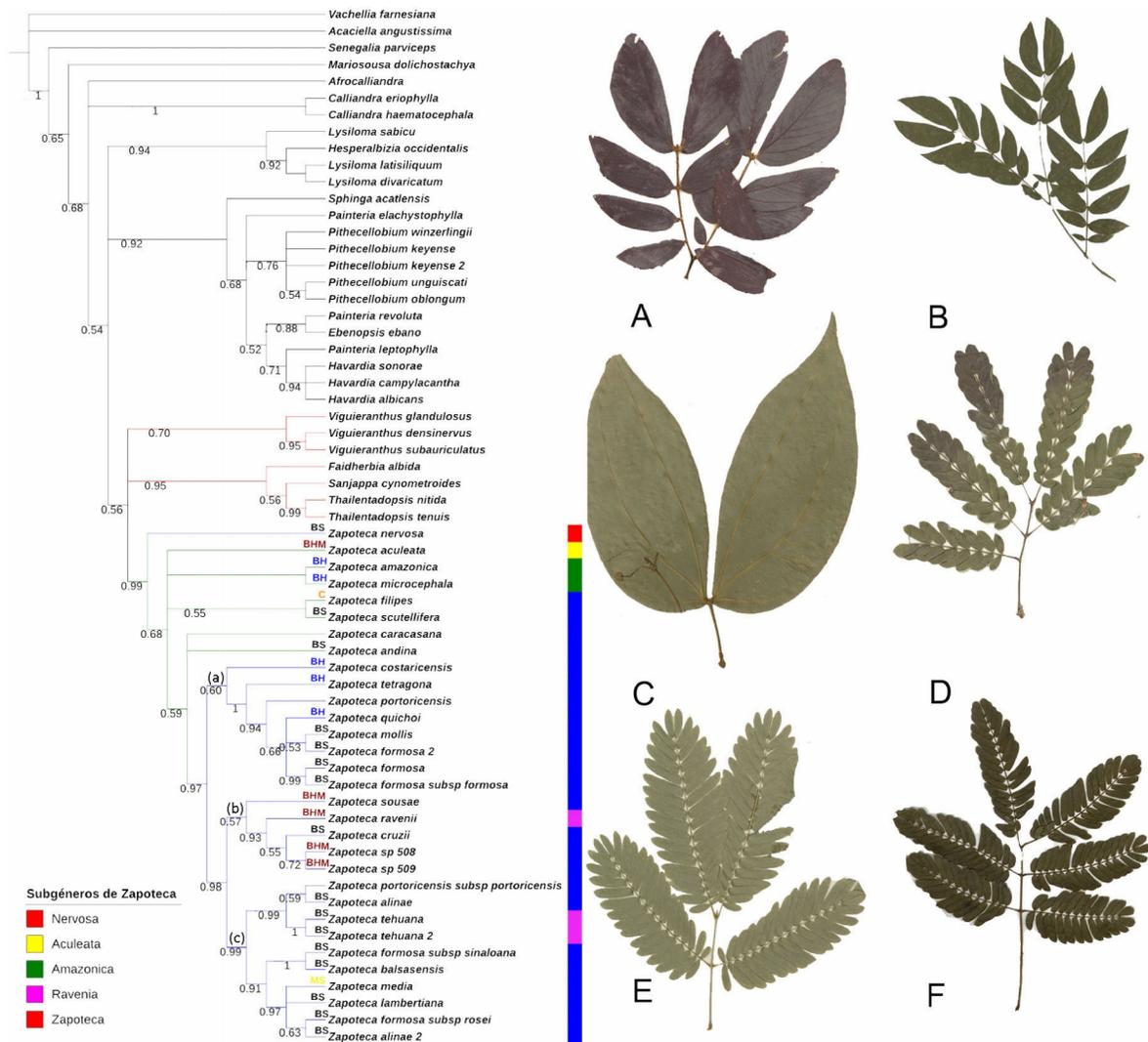


Figura 7 Árbol más probable (no ultramétrico) del análisis filogenético bayesiano de evidencia total (ADN+morfología). La barra de colores de lado derecho del árbol señala los miembros de los diferentes subgéneros de *Zapoteca*. El color de las ramas representa la distribución de los linajes (rojo= Viejo Mundo; verde= Sudamérica; azul; Megaméxico). De lado derecho se encuentran algunos morfos vegetativos de especies críticas. A) *Z. nervosa* (subg. *Nervosa*), B) *Z. aculeata* (subg. *Aculeata*), C) *Z. amazonica* (subg. *Amazonica*), D) *Z. formosa* subsp. *rosei* (subg. *Zapoteca*), E) *Z. tehua* (subg. *Ravenia*), F) *Z. filipes* (subg. *Zapoteca*).

3.6 RELOJ MOLECULAR

En la figura 8 se observa el árbol obtenido en el análisis de reloj molecular (con marcadores nucleares). Las relaciones filogenéticas en este árbol son casi iguales a los resultados obtenidos previamente. Entre las relaciones más importantes se puede destacar la monofilia de un clado compuesto por *Faidherbia*, *Sanjappa*, *Thailentadopsis*, *Viguieranthus* y *Zapoteca*. *Zapoteca* es monofilético y hermano de un clado con distribución en el Viejo Mundo (marcado en rojo). Un grado de distribución sudamericana en *Zapoteca* (señalado en verde). Un clado monofilético conformado principalmente por las especies megamexicanas de *Zapoteca*. Finalmente, se lograron rescatar los tres principales clados de *Zapoteca* en Megaméxico que se han recuperado en los análisis anteriores.

Las fechas estimadas de los nodos se encuentran en la parte superior de las ramas. La edad estimada del grupo troncal de *Zapoteca* es de 34.4 mda (millones de años). Los eventos cladogenéticos de los clados más inclusivos de *Zapoteca* ocurren en intervalos de tiempo relativamente amplios (entre los 34 y 17 mda). Sin embargo, en el clado megamexicano se sugiere que hubieron varios eventos cladogenéticos en un intervalo de tiempo relativamente corto iniciando hace aproximadamente 13.4 mda.

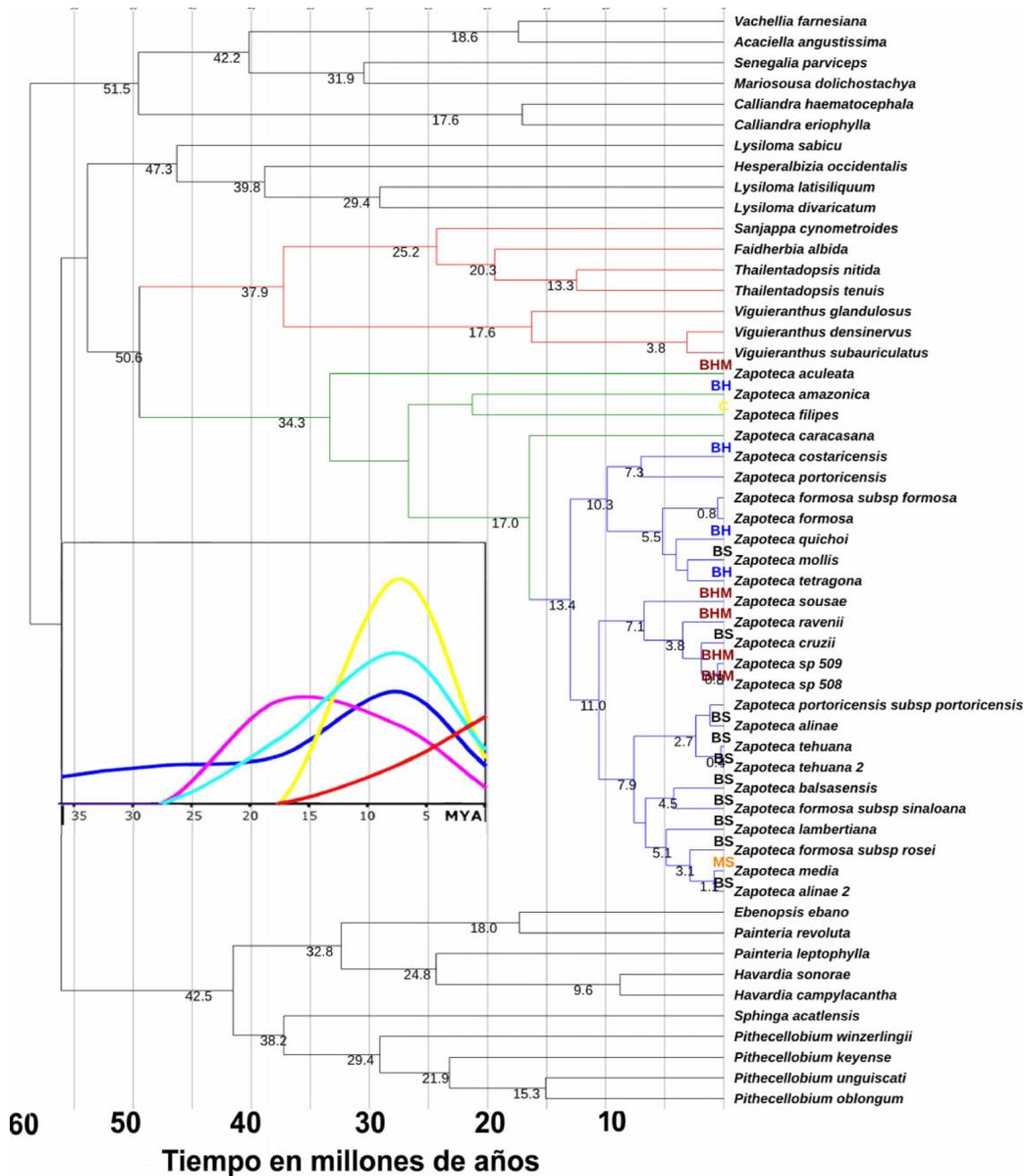


Figura 8. Árbol obtenido en el análisis de reloj molecular. Se realizaron 2 corridas de 40000 iteraciones cada una y se utilizó un reloj relajado y el proceso de especiación de Yule. La gráfica adjunta indica las tasas de diversificación (dividido por sub-areas) en *Bursera* (extraído de Becerra, 2005). Nótese que las tasas de diversificación en *Bursera* son cronológicamente congruentes con la fecha estimada en que ocurrieron los principales eventos cladogenéticos en el clado megamexicano de *Zapoteca*.

CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN GENERAL.

4.1 RELACIÓN DE ZAPOTECA CON OTROS GÉNEROS DE LA TRIBU INGEEAE

El análisis filogenético extenso de la tribu Ingeae (Figura 3) sugiere que la posición de *Zapoteca* con respecto a los miembros de la tribu Ingeae es divergente. En el contexto de este trabajo, el término divergente se utilizará para la posición de un taxón ya sea género o una especie que se encuentre incluida en menos clados con relación a otro taxón de la misma categoría taxonómica. Cabe resaltar que en el árbol anteriormente mencionado, *Zapoteca* se encuentra sobrerrepresentado mientras que muchos géneros de la tribu Ingeae se encuentran pobremente representados. Principalmente en los clados “Ingeae VM+ Acacia VM” e “Ingeae NM” donde se encuentra un mayor número de géneros de la tribu Ingeae y probablemente una mayor diversidad morfológica.

Generalmente se ha sugerido que *Calliandra* está estrechamente relacionado a *Zapoteca* (Iganci *et al.*, 2015; Brown *et al.*, 2008; Luckow *et al.*, 2000; Barneby y Grimes, 1996 y Grimes, 1995). Sin embargo, los análisis moleculares (Figura 6 y Figura 7) sugieren que *Calliandra* es un grupo basal con relación a la tribu Ingeae donde géneros como *Acaciella*, *Mariosousa* o *Senegalia* son más basales. Hernández (1989) ya había sugerido que algunos caracteres distintivos de *Calliandra* (ej. la forma de la políades, el número cromosómico y la morfología floral) en relación a la tribu Ingeae y la ausencia de formas intermedias, probablemente reflejan su naturaleza divergente. En el contexto de este análisis, *Calliandra* forma parte de los miembros más basales después de los segregados de *Acacia* (*Vachellia*, *Mariosousa* y *Senegalia*). *Zapoteca* es hermano de un clado compuesto por *Faidherbia*, *Sanjappa*, *Thailentadopsis* y *Viguiерanthus*. Rodriguez de Souza *et al.* (2016) recuperó el mismo clado y lo nombró como clado *Viguiерanthus*. En este clado *Faidherbia* y *Thailentadopsis* nunca formaron parte de *Calliandra* y por lo tanto no presentan el característico fruto elásticamente dehiscente. Toda la información antes mencionada, sugiere que el fruto elásticamente dehiscente es homoplásico y ha evolucionado al menos dos veces en *Calliandra* y el clado *Viguiерanthus*+*Zapoteca*. En el clado *Viguiерanthus*, se puede suponer que han ocurrido dos cambios morfológicos

distintos (autopomorfias), en los cuales el fruto elásticamente dehiscente ha desaparecido por completo: en *Faidherbia* que un fruto indehiscente retrofalcado con valvas leñosas y en *Thailentadopsis* que presenta frutos indehiscentes plano-compresos submoniliformes.

La convergencia morfológica del fruto que existe entre *Calliandra*, *Sanjappa*, *Viguiernanthus* y *Zapoteca*, llevó a que estos géneros fueran circunscritos en *Calliandra* (Bentham, 1840). Casos similares en donde la convergencia morfológica ha llevado a que especies filogenéticamente poco relacionadas sean circunscritas en la misma categoría taxonómica, son comunes. Por ejemplo, *Albizia*, *Hesperalbizia* y *Pseudosamanea* cuya convergencia en el fruto llevó a que estos grupos sean circunscritos en *Albizia* cuando no forman un clado monofilético (Rico *et al.*, 2008). También se puede citar el caso de *Cathormion*, *Hydrochorea* y las especies del género *Albizia* que se distribuyen en Sudamérica que presentan frutos lomentiformes (Avilés, 2016).

La diagnosticabilidad de los géneros del clado *Viguiernanthus* y *Zapoteca* utilizando caracteres macromorfológicos es sencilla y con un fuerte componente biogeográfico (Cuadro 5). Por ejemplo, el clado (*Viguiernanthus*, *Faidherbia*, (*Thailentadopsis*, *Sanjappa*)) se distribuye en el Viejo Mundo. *Viguiernanthus* y *Fidherbia* forman un grado y son géneros esencialmente africanos. *Thailentadopsis* y *Sanjappa* son grupos hermanos y se distribuyen en Asia. *Zapoteca* por otro lado, se distribuye en el Neotrópico con las especies basales formando un grado y con distribución sudamericana.

Cuadro 5 Caracteres diagnósticos para *Zapoteca*, *Calliandra* y sus segregados

	<i>Afrocalliandra</i>	<i>Calliandra</i>	<i>Faidherbia</i>	<i>Sanjappa</i>	<i>Vigueiranthus</i>	<i>Thailentadopsis</i>	<i>Zapoteca</i>
Estipulas espirescentes	Presente	Usualmente ausentes	Presente	Presente	Ausente	Presente	Usualmente ausentes
Hojas	Bipinnada	Bipinnada	Bifoliada	Bifoliada	Bipinnada	Bipinnada	Bipinnada
Forma de los peciolos		Terete	Terete	Terete	Terete	Alados	Terete o angulado
Nectarios extraflorales	Presente	Usualmente ausentes	Presente	Presente	Presente	Presentes	Generalmente ausentes
Inflorescencias	Axilar	Axilar o terminal	Axilar	Axilar	Axilar o terminal	Axilares	Axilar o terminal
Polen	7 granos de polen, elipsoide, bisimétrico, acalimado	8 granos de polen, elipsoide, bisimétrico, acalimado	30 granos de polen, discoide, simétrico, acalimado	16 granos Discoides, simétricos acalimado	16 granos Discoides, simétricos acalimado	16 granos de polen, discoide, simétrico, acalimado	16-granos, Simétrico, acalimado con una estructura en forma de lenteja en las células centrales
Frutos	Oblancoiado Elásticamente dehiscente hacia abajo	Oblancoiado Elásticamente dehiscente desde el ápice hacia abajo	Falcado, curvado, indehi- scente	Oblancoiado, elásticamente dehiscente desde el ápice hacia abajo	Oblancoiado, elásticamente dehiscente desde el ápice hacia abajo	Submoniliforme indehiscente	Oblancoiado, elásticamente dehiscente desde el ápice hacia abajo
Distribución	África tropical	América (ampliamente distribuida)	África	Asia (Endémica de la India)	Principalmente en Madagascar donde 18 de las 23 especies son endemicas	Asia (Tailandia y Vietnam)	América (ampliamente distribuida)

Tomado y modificado de Rodriguez de Souza *et al.* 2016 incluyendo como novedad información sobre *Zapoteca* y distribución general de los géneros

4.2 RELACIONES INTERNAS EN *ZAPOTECA*, LA CLASIFICACIÓN INFRAGENÉRICA

Así como en las relaciones del clado *Viguiernanthus*, en *Zapoteca* existe un fuerte componente biogeográfico que parece presentar más señal filogenética que la morfología sin que exista necesariamente una incompatibilidad entre ambas. En el análisis de evidencia total (Figura 7) el cual es congruente con la mayoría de los análisis moleculares y parcialmente congruentes con el morfológico, las especies basales con excepción de *Z. nervosa* son de distribución sudamericana y forman un grado. A pesar que el análisis de evidencia total no presentó resolución en los grupos basales, todos los análisis moleculares tanto de núcleo como de cloroplasto, sugieren que *Z. filipes* es el grupo hermano del resto de las especies de *Zapoteca* (excepto *Z. nervosa*).

La clasificación infragenérica de Hernández (1989) se cumple casi en su totalidad en todos los análisis. *Zapoteca* subgénero *Aculeata*, *Zapoteca* subgénero *Amazonica* y *Zapoteca* subgénero *Nervosa*, representan líneas de evolución divergentes. Estos subgéneros presentan una serie de apomorfias características: *Zapoteca* subgénero *Nervosa* presenta muchos caracteres únicos o poco frecuentes en el género, por ejemplo, folíolos con venación prominente y eucamptodódroma, textura coriácea y consistencia fibrosa. Otro carácter importante en *Z. nervosa* es la presencia de nectarios extraflorales los cuales están consistentemente presentes solo en *S. scutellifera* y *Z. filipes*. Considerando la posición basal de las especies antes mencionadas y que el clado *Viguiernanthus* que es grupo hermano de *Zapoteca* que también se caracteriza por presentar nectarios extraflorales, parece evidente sugerir que esta característica es ancestral y solo se presenta en los grupos más divergentes en el contexto del clado *Viguiernanthus* + *Zapoteca*. Un carácter crítico que refleja la posición basal de *Z. nervosa*, es la ausencia de las estructuras en forma de lenteja en las células centrales de la políade que caracterizan al resto de las especies. *Z. nervosa* también es la única especie que es endémica de la isla de la Española.

Zapoteca subgénero *Aculeata* es apoyado por todos los análisis filogenéticos. El tamaño relativamente grande de los folíolos con forma ovado-lanceolada, así como sus estípulas

rígidas la caracterizan del resto de los subgéneros. Hernández (1989) sugirió que *Z. aculeata* puede estar relacionado a *Z. tehuana* como sugieren las características en la arquitectura foliar. Sin embargo, ningún análisis filogenético presentado en este estudio ha sugerido esta relación. Se conocen únicamente poblaciones de *Z. aculeata* en bosques húmedos en las faldas del volcán Tangurahua en Ecuador.

Zapoteca subgénero *Amazonica* es apoyado tanto por los análisis morfológicos como los moleculares. El análisis filogenético combinado es congruente con la clasificación infragenérica de Hernández (1989), que propone al subgénero *Amazonica* compuesto por dos especies, *Z. amazonica* y *Z. microcephala*. Las características más contrastantes de *Zapoteca* subgénero *Amazonica* son la reducción de los folíolos y la formación de pseudopániculas. Estas últimas son estructuras que funcionan como unidades de atracción para polinizadores como lo haría una inflorescencia. Esta estructura no debe ser considerada homóloga a una panícula, originada solo de órganos reproductivos, debido a que éste se formó como resultado de la supresión de las hojas de algunas yemas axilares de ramas de origen vegetativo y reproductivo. Tanto la reducción de los folíolos como las pseudopániculas bien desarrolladas, pueden estar asociada al tipo de ambiente en el que se establece este subgénero: bosques húmedos. A pesar que las pseudopaniculas se expresan en varias especies de *Zapoteca* de diferentes subgéneros, las especies que tienen esta característica más desarrollada (*Z. amazonica*, *Z. microcephala* y *Z. quichoi*), se encuentran consistentemente distribuidas en bosques húmedos.

Zapoteca subgénero *Zapoteca* no es monofilético e incluye a *Z. tehuana* y *Z. ravenii* que pertenecen a *Zapoteca* subgénero *Ravenia*. A pesar que las relaciones interespecíficas en este subgénero tienen bajo apoyo, *Z. tehuana* y *Z. ravenii* se encuentran contenidos en clados fuertemente apoyados. Más adelante se discutirá acerca de *Zapoteca* subgénero *Ravenia*. *Zapoteca* subgénero *Zapoteca* es el que contiene a la mayoría de las especies del género y las más comunes lo que sugiere el éxito de esta línea evolutiva. La diversidad morfológica es alta en este subgénero. En los rasgos vegetativos, las características más comunes en este subgénero son las hojas con muchos folíolos y a veces con muchas pinas. *Zapoteca quichoi* es la única especie que sale de este patrón morfológico. Otra característica de *Z. quichoi* atípica en el subgénero *Zapoteca*, son las

pseudopániculas bien desarrolladas. En *Zapoteca* subgénero *Zapoteca* se obtuvieron relaciones con bajos apoyos. Sin embargo, se lograron rescatar tres clados con buen apoyo. Los miembros que incluye cada uno de estos clados sugieren que las relaciones de este clado están mejor definidas por la distribución que por atributos macromorfológicos. El único carácter macromorfológico evidente que parece tener señal filogenética, es el color rosado de los filamentos que parece estar presente en un solo clado. Este clado también se caracteriza por la preferencia de sus miembros a climas cálido-secos.

4.3 CONSIDERACIONES TAXONÓMICAS

El análisis morfológico (Figura 4) sugiere que *Z. nervosa* probablemente es hermana del resto de los miembros de *Zapoteca*. Las características atípicas de esta especie sumado al hecho que también presenta una discontinuidad geográfica, siendo la única especie endémica de las Antillas, podrían justificar la segregación de éste como un género monotípico. A pesar de que la informatividad de géneros monotípicos es poca, una futura segregación reduciría considerablemente la variación morfológica en *Zapoteca* facilitando de esta manera su diagnosticabilidad.

A pesar que el análisis filogenético combinado (morfología y moléculas) no resolvió las relaciones de *Z. scutellifera* y *Z. filipes*, no es incongruente con el análisis combinado molecular, el combinado de cloroplasto y combinado de núcleo (ninguno incluye a *Z. nervosa*) que sugieren que *Z. filipes* es hermana del resto de los miembros de *Zapoteca* (las relaciones de *Z. scutellifera* solo son apoyadas con evidencia morfológica). Considerando el principio de monofilia (Backlund y Bremer, 1998), la propuesta infragenérica de Hernández (1989) solo sería válida si se reconociera un subgénero que reconociera a *Z. scutellifera* y *Z. filipes* como un subgénero. Desde el punto de vista morfológico, este resultado pareciera sorprendente. Las características vegetativas de *Z. filipes* recuerdan a *Z. portoricensis* y *Z. scutellifera* recuerda a *Z. formosa*. Se hubiera esperado que estas dos especies al menos formaran parte del subgénero *Zapoteca* como sugiere el análisis filogenético morfológico. Sin embargo, un carácter que evidencia la

naturaleza divergente de *Z. filipes* y *Z. scutellifera* son los nectarios extraflorales que solo se presentan en los miembros más divergentes de *Zapoteca* y en el clado *Viguieranthus* que es su grupo hermano. Estas dos especies se distribuyen principalmente en Brasil y a pesar de que no existe evidencia de que vivan en simpatría, ambas viven en ambientes asociados a suelos empobrecidos. *Zapoteca filipes* está asociada a ambientes de cerrados y *Z. scutellifera* a chapadas o selvas bajas, con suelos lateríticos arcillo-arenosos con piedra caliza.

Las relaciones de las especies que conforman a *Zapoteca* subgénero *Ravenia* no fueron recuperadas como evolutivamente divergentes, ni tampoco se recuperaron como grupo monofilético. *Zapoteca ravenii* está en un clado que incluye a *Z. cruzii*, *Z. sousae* y dos especies de *Zapoteca* que aún no han sido descritas (*Zapoteca* 508 y *Zapoteca* 509). Por otro lado, *Z. tehuana* está relacionada a *Z. alinae*, *Z. balsasensis*, *Z. lambertiana*, *Z. media*. Al no formar un clado monofilético y evolutivamente divergente, no es posible reconocerlo como un subgénero. Todos los análisis filogenéticos presentados en este estudio parecen sugerir que estas dos especies forman parte *Zapoteca* subgénero *Zapoteca*. Hernández (1990) mencionó varios caracteres morfológicos que soportaban su propuesta taxonómica. Sin embargo, ya se ha notado dentro de *Zapoteca* varios casos de convergencia evolutiva entre especies poco relacionadas filogenéticamente, como la ya mencionada convergencia en los rasgos vegetativos entre *Z. filipes* y *Z. portoricensis*, o entre *Z. scutellifera* y *Z. formosa*.

4.4 PATRONES FILOGENÉTICOS EN ZAPOTECA

Se han reportado patrones filogenéticos para varios linajes asociados a bosques tropicales secos (p. ej., *Barkeria* en Orchidaceae [Angulo *et al.*, 2011] o *Bursera* en Burseraceae [Becerra, 2005]) y especialmente para leguminosas (ej. en *Calliandra* [Rodríguez de Souza *et al.*, 2013] o en la tribu Robinieae [Lavin *et al.*, 2003]) o que se expresan debido a dos características de este ambiente: la distribución discontinua de los núcleos de bosques tropicales secos y al hecho que éstos presenten condiciones estresantes que lleven a la especialización de los linajes que habitan en él. Estos patrones son la distribución alopátrida, estructura filogenética geográfica, y conservación de nicho. *Zapoteca* a pesar que no es un grupo exclusivamente de bosques secos, muchas de las especies están asociadas a este tipo de ambiente y existe al menos un clado exclusivo de bosques secos que es particularmente diverso, con una diversificación temprana y que ocurrió en un periodo de tiempo relativamente corto, como sugiere el reloj molecular (Figura 8).

En *Zapoteca*, Hernández (1989) había destacado la distribución alopátrida de la mayoría de las especies, lo que puede ser interpretado como una historia evolutiva asociada a los eventos de especiación alopátrida. En este tipo de especiación, generalmente la divergencia se asocia a la presencia de barreras, ya sean ecológicas o geográficas entre conjuntos de poblaciones limitando de esta manera el flujo de genes y llevando subsecuentemente a la especiación. Por otro lado, se puede determinar que la mayor riqueza en los clados más derivados se encuentra anidada en los bosques tropicales secos del Neotrópico. Es importante considerar que la evolución en *Zapoteca* es compleja y debe ser explicada considerando también los cambios de nicho que ocurrieron en el grupo. Se puede observar afinidad en el tipo de ambiente en especies estrechamente relacionadas lo que puede sugerir que, en estos clados con ambientes muy similares, los procesos de especiación por alopatría podrían ser particularmente importantes. Claro ejemplo de esto es la presencia de un clado casi exclusivamente de bosque seco (Figura 7: clado B) y otro casi exclusivo de bosque húmedo montano (Figura 7: Clado C). En

estos clados, aunque sus miembros viven en regiones cercanas, se distribuyen en alopatría.

Todos los análisis filogenéticos moleculares también sugieren la existencia de estructura filogenética geográfica. Las especies sudamericanas incluidas en el análisis son basales y con una topología escalonada. En Sudamérica se encuentra el centro de variación morfológica de *Zapoteca*, lo que es consistente con un mayor tiempo de divergencia en relación con el clado más derivado. El clado más derivado está compuesto por especies que en su mayoría están restringidas a Megaméxico. Las relaciones del clado Megamexicano aún no son claras, debido probablemente al reciente tiempo de divergencia de las especies o a la acelerada especiación en un periodo de tiempo relativamente corto (ver Figura 8). Sin embargo, es posible identificar clados con una fuerte coherencia geográfica. Por ejemplo, un clado está compuesto por *Z. formosa*, *Z. portoricensis* y *Z. tetragona* que son de amplia distribución, *Z. costaricensis*, y *Z. mollis* endémicos de Costa Rica y *Z. quichoi* de los bosques húmedos de Tabasco. Otro clado está formado por *Z. cruzii*, *Z. ravenii* y *Z. sousae* que se distribuyen en la vertiente del Pacífico mexicano, *Zapoteca sp.* 508 y *Zapoteca sp.* 509 (que aún no han sido descritas) son endémicas de Honduras. El tercer clado con una distribución extendida en los bosques secos de México donde *Z. lambertiana* y *Z. media* que están estrechamente relacionadas, se distribuyen en la vertiente Atlántica y *Z. media* y *Z. alinae* también relacionadas, que son endémicas de Oaxaca (vertiente del Pacífico). Este alto grado de estructura filogenética geográfica puede ser indicativo de una historia de dispersión altamente limitada, probablemente debido a limitada capacidad de dispersión de *Zapoteca*. Hernández (1989) ya había sugerido que la extensión de rango de las especies de *Zapoteca* se daba principalmente por una serie de eventos de dispersión a corta distancia, debido a la limitada capacidad dispersiva que ofrece la semilla.

4.5 RELACIONES INFRAESPECÍFICAS EN ZAPOTECA

Hernández (1989) tomó una postura conservadora cuando describió las subespecies de *Zapoteca* bajo esta categoría taxonómica. Tanto para las subespecies de *Z. formosa* como las de *Z. portoricensis*, este autor consideró los caracteres vegetativos, particularmente la forma de los folíolos como caracteres críticos que reflejaban su pertenencia a la misma especie. Por ejemplo, las ocho subespecies de *Z. formosa* son variables en caracteres como el color de los filamentos, la pubescencia de los frutos o el tipo de hábito. Sin embargo, la tendencia es que las subespecies de *Z. formosa* presenten folíolos ovados.

Las tres subespecies de *Z. formosa* (*Z. subsp. formosa*, *Z. subsp. rosei* y *Z. subsp. sinaloana*) incluidos en nuestro análisis no forman un clado monofilético y se podría sugerir que son especies diferentes. *Zapoteca formosa* subsp. *rosei* y *Zapoteca formosa* subsp. *sinaloana* se encuentran en un clado con un buen apoyo, en donde se encuentran especies que se caracterizan por contar con filamentos rosados (excepto *Z. alinae* y *Z. portoricensis*) y su preferencia a climas cálido-secos. Desafortunadamente como se mencionó anteriormente, las relaciones de los clados más derivados presentan baja resolución y por tal razón no se pueden hacer modificaciones nomenclaturales. Sin embargo, este resultado evidencia la necesidad de realizar un estudio más detallado sobre las subespecies de *Z. formosa*.

En el caso de *Z. portoricensis*, se encontró que los dos ejemplares incluidos en los análisis que pertenecen a la misma subespecie (*Z. subsp. portoricensis*) se encuentran en dos clados diferentes. Por el momento no se ha encontrado una respuesta lógica a este resultado por lo que se sugiere que pudo ser un error ocurrido en laboratorio (ej. contaminación del material con otra especie de *Zapoteca*). A pesar de esto, existe evidencia que sugiera que *Z. portoricensis* subsp. *portoricensis* pertenece al clado (*Z. costaricensis*, (*Z. tetragona*, (*Z. portoricensis*, (*Z. quichoi*, *Z. mollis*, *Z. formosa*))). El clado

antes mencionado tiene la afinidad de que las especies que pertenecen a este grupo son de amplia distribución o son centroamericanas. También, las especies divergentes de este clado tienen una preferencia por los climas cálido húmedos, como *Z. portoricensis* subsp. *portoricensis*. Finalmente, este clado presenta únicamente especies con filamentos blancos y en su mayoría especies con muchos foliolos y pinas. Estas tres características no las comparte *Z. portoricensis* subsp. *portoricensis* con el otro clado que sugirió el análisis para la otra réplica. Por otro lado, Hernández (1989) había reportado posible evidencia de hibridación entre *Z. tetragona* y *Z. portoricensis* subsp. *portoricensis*. Existen poblaciones de esta última especie en Centroamérica y en México (donde convergen geográficamente más no ecológicamente) con ramas anguladas que es un carácter diagnóstico para *Z. tetragona*. Sin embargo, también hay poblaciones *Z. portoricensis* subsp. *portoricensis* con esta característica que están completamente aisladas de *Z. tetragona* (Haiti). Entonces, las ramas anguladas podrían ser más bien resultado de ancestría común entre estas dos especies. Hernández (1989) también mencionó que *Z. portoricensis* subsp. *portoricensis* puede estar estrechamente relacionada a *Z. caracasana*.

4.6 PERSPECTIVA HISTÓRICA

Existen varios estudios que evalúan la evolución de Leguminosae desde una perspectiva temporal. Por ejemplo, Rodriguez de Souza *et al.* 2013, Lavin *et al.* 2015, Bouchenak-Khelladi *et al.* 2010, Gomez-Acevedo *et al.* 2010, Miller *et al.* 2003. Todos los estudios hasta la fecha han sugerido edades más recientes que las obtenidas en el análisis actual. Se puede considerar el trabajo de Lavin *et al.* (2005) como el análisis más completo con un muestreo amplio de la familia y 12 puntos de calibración, todos estos obtenidos a través de registro fósil. Sin embargo, es difícil comparar las edades obtenidas en dicho estudio con el presente, porque el primero está más concentrado en evaluar las edades en la familia con un pobre muestreo en taxones filogenéticamente relacionados a *Zapoteca*.

Los estudios enfocados en el clado Mimosoide utilizan pocos puntos de calibración para estimar las edades de los grupos estudiados. Por ejemplo, Gomez-Acevedo *et al.* (2010) estimó fechas del grupo corona del clado *Lysiloma divaricatum*, (*Faidherbia albida*, (*Havardia*, *pallens*, *Pithecellobium dulce*)) en el Plioceno. Sin embargo, existe registro de *Pithecellobium* (Calvillo y Cevallos 2005) y *Lysiloma* (Magallón y Cevallos, 1994) con una antigüedad de 28.4 mda. Bouchenak-Khelladi *et al.* (2010) también estimaron edades mucho más recientes de los que sugiere el registro fósil disponible. Rodriguez de Souza *et al.* (2013) en el estudio de reloj molecular que presenta el muestreo de taxones que incluye más taxones filogenéticamente relacionados a *Zapoteca*, presenta dos deficiencias críticas: la escogencia del grupo externo es incorrecta y solo se utilizaron dos puntos de calibración, donde uno de estos puntos es una calibración secundaria. Rodriguez de Souza *et al.* (2013) obtuvieron una edad máxima de 10 mda para la alianza *Pithecellobium*, pero nuevamente el registro fósil de *Pithecellobium* y *Lysiloma* (Calvillo y Cevallos, 2005; Magallon y Cevallos, 1994) discrepa con estos resultados. Se puede concluir que la discrepancia en las edades estimadas en el presente estudio y los estudios previos, surge de que los últimos mencionados presentan un muestreo insuficiente del

registro fósil o una pobre inclusión de taxones filogenéticamente relacionados a *Zapoteca* (tribu Ingeae).

La edad estimada del grupo corona del clado *Viguieranthus* + *Zapoteca* es de 50.6 mda (ver Figura 8). En este clado ocurre la primera divergencia entre los elementos del Viejo Mundo y del Nuevo Mundo. Con respecto a esta distribución anfiatlántica, una hipótesis comúnmente usada para explicar esta distribución en varios grupos de leguminosas, es la hipótesis boreotropical (Lavin y Luckow, 1993) que sugiere que durante el Paleógeno temprano, los puentes terrestres de alta altitud facilitaron el cruce de taxones entre el Nuevo Mundo y el Viejo Mundo. A pesar que la fecha estimada en que se separaron estos dos linajes (50.6 mda) es concordante con esta hipótesis, es difícil asociarla a la distribución del clado *Viguieranthus* y *Zapoteca* dado a que la distribución de las especies que conforman estos clados es principalmente sudamericana. Una hipótesis alternativa y más plausible para este grupo es un evento de dispersión a larga distancia. A pesar de que estos eventos generalmente son poco comunes, se ha sugerido que son más recurrentes e incluso explican mejor que la tectónica de placas la estructura geográfica de las leguminosas (Lavin *et al.*, 2004). La monofilia en el clado *Viguieranthus* (a pesar del bajo apoyo) sugiere un solo evento de dispersión a larga distancia por parte del ancestro de este grupo.

Se estima que el grupo corona de *Zapoteca* tiene una edad de 34.3 mda. Considerando la distribución escalonada de los miembros más divergentes y su distribución sudamericana, los resultados en conjunto parecen sugerir que el centro de origen de *Zapoteca* es Sudamérica. En estos elementos sudamericanos y considerando también los no incluidos en el análisis, parece haber mucha variedad en el tipo de ambiente que se establecen. Entonces, el cambio de nicho ambiental pudo haber sido un factor importante en la especiación de estos miembros más divergentes.

La edad sugerida para el clado megamexicano de *Zapoteca* (13.4 mda) parece sugerir la importancia de Los Andes como barrera biogeográfica en este grupo. A pesar de que el levantamiento de Los Andes fue un proceso gradual que duró un intervalo de tiempo largo

hablando en términos de tiempos geológicos, el efecto que tuvo éste como barrera biogeográfica fue importante hace 15 mda (Hartley, 2003) cuando el aire húmedo empezó a chocar con los Andes generando el llamado efecto Fohn. Parece ser también que la formación del istmo de Panamá que se sugiere que sucedió hace 2.8 mda aprox (O’Dea, *et al.*, 2016), fue un evento poco importante considerando que *Zapoteca* ya se había establecido en Megaméxico antes que éste se formara.

Son pocas las especies que comparten Sudamérica y Megaméxico. La mayoría de estos elementos compartidos se encuentran en un clado que se caracteriza porque en este se encuentran las especies que tienen las distribuciones más amplias (entre otras cosas). Entre estos casos se puede mencionar a *Z. formosa* subsp. *formosa*, *Z. portoricensis* y *Z. tetragona*. En este clado también se encuentran elementos centroamericanos como *Z. costaricensis* y *Z. mollis*, y *Z. quichoi* en México.

Muchos eventos cladogenéticos sucedieron en un intervalo de tiempo que es más coincidente con procesos orográficos en México, que con los cambios climáticos del Pleistoceno. Por ejemplo, la aceleración en tasas de diversificación de varios grupos como por ejemplo *Bursera* (De Nova *et al.*, 2012; Becerra, 2005) se ha atribuido al término de la configuración de las condiciones secas en la vertiente del Pacífico. Esto se debió gracias al levantamiento del Eje Neovolcánico Transversal que también ayudó al establecimiento de otros tipos de ambiente debido al efecto Fohn. Entonces, la influencia del origen de los accidentes orográficos en Megaméxico sobre la evolución de *Zapoteca*, debe ser entendida en términos de la heterogeneidad ambiental que originó y no solo en la importancia que tuvo sobre la formación de los bosques secos.

Se puede reconocer un clado que es casi exclusivamente de bosques secos. Dadas las edades sugeridas en el análisis de reloj molecular, se podría entender la evolución de ese clado como un grupo con una preferencia por los bosques secos y cuyos eventos de especiación, probablemente fueron el resultado de eventos de dispersión a través de las barreras orográficas a otros bosques secos.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.

5.1 CONCLUSIONES

Los análisis filogenéticos apoyaron la monofilia de *Zapoteca*. Por otro lado, la clasificación subgenérica fue parcialmente apoyada, por lo tanto, se requiere hacer algunos cambios taxonómicos como incluir a las especies de *Zapoteca* subgénero *Ravenia* en el subgénero *Zapoteca* y circunscribir un nuevo subgénero que incluya a *Z. filipes* y tal vez a *Z. scutellifera*.

Por otro lado, los caracteres morfológicos codificados fueron altamente homoplásicos para los clados más derivados en la manera en que fueron codificados. La distribución geográfica parece ser un mejor estimador de relaciones, así como algunos caracteres selectos como, la presencia de nectarios extraflorales en los pecíolos que está presente en las especies más divergentes, las pseudopániculas bien desarrolladas, que son un carácter diagnóstico para los miembros de *Zapoteca* subgénero *Amazonica* o el color de los filamentos, que presenta alta señal filogenética en los clados más derivados.

La historia evolutiva en *Zapoteca* es compleja y puede ser explicada por más de un evento geológico que exclusivamente por las glaciaciones del Pleistoceno. En el reloj molecular se sugiere que la mayoría de los procesos de especiación se encuentran en un periodo de tiempo entre los 11 mda y 3 mda. Se pueden mencionar varios eventos geológicos importantes en la historia de su evolución: el levantamiento de Los Andes que formó una barrera ecológica hasta hace 15 mda cuando cesó el flujo genético entre los elementos sudamericanos y megamexicanos en *Zapoteca*, y la formación del Eje Neovolcánico Transversal que influyó en el establecimiento de varios tipos de ambientes y particularmente en el establecimiento de los bosques secos. Los cambios climáticos del Pleistoceno jugaron un papel más importante sobre la evolución de las especies más

derivadas en el clado megamexicano y también, pueden explicar la distribución discontinua de muchas especies (o también clados).

5.6 PERSPECTIVAS

La resolución de los clados fueron un problema latente durante la realización del presente trabajo y a pesar que se tuvo una buena aproximación acerca de la taxonomía y la evolución del grupo, aun se entiende poco acerca de los clados más derivados. El mismo caso sucede con las subespecies de *Z. formosa*, las cuales podrian ser elevadas a la categoría de especie. Estos cambios nomenclaturales a futuro elevarían el número de especies y reflejarían de manera más nítida la importancia de Megaméxico como un sitio importante para la evolución de este género. Primeramente, para lograr hacer estos cambios, se sugiere la utilización de secuenciación de nueva generación que ha sido particularmente útil para grupos con poca variación en su ADN como en *Zapoteca*.

Una característica muy interesante en *Zapoteca* es la distribución restringida y en alopatria de la mayoría de las especies. Esto convierte a este grupo en un buen modelo para estudiar patrones de distribución y ecología en plantas. Por ejemplo, se encontró afinidad en el tipo de ambiente entre especies filogeneticamente cercanas. En este caso, un estudio de modelación de nicho podría ofrecer información interesante acerca de la importancia de los rasgos ecológicos sobre la evolución de las Leguminosas.

Bibliografía

- Avilés, G. (2017). Análisis filogenético de las especies americanas de *Albizia* (Caesalpinoideae, clado Mimosoide, tribu Ingeae). Tesis Maestría, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., México, pp. 68
- Backlund, A. y K. Bremer. (1998). To Be or Not to Be. Principles of Classification and Monotypic Plant Families. *Taxon*, 47(2), 391-400.
- Baldwin, B. G. y S. Markos. (1998). Phylogenetic utility of the external transcribed Spacer (ETS) of 18S–26S rDNA: Congruence of ETS and ITS trees of *Calycadenia* (Compositae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 10, 449–463.
- Barneby, R. C. y J. W. Grimes. (1996). Silk tree, Guanacaste, Monkey's earring: a generic system for the synandrous Mimoseae of the Americas. Part I. *Abarema*, *Albizia* and allies. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 74: 1-292.
- Becerra, J. (2005). Timing the origin and expansion of the mexican tropical dry forest. *Proceedings of the National Academy of Science*, 102(31), 10919–10923.
- Bentham, G. (1840). *Journal of Botany, being a second series of the Botanical Miscellany*, 2(11), 138–141.
- Bentham, G. (1865). Ordo LVII Leguminosae. En Bentham, G. and Hooker, J.D. (eds.) *Genera Plantarum*, pp. 434–600, 1001–1004. Reeve & Co.: London.
- Bouchenak-Khelladi, Y., O. Maurin, J. Hurter, M. van der Bank. (2010). The evolutionary history and biogeography of Mimosoideae (Leguminosae): An emphasis on African acacias. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 57, 495–508.
- Brooks D., J. Bilewitch, C. Condy, D. Evans, K. Folinsbee, J. Fröbisch, D. Halas, S. Hill, D. McLennan, M. Mattern, L. Tsuji, J. Ward, N. Wahlberg, D. Zamparo, D. Zanatta. (2007). Quantitative phylogenetic analysis in the 21st. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 78, 225- 252.

- Brown, G., D. Murphy, J. Miller y P. Ladiges. (2008). *Acacia* s.s. and its relationship among tropical legumes, Tribe Ingeae (Leguminosae: Mimosoideae). *Systematic Botany*, 33(4), 739–751.
- Candolle, A. de. (1825). *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*, 2. Treuttel and WOrtz, Paris.
- Cardoso, D. *et al.* (2017). Amazon plant diversity revealed by a taxonomically verified species list. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(40), 10695–10700.
- Calvillo L. y S. Cevallos-Ferriz. (2005). Diverse Assemblage of Eocene and Oligocene Leguminosae from Mexico. *International Journal of Plant Sciences*. 66: 4, 671-692
- De Nova, A., R. Medina, J. Montero, A. Weeks, J. Rosell, M. Olson, L. Eguiarte, S. Magallon. (2012). Insights into the historical construction of species-rich MesoAmerican seasonally dry tropical forests: the diversification of *Bursera* (Burseraceae, Sapindales). *New Phytologist*, 193, 276–287.
- Doyle, J., J. Doyle, J. Ballenger, E. Dickson, T. Kajita, y H. Ohashi. (1997). A phylogeny of the chloroplast gene *rbcl* in the Leguminosae: Taxonomic correlations and insights into the evolution of nodulation. *American Journal of Botany*, 84, 541–554.
- Doyle, J. y M. Luckow. (2003). The Rest of the Iceberg. *Legume Diversity and Evolution in a Phylogenetic Context*. *Plant Physiology*, 13, 900-910
- Drummond, A. J., M. A. Suchard, D. Xie y A. Rambaut. (2012). Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular biology and evolution*, 29, 1969–1973.
- Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic acids research*, 32, 1792-1797.
- Felsenstein J. (1978). Cases in which parsimony and compatibility methods will be positively misleading. *Systematic Zoology*, 27, 401–410.

Felsenstein J. (2004). *Inferring phylogenies*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Gentry, A. (1988). Changes in plant community diversity and floristic composition on environmental and geographical gradient. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 75, 1–34.

Gernhard, T. (2008). The conditioned reconstructed process. *Journal of Theoretical Biology*, 253, 769–778.

Goloboff, P. (1994). NONA: A Tree Searching Program. [Disponibile en <ftp.unt.edu.ar/pub/parsimony>]

Gomez-Acevedo, A., L. Rico, A. Delgado-Salinas, S. Magallon. (2010). Neotropical mutualism between *Acacia* and *Pseudomyrmex*: Phylogeny and divergence times, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56, 393–408.

Grimes, J.W. (1995). Generic relationships of Mimosoideae tribe Ingeae, with emphasis on the New World *Pithecellobium*-complex. Pp. 101–121 in: Crisp, M. & Doyle J.J. (eds.). *Advances in legume systematics*, vol. 7, Phylogeny. Kew: Royal Botanic Gardens.

Hall, T. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. En *Nucleic acids symposium series*, 41, 95-98.

Hartley, A. (2003). Andean uplift and climate change. *Journal of geological society*, 160, 7-10

Heil M, González-Teuber M, Clement LW, Kautz S, Verhaagh M, Bueno JCS. (2009). Divergent investment strategies of *Acacia* myrmecophytes and the coexistence of mutualists and exploiters. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106, 18091–18096.

Hennig, W. (1950). *Grundzüge einer Theorie der phylogenetischen Systematik*. Deutscher Zentralverlag, Berlin.

- Hernández, H. (1986). *Zapoteca*: A new genus of neotropical Mimosoideae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 73(4), 755–763.
- Hernández, H. (1989). Systematics of *Zapoteca* (Leguminosae). *Annals of the Missouri botanical garden*, 76(3), 781–862.
- Hernández, H. (1990). A new subgenus and a new species of *Zapoteca* (Leguminosae). *Systematic Botany*, 15(2), 226–230.
- Hernández, H. (2015). New taxa of *Zapoteca* (Leguminosae, Mimosoideae). from México. *Phytotaxa*, 239(3), 233–241.
- Hernández, H. y A. Hanan-Alipi. (1998). *Zapoteca quichoi* (Leguminosae, Mimosoideae), a new species from southeastern México. *Brittonia*, 50(2), 211–213.
- Holder, M. y P. Lewis. (2003). Phylogeny estimation: traditional and bayesian approaches. *Nature Reviews*, 4, 275–284.
- Huelsenbeck, J. P., F. Ronquist, R. Nielsen y J. P. Bollack. (2001). Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology. *Science*, 294, 2310–2314.
- Iganci, J., M. Soares, E. Guerra y M. Morim. (2015). A preliminary molecular phylogeny of the Abarema alliance (Leguminosae) and implications for taxonomic rearrangement. *International Journal of Plant Sciences*, 177(1), 34–43.
- Irwin, H. (1981). Preface. Pp. vii–xi in: Polhill, R. y Raven, P. (eds.), *Advances in legume systematics, part 1*. Richmond, U.K.: Royal Botanic Gardens, Kew.
- Jenner, R. A. (2004). Accepting partnership by submission? Morphological phylogenetics in a molecular millennium. *Systematic Biology*, 53, 333–359.
- Johnson L. A., y D. E. Solits. (1994). matK DNA sequences and phylogenetic reconstruction in Saxifragaceae s. str. *Systematic Botany*, 19, 143–156.
- Jussieu, A.L. (1789). *Genera plantarum*. Paris: apud viduam Herissant et Theophilum Barrois.

-
- Käss, E. y Wink, M. (1996). Molecular evolution of the Leguminosae: Phylogeny of the three subfamilies based on *rbcl*-sequences. *Biochem. Systematic Ecology*, 24, 365–378.
- Kluge, A. (1989). A concern for evidence, and a phylogenetic hypothesis of relationships among *Epicrates* (Boidae, Serpentes). *Systematic Zoology*, 38, 7–25.
- Kolaczowski B. y J. Thornton. (2004). Performance of maximum parsimony and likelihood phylogenetics when evolution is heterogeneous. *Nature*, 431, 980–984.
- Kyalangalilwa, B., J. S. Boatwright, B. H. Daru, O. Maurin y M. Van Der Bank. (2013). Phylogenetic position and revised classification of *Acacia* s.l. (Fabaceae: Mimosoideae) in Africa, including new combinations in *Vachellia* and *Senegalia*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 172, 500–523.
- Lavin, M., P. Herendeen, M. Wojciechowski. (2005). Evolutionary Rates Analysis of Leguminosae Implicates a Rapid Diversification of Lineages during the Tertiary. *Systematic Biology*, 54(4), 575–594.
- Lavin, M., M. Luckow. (1993). Origins and relationships of tropical North América in the context of the boreotropics hypothesis'. *Américan Journal of Botany*, 80(1), 1–14.
- Lavin, M., B. Schrire, G. Lewis, R. Pennington, A. Delgado, M. Thulin, C. Hughes, A. Beyra, M. Wojciechowski. (2004). Metacommunity process rather than continental tectonic history better explains geographically structured phylogenies in legumes. *Philosophical transactions of the royal society of London Series B, Biological Science*, 359, 1509–1522.
- Lewis, P. (2001). Phylogenetic systematics turns over a new leaf. *Trends in Ecology and Evolution*, 16, 30–37.
- Lewis G., B. Schrire, y M. Lock. (2005). *Legumes of the World*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. 592 pp.
- LPWG. (2017). A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *Taxon*, 66(1), 44-77.

- Luckow, M., White, P. J. & Bruneau, A. (2000). Relationships among the basal genera of mimosoid legumes. In P. S. Herendeen & A. Bruneau (Eds), *Advances in legume systematics*. P. 9 (pp. 165–180). Kew: R. Bot. Gard.
- Luckow, M., J. Miller, D. Murphy, T. Livshultz. (2003). A phylogenetic Análisis of the Mimosoideae (Leguminosae) based on chloroplast DNA sequence data. *Advances in Legume Systematics*, 10, 197–220.
- Magallon-Puebla, S; Cevallos-Ferriz, S. (1994). Fossil legume fruits from tertiary strata of Puebla, Mexico. *Canadian Journal of Botany*, 72, 1027–1038
- Miller, J. y R. Bayer. (2003). Molecular phylogenetics of *Acacia* subgenera *Acacia* and *Aculeiferum* (Fabaceae: Mimosoideae) based on chloroplast *matK* coding sequence and flanking *trnK* intron spacer regions. *Advances in Legume Systematics*, part 11, *Australian Systematic Botany*, 16, 27–33.
- Miller J. y R. Bayer. (2001). Molecular phylogenetics of *Acacia* (Fabaceae: Mimosoideae) base don the chloroplast *matK* coding sequence and flaking *trnK* intron spacer regions. *American Journal of Botany*, 88, 697-705
- Miller, J., J. Grimes, D. Murphy, R Bayer y P. Ladiges. (2003). A phylogenetic analysis of the Acacieae and Ingeae (Mimosoideae: Fabaceae) Based on *trnK*, *matK*, *psbA-trnH*, and *trnL/trnF* Sequence Data. *Systematic Botany*, 28(3), 558–566.
- Nixon, K C. (2002). Winclada ver. 1.0000. Publicado por el autor. Ithaca, NY. [Disponible en <http://www.cladistics.com>]
- Patterson, C. (1987). *Molecules and morphology in evolution: conflict or compromise?* Cambridge Univ. Press, Cambridge, U.K.
- Patterson, C., D. Williams y C. Humphries. (1993). Congruence between molecular and morphological phylogenies. *Annual review of ecology and systematics*, 24, 153–188.
- Pol D. (2001). Biases in maximum likelihood and parsimony: A simulation approach to a 10-taxon case. *Cladistics*, 17, 266–281.

-
- Posada, D. (2008). jModelTest: Phylogenetic model averaging. *Molecular biology and evolution*, 25(7), 1253–1256.
- Rambaut, A., M. Suchard, D. Xie. y A. Drummond. (2014). Tracer, version 1.6. Available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>
- Rico, M., S. Gale y N. Maxted. (2008). A taxonomic study of *Albizia* (Leguminosae: Mimosoideae: Ingeae) in Mexico and Central America. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 65, 255-305.
- Rodriguez de Souza, E., M. Krishnaraj, L. de Queiroz. (2016). *Sanjappa*, a new genus in the tribe Ingeae (Leguminosae: Mimosoideae) from India. *Rheedea*, 26(1), 1–12.
- Rodríguez de Souza, E., G. P. Lewis, F. Forest, A. S. Schnadelbach, C. van den Berg, L. P. de Queiroz. (2013). Phylogeny of *Calliandra* (Leguminosae: Mimosoideae) based on nuclear and plastid molecular markers. *Taxon*, 62, 1201–1220.
- Ronquist, F, M Teslenko, P van der Mark, DL Ayres, A Darling, S Höhna, B Larget, L Liu, MA Suchard, JP Huelsenbeck. (2012). MrBayes 3.2: Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic biology*, 61 (3), 539–542.
- Sanderson, M. y M. Donoghue. (1989). Patterns of variation in levels of homoplasy. *Evolution*, 43, 1781–1795.
- Scotland, R., R. Olmstead, J. Bennett. (2003). Phylogeny Reconstruction: The Role of Morphology. *Systematic Biology*, 52(4):539–548.
- Swofford, D., G. Olsen, P. Wadden y D. Hillis. (1996). Phylogenetic inference, pp. 407-514. En: D. M. Hillis, C. Moritz y B. K. Mable (eds.). *Molecular systematics*, 2da ed. Sinauer Associates, Inc., Sunderland
- Thompson, R. (1980). A revision of the genus *Lysiloma* (Leguminosae). Tesis de Doctorado, Southern Illinois University, Carbondale, U.S.A.

Villiers, J. (2002). 'Tribe Ingeae', en: *The Leguminosae of Madagascar*, Du Puy, D.J. (eds.). Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 243–288.

Wiens, J. (2004). The Role of Morphological Data in Phylogeny Reconstruction. *Systematic Biology*, 53(4), 653–661.

Yule, U. (1925). A mathematical theory of evolution, based on the conclusions of Dr. J. C. Willis, F.R.S. *Philosophical transactions of the royal society of London. Series B*, 213, 21–8