



**ANÁLISIS FILOGEOGRÁFICO DE *Matudaea colombiana* Lozano
(HAMAMELIDACEAE) DE LOS ANDES COLOMBIANOS**

GUSTAVO ADOLFO SILVA ARIAS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA – INSTITUTO DE CIENCIAS NATURALES

BOGOTÁ, COLOMBIA

2013

ANÁLISIS FILOGEOGRÁFICO DE *Matudaea colombiana* Lozano (HAMAMELIDACEAE) DE LOS ANDES COLOMBIANOS

GUSTAVO ADOLFO SILVA ARIAS

Tesis de investigación presentada como requisito parcial para optar al título de:

Magíster en Ciencias – Biología

Directora:

Ph.D. María Isabel Chacón Sánchez

Facultad de Agronomía

Codirector:

Ph.D. Favio González

Instituto de Ciencias Naturales

Línea de investigación:

Sistemática

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA – INSTITUTO DE CIENCIAS NATURALES

BOGOTÁ, COLOMBIA

2013

AGRADECIMIENTOS

Al Programa de posgrado en Biología de la Universidad Nacional de Colombia y a la Red Latinoamericana de Botánica (RLB2010-P05) por su contribución en mi formación académica. A la Fundación para la Promoción de la Investigación y la Tecnología del Banco de la República por la financiación del proyecto No. 2732. Al Laboratorio de Agrobiotecnología y todas las personas que allí trabajan por el imprescindible apoyo que otorgaron a esta investigación y a mí mismo durante el desarrollo de esta. A Martha Liliana Serrano por su acompañamiento, ayuda y fomento a la discusión académica, así como por su amistad desde el comienzo del posgrado. A Sonia Tinjacá por su colaboración en las actividades de laboratorio. A los profesores Julio Betancur, William Vargas, Bernardo Ramírez, Jorge Andrés Pérez y William Ariza, así como a mis colegas Francisco Fajardo, Cesar Augusto Parra y especialmente a Camilo Palacios y Jorge Vélez por su colaboración en las exploraciones de campo y colectas. A J. Francisco Morales (INBIO) por la muestra de *Matudaea trinervia* de Costa Rica. A Oscar Rojas por su ayuda en la obtención de algunas fotografías. A mis orientadores María Isabel Chacón y Favio González por la confianza depositada en mí, su asesoría y apoyo constante. Y con enorme cariño a mi esposa y compañera Lina María Caballero que gracias a su apoyo incondicional obtuve grandes facilidades para realizar este trabajo.

Resumen

Matudaea presenta dos especies alopátricas, *M. trinervia* (distribuida en Meso y Centroamérica) y *M. colombiana* (distribuida en Los Andes colombianos). La evidencia fósil de *Matudaea* data del periodo Oligoceno de Europa Central, lo que sugiere una distribución pasada en bosques boreotropicales del Terciario. Para el presente se realizaron análisis poblacionales, filogenéticos y modelos de nicho ecológico con el fin de evaluar la respectiva dirección de dispersión de *Matudaea* y los patrones geográficos de divergencia y variación genética de *M. colombiana*.

Se muestrearon 119 individuos pertenecientes a 15 poblaciones de las tres cordilleras de Colombia (Occidental, Central y Oriental). Se realizaron modelos de nicho para ambas especies de *Matudaea* con base en nueve capas bioclimáticas y se realizaron análisis de divergencia de nicho mediante la índices de solapamiento, análisis estadísticos y comparación con modelos nulos de *background* geográfico para cada especie. Con base en los polimorfismos observados en los marcadores plásticos *atpB-rbcL* y *trnS-trnG* se estudiaron parámetros de diversidad genética, estructura poblacional y se realizó una red de haplotipos. Con el fin de obtener hipótesis de relaciones filogenéticas y estimaciones de tiempos de divergencia se realizaron análisis de máxima verosimilitud e inferencia bayesiana incluyendo dos regiones adicionales (*psbA-trnH* y *trnL-trnF*) y secuencias de *M. trinervia* y otros géneros de Hamamelidaceae y Altingiaceae.

Los análisis de datación mostraron que *M. colombiana* y *M. trinervia* divergieron en el Mioceno Tardío (ca. 12 Ma.), durante este periodo la dispersión de *Matudaea* hacia Suramérica pudo haberse facilitado por el levantamiento del Istmo de Panamá y cambios de temperatura. Los análisis filogenéticos y la red de haplotipos sugieren un patrón oeste-este de decrecimiento de la diversidad genética de *M. colombiana* y un proceso de estructuración de los pool genéticos presentes en las tres cordilleras durante el Plioceno-Pleistoceno Temprano (ca. 1-6 Ma.) procesos que pueden relacionarse cronológicamente con la orogenia andina y los periodos glaciales.

Los análisis filogenéticos no recuperaron los grupos *M. colombiana* y *M. trinervia*. En su lugar esta última aparece como grupo parafilético con respecto a *M. colombiana*, lo cual es congruente con la baja diferenciación morfológica entre estas especies. Es necesario un muestreo mayor para poder concluir que *Matudaea* es un género monoespecífico. Los análisis de nicho mostraron que las especies presentan conservatismo de nicho, pero sugieren que *M. colombiana* presenta un proceso de especialización de nicho derivada de la colonización de los bosques andinos.

La diversidad genética y las tasas de sustitución estimadas para *M. colombiana* están entre las más bajas de las reportadas para árboles neotropicales con cpDNA, pero son similares a otras Hamamelidaceae. Estos valores se relacionan con la condición relictual de la especie, reducciones poblacionales, tamaños poblacionales bajos, alta capacidad de rebrote y estrategias reproductivas.

Palabras clave

Andes, biogeografía, bosques montanos, gran intercambio americano, modelos de nicho ecológico, región neotropical.

Abstract

Matudaea comprises two allopatric species, *M. trinervia* (from Meso- and Central America), and *M. colombiana* (from the Colombian Andes). *Matudaea* fossil records date back to the Oligocene in Europe, which suggests a broader boreotropical distribution during the Tertiary. Population genetics, phylogenetic analyses and ecological niche modeling were performed in order to assess the putative direction of dispersion of *Matudaea* and the geographic patterns of divergence and genetic variation of *M. colombiana*.

A total of 119 individuals from 15 populations of *M. colombiana* from the three (Western, Central and Eastern) cordilleras in Colombia were sampled. Niche modeling was performed using nine GIS climate layers for the two *Matudaea* species in order to test for niche divergence by overlap indices, statistical tests and comparisons against null models of geographic background for each species. Genetic diversity, population structure and haplotype networks of *M. colombiana* were assessed based on the intergenic cpDNA *atpB-rbcL* and *trnS-trnG*. Bayesian and likelihood approaches were applied to infer interspecific relationships and divergence ages, including two additional intergenic cpDNA regions (*psbA-trnH* and *trnL-trnF*), and sequences from *M. trinervia* and other Hamamelidaceae and Altingiaceae.

Dating analyses suggest that *M. colombiana* and *M. trinervia* split in Late Miocene (at about 12 Mya), in this period the dispersion of *Matudaea* into South America may have been facilitated by the closure of the Isthmus of Panama and abrupt decreasing of temperature. Haplotype and phylogenetic analyses suggest a west-to-east genetic decreasing of *M. colombiana* and a Pliocene-Early Pleistocene (at about 1-6 Mya) differentiation of genetic pools between the three cordilleras that would be related in chronology with the north-Andean uplift and the cooling periods.

The phylogenetic analyses did not recover the clustering of samples from *M. colombiana* and *M. trinervia*. Instead, the second appears to be paraphyletic with respect to the first, which is congruent with the low morphological divergence between these species. In order to conclude that *Matudaea* is a monospecific genus, a more complete sampling is needed. Niche tests did not support niche divergence, but suggest that *M. colombiana* could have undergone an increasing niche specialization related with the Andean forests colonization.

Genetic diversity and substitution rates estimated for *M. colombiana* are among the lowest reported in non-coding cpDNA for Neotropical trees, but are similar with other Hamamelidaceae. These values may be related to relict condition, bottleneck processes, small population sizes, high sprouting ability and reproductive strategies.

Key words

Andes, biogeography, ecological niche modeling, Great American Interchange, montane forests, neotropical region.

CONTENIDO

| | |
|---|-----------|
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| PLANTAS BOREOTROPICALES EN BOSQUES MONTANOS DEL NORTE DE LA CORDILLERA DE LOS ANDES | 1 |
| <i>MATUDAEA</i> LUNDELL | 2 |
| ASPECTOS FILOGENÉTICOS Y BIOGEOGRÁFICOS | 2 |
| ASPECTOS MORFOLÓGICOS | 6 |
| DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA Y HÁBITAT | 4 |
| APROXIMACIONES FILOGEOGRÁFICAS Y EL ESTUDIO DE ORGANISMOS NEOTROPICALES | 8 |
| OBJETIVOS | 9 |
| METODOLOGÍA | 10 |
| TRABAJO DE CAMPO | 10 |
| MODELOS DE DISTRIBUCIÓN DE LAS ESPECIES DE <i>MATUDAEA</i> | 10 |
| ANÁLISIS DE CONSERVATISMO/DIVERGENCIA DE NICHOS ENTRE ESPECIES DE <i>MATUDAEA</i> | 11 |
| ANÁLISIS MOLECULAR | 13 |
| PROCESAMIENTO DE DATOS | 13 |
| ANÁLISIS DE DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA | 14 |
| ANÁLISIS DE LAS RELACIONES ENTRE HAPLOTIPOS | 14 |
| ANÁLISIS FILOGENÉTICO Y ESTIMACIÓN DE TIEMPOS DE DIVERGENCIA | 15 |
| RESULTADOS | 19 |
| OBSERVACIONES DE CAMPO | 19 |
| MODELOS DE DISTRIBUCIÓN DE LAS ESPECIES DE <i>MATUDAEA</i> | 21 |
| ANÁLISIS DE CONSERVATISMO/DIVERGENCIA DE NICHOS ENTRE ESPECIES DE <i>MATUDAEA</i> | 24 |
| DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE <i>MATUDAEA COLOMBIANA</i> | 26 |
| RELACIONES DE DIVERGENCIA INTRAESPECÍFICA | 28 |
| ANÁLISIS FILOGENÉTICOS | 30 |
| DISCUSIÓN | 34 |
| DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE <i>M. COLOMBIANA</i> | 34 |
| DIVERSIDAD GENÉTICA Y CAPACIDAD DE REBROTE | 37 |
| DIVERSIDAD GENÉTICA Y CONSERVACIÓN DE <i>M. COLOMBIANA</i> | 38 |
| RELACIONES INTRA- E INTERESPECÍFICAS DE <i>MATUDAEA</i> | 38 |
| EDADES DE DIVERGENCIA Y ESCENARIOS BIOGEOGRÁFICOS RELACIONADOS | 39 |
| BOSQUES DE MONTAÑA NEOTROPICALES, ¿RELICTOS DE HÁBITATS BOREOTROPICALES?: ANÁLISIS DE CONSERVATISMO VS. DIVERGENCIA DE NICHOS EN <i>MATUDAEA</i> | 40 |
| CONCLUSIONES | 41 |
| BIBLIOGRAFÍA | 42 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|-----------|
| Tabla 1. Marcadores y características de la matriz utilizadas para los análisis filogenéticos. | 16 |
| Tabla 2. Nodos y edades de calibración derivadas de evidencia fósil utilizadas para la estimación de tiempos de divergencia. | 17 |
| Tabla 3. Características ecológicas generales de las poblaciones de <i>Matudaea colombiana</i> muestreadas. | 20 |
| Tabla 4. Contribución porcentual de las variables utilizadas para realizar los modelos bioclimáticos de distribución de las especies de <i>Matudaea</i> . | 21 |
| Tabla 5. Medidas de solapamiento de nicho obtenidas por medio del análisis de identidad de nicho y de <i>background</i> por medio del programa <i>ENMTools</i> . | 25 |
| Tabla 6. Resultados del análisis de conservatismo vs. divergencia de nicho dentro del espacio bioclimático de las especies y su respectivo <i>background</i> geográfico realizado por medio de la reducción de variables climáticas crudas en un análisis de componentes principales (PCA). | 25 |
| Tabla 7. Parámetros de diversidad genética para marcador y en conjunto obtenidos por medio de <i>DNAsp</i> para las poblaciones muestreadas de <i>Matudaea colombiana</i> en todo su rango de distribución. | 27 |
| Tabla 8. Haplotipos identificados, posiciones polimórficas de cada marcador, distribución geográfica y frecuencia de cada haplotipo identificado entre las poblaciones muestreadas de <i>Matudaea colombiana</i> . | 28 |
| Tabla 9. Resumen de los resultados del <i>AMOVA</i> realizado por medio del programa Arlequin 3.5 para las poblaciones y agrupaciones regionales establecidos para <i>Matudaea colombiana</i> . | 28 |
| Tabla 10. Medidas de diversidad genética derivada de marcadores del cpDNA reportadas para varios taxones de árboles neotropicales. | 36 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|-----------|
| Figura 1. Distribución geográfica de los taxones vivientes de los diferentes clados de Hamamelidoideae | 3 |
| Figura 2. Localización geográfica de registros de <i>Matudaea colombiana</i> y <i>M. trinervia</i> . | 5 |
| Figura 3. Principales características morfológicas de <i>Matudaea colombiana</i> . | 7 |
| Figura 4. Mapa de distribución potencial de <i>Matudaea colombiana</i> de acuerdo con los modelos bioclimáticos obtenidos por medio de <i>Maxent</i> . | 22 |
| Figura 5. Mapa de distribución potencial de <i>Matudaea trinervia</i> de acuerdo con los modelos bioclimáticos obtenidos por medio de <i>Maxent</i> . | 23 |
| Figura 6. Composición haplotípica de cada localidad muestreada de <i>M. colombiana</i> . | 27 |
| Figura 7. Red de haplotipos obtenida con base en las secuencias obtenidas de las regiones <i>trnS-trnG</i> y <i>atpB-rbcL</i> para las muestras de <i>Matudaea colombiana</i> y <i>M. trinervia</i> . | 29 |
| Figura 8. Filograma obtenido por medio de análisis de Máxima Verosimilitud en el programa <i>phyML</i> . | 31 |
| Figura 9. Cronograma obtenido por medio de análisis de Inferencia Bayesiana en el programa <i>BEAST</i> . | 32 |
| Figura 10. Análisis de datación de tiempos de divergencia de los grupos incluidos en los análisis filogenéticos. | 33 |

INTRODUCCIÓN

PLANTAS BOREOTROPICALES EN BOSQUES MONTANOS DEL NORTE DE LA CORDILLERA DE LOS ANDES

Los bosques tropicales de baja y media elevación que flanquean la cordillera de Los Andes se caracterizan como unos de los mayores centros de diversidad mundial ya que albergan alrededor del 15% de la diversidad de plantas existente en menos del 1% del área continental del planeta (Pennington *et al.*, 2010). Se ha inferido que la diversidad de estos 'taxones centrados en Los Andes' es una consecuencia de una diversificación a partir de taxones de origen Gondwánico (de tierras bajas) aislados en el continente suramericano desde el periodo Cretácico (ca. 100 Ma.) y en menor proporción por 'contribuciones recientes' de taxones provenientes de otras regiones biogeográficas (Gentry, 1982). Sin embargo numerosas investigaciones muestran que los intercambios florísticos intercontinentales hacia el N de Suramérica fueron más comunes de lo esperado, por ejemplo Wolfe (1975) menciona que a pesar de la gran distancia entre Norteamérica y Suramérica los intercambios de plantas entre estos pudieron ser frecuentes durante el Paleógeno, presumiblemente facilitados por el 'óptimo térmico' y cadenas de islas existentes o extintas entre estos subcontinentes. Evidencia posterior basada en registros fósiles y filogenias datadas han confirmado esta hipótesis para varios grupos de plantas de tierras bajas (Richardson *et al.*, 2001; Davis *et al.*, 2002; Pennington & Dick, 2004; Pirie *et al.*, 2006; Cuenca *et al.*, 2008; Antonelli *et al.*, 2009).

La migración o expansión al sur de algunos taxones laurásicos ocasionaron cambios significativos en la composición de los bosques andinos, esta característica es notoria ya que varios de estos taxones presentan alta dominancia ecológica en bosques de montaña de Los Andes tropicales (Gentry, 1982; Burnham & Graham, 1999).

Entre los eventos paleográficos que más influyeron en la migración de taxones hacia Suramérica fue el levantamiento del Istmo de Panamá. Con base en evidencia biológica indirecta (Keigwin, 1978; Beu, 2001) inicialmente se pensaba que el levantamiento del Istmo de Panamá fue un proceso gradual que se produjo entre 3,5 y 7 millones de años (Ma) atrás. Estudios posteriores plantearon un proceso que comenzó durante el Mioceno medio (16 – 15 Ma) y concluyó en el Mioceno tardío (7,1 – 4,8 Ma) luego de un rápido levantamiento y emergencia extensiva del istmo centroamericano (Coates *et al.*, 2004). Sin embargo estudios de fósiles de mamíferos terrestres plantean que Centroamérica fue una península continua conectada a Norteamérica desde el Mioceno medio (11 – 18 Ma; Kirby & MacFadden, 2005), esto junto a evidencias petrográficas, geocronológicas, paleomagnéticas y termocronológicas recientes proponen un modelo alternativo en que la conexión terrestre continua entre Centro- y Suramérica pudo haberse establecido entre el Mioceno Temprano y Medio (11 – 23 Ma; Farris *et al.*, 2011; Montes *et al.*, 2012).

En plantas la idea que el levantamiento del Istmo fue hace 3 Ma atrás se encontró congruente con evidencia paleopalinológica para grupos de bosques montanos como *Myrica* (Myricaceae), *Salix* (Salicaceae), *Quercus* y *Alnus* (Betulaceae), la cual sugiere una dispersión gradual con dirección

norte-sur y llegada al norte de Suramérica durante el periodo Cuaternario facilitado por la culminación del puente terrestre entre los subcontinentes en el Plioceno y los periodos glaciares (Graham, 1999). Sin embargo estudios de biología molecular para grupos animales y vegetales plantean intercambios entre Centro y Suramérica que datan del Mioceno Medio y Tardío (5 – 18 Ma; Bermingham & Martin, 1998; Weigt *et al.*, 2005; Pirie *et al.*, 2006; Cody *et al.*, 2010).

El levantamiento de la cordillera de Los Andes se encuentra entre los factores abióticos que han promovido la alta diversidad del Neotrópico (Antonelli & Sanmartín, 2011) y entre otras consecuencias se presume que facilitó las migraciones de taxones desde otras regiones biogeográficas. En el norte de Suramérica la deformación de las regiones de las cordilleras Occidental y Central se inició entre Cretácico tardío y Paleógeno (55 – 100 Ma), con mayores picos de levantamiento entre el Oligoceno Tardío y el Mioceno temprano (23 Ma). Hasta el Mioceno Medio (12,9 – 13,5 Ma) la cordillera Central fue la única fuente de sedimento hacia el este de Los Andes del norte. Posterior a los 11,8 Ma la cordillera Oriental comenzó a ser fuente de sedimentos hacia el Valle del Magdalena, sin embargo su paleoaltitud hasta el Mioceno medio fue menor que 700 m y no superó el 40% de la altitud actual hasta el Plioceno temprano (5,3 Ma); finalmente durante el Plioceno (2 – 5 Ma) se dio un último pico de levantamiento y hace cerca de 2,7 Ma la cordillera Oriental alcanzó las elevaciones actuales (Gregory-Wodzicki, 2000).

***Matudaea* LUNDELL**

Aspectos filogenéticos y biogeográficos

El género *Matudaea* pertenece a la familia Hamamelidaceae la cual comprende plantas leñosas de porte arbustivo o arbóreo, normalmente de hojas simples, alternas y con estípulas. Esta familia posee una distribución amplia, aunque la mayor diversidad ocurre en áreas subtropicales del E y SE de Asia; existen representantes en Australia, E de África y Madagascar, Medio Oriente, la región mediterránea, Norte- y Centroamérica y el norte de Suramérica (Figura 1; Endress, 1993; Li & Bogle, 2001). Hamamelidaceae está compuesta por cuatro subfamilias Dysanthoideae, Exbucklandioideae, Rhodoleioideae y Hamamelidoideae (Takhtajan, 1997), 27 géneros (doce de estos monotípicos y probablemente relictuales) y más de 140 especies (Endress, 1993).

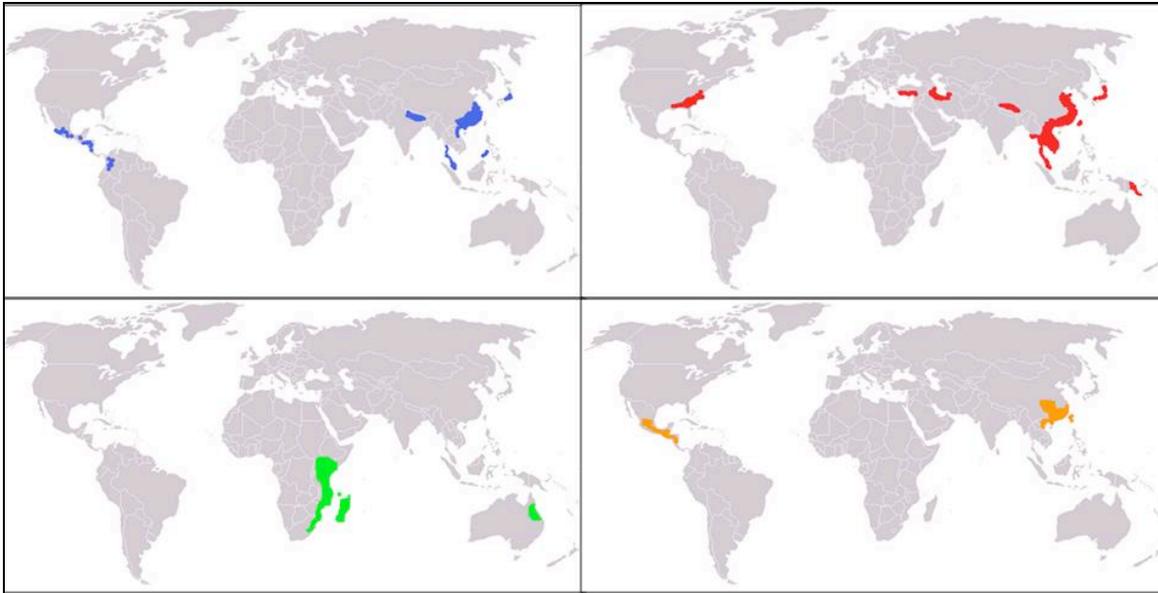


Figura 1. A. Distribución geográfica de los taxones vivos de los diferentes clados de Hamamelidoideae. **Azul:** Clado Loropetaloides; **Rojo:** Clado Fothergilloide; **Verde:** Clado Eustigmatoides-Dicoripheae; **Naranja:** Clado Eustigmatoides-Eustigmateae.

La subfamilia Hamamelidoideae es la más grande con 22 géneros y cerca de 100 especies y se encuentra en todo el rango de distribución de la familia (Figura 1). Hamamelidoideae presenta una subdivisión en tres clados bien soportados en varios análisis que incluyen datos morfológicos y moleculares (Li & Bogle, 2001; Magallón, 2007). *Matudaea* (de clado Loropetaloides) y *Molinadendron* (del clado Eustigmatoides) son los únicos representantes de Hamamelidaceae en el Neotrópico (Figura 1). Los análisis filogenéticos del grupo muestran la existencia de numerosas disyunciones intercontinentales dentro de cada uno de estos clados.

Hamamelidaceae presenta numerosos microfósiles que datan desde el Cretácico Tardío y están distribuidos por todo el Terciario (*cf.* (Manchester, 1999; Radtke *et al.*, 2005; Friis *et al.*, 2011)). Esto muestra la importancia del estudio de los patrones biogeográficos de este grupo para entender los cambios de la vegetación en diversas partes del planeta. La procedencia temporal y geográfica de la flora fósil de Hamamelidoideae sugiere una diversificación temprana dentro de las formaciones boreotropicales que dominaron el hemisferio norte durante gran parte del Cretácico y del Terciario, caracterizados por presentar un clima más cálido que el presente.

Distribución geográfica y hábitat

Matudaea trinervia Lundell se encuentra distribuida de forma discontinua desde México, a lo largo del Eje Volcánico Transversal por debajo de los 20°N, hasta el extremo sur-oriente de Costa Rica, en la cordillera de Talamanca (Figura 2). En cuanto al taxón *M. hirsuta* Lundell, que se encuentra restringido al centro y centro-oeste de México en Talpa de Allende, Sierra de Manantlán (Jalisco) y el estado de México, en una revisión taxonómica para el área del estado de Jalisco en México (González Villarreal *et al.*, 2004) concluyeron que corresponde a una variedad de *M. trinervia*, ya que no existen diferencias vegetativas o reproductivas ni de rango altitudinal; por el contrario, argumentan que existe una variación continua entre los tricomas estrellado-lepidotos (característicos de *M. trinervia*) y los tricomas hirsutos (característicos de *M. hirsuta*) entre las poblaciones de los estados de Jalisco y México. Adicionalmente, estos dos taxones se encuentran en simpatria en Talpa de Allende, Sierra de Manantlán.

La segunda especie corresponde a *Matudaea colombiana* Lozano presente en las tres cordilleras de Colombia, entre 5° y 1° de latitud N (Figura 2). La diferenciación morfológica entre ésta y *M. trinervia* es mínima; (Lozano-Contreras, 1996) reporta principalmente algunas diferencias morfológicas del androceo, las cuales presentan alta variabilidad a nivel individual.

Existen dos especies fósiles de *Matudaea* descritas a partir de restos de hojas, *M. menzelii* encontrada en la formación "*Haselbach floral assemblage*", Leipzig, Alemania, que data del límite entre los periodos Oligoceno Temprano y Tardío (Lundell, 1979; Kunzmann & Walther, 2012) y *M. paleobalkanica* encontrada en la formación "Krivodol", Ružinci, Bulgaria, que data del Mioceno Medio (Palamarev *et al.*, 2005); Figura 31). Además de estas existen varios hallazgos de hojas fósiles que han sido atribuidos a *M. menzelli* pero faltan análisis más detallados para confirmar su identificación. Estos fueron encontrados en las regiones de Oltenia, Rumania (Badeniano - Sarmatiano Medio, Mioceno Medio; (Paraschiv, 2008); Csordakút, Hungría (Eoceno Medio; (Erdei & Rákosi, 2009); y en el macizo de Bohemia, República Checa (Eoceno Tardío; (Kvaček, 2002; Kvaček & Teodoridis, 2007).

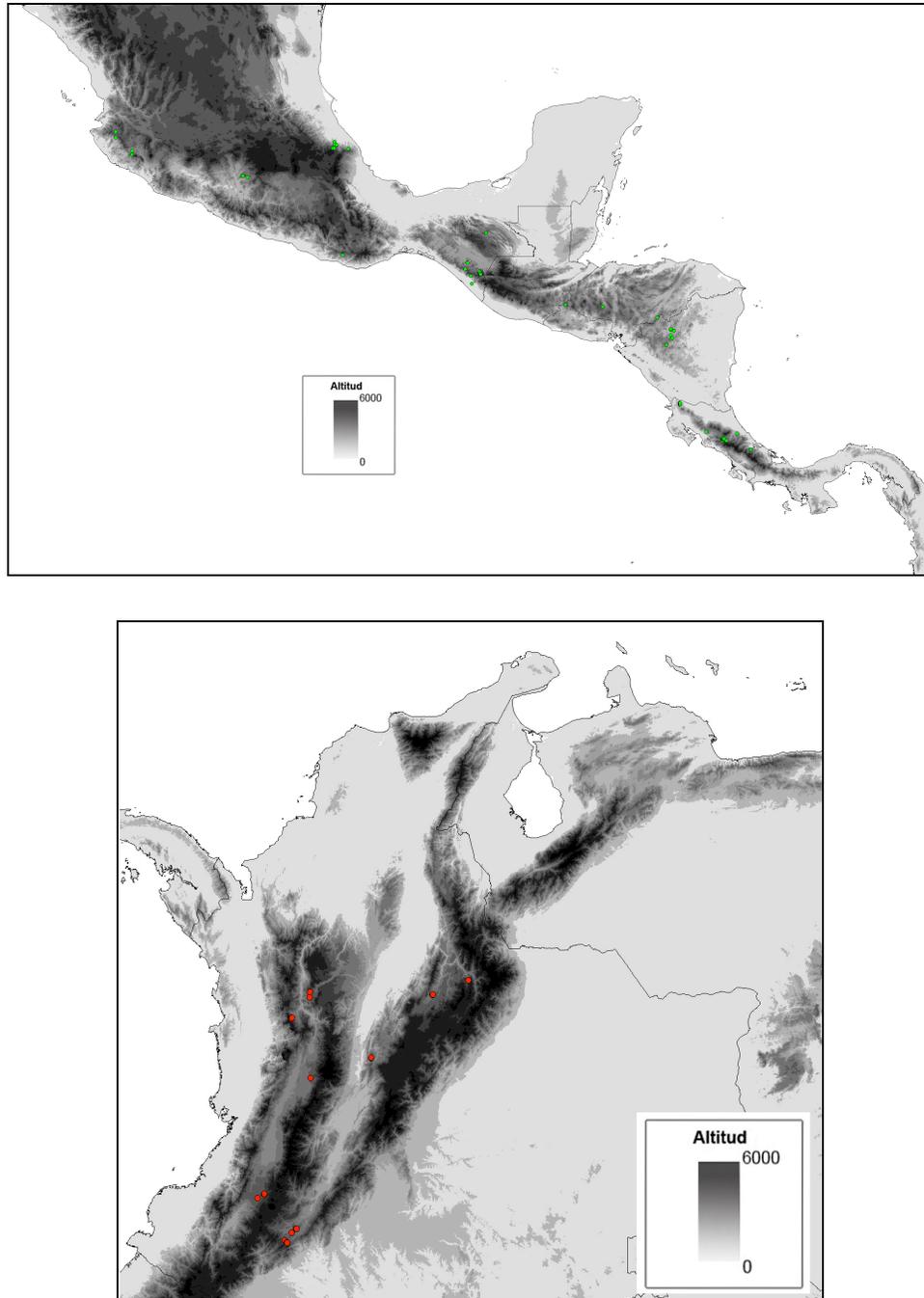


Figura 2. Localización geográfica de registros de *Matudaea trinervia* (en verde arriba) y *M. colombiana* (en rojo abajo).

Las especies vivientes de *Matudaea* se han descrito como elementos de bosques montanos entre 1.200-2.200 metros de altitud, sin embargo las poblaciones centroamericanas muestran un rango altitudinal más amplio (400-2.400 m; *GBIF Data portal* 2012). En México se reportan como elementos exclusivos del 'Bosque Mesófilo de Montaña', acompañados de especies de *Quercus* (Fagaceae), *Magnolia* (Magnoliaceae) y *Dendropanax* (Araliaceae), entre otros elementos y con frecuencia asociados a cursos de agua y laderas escarpadas (Rzedowski, 1996; González Villarreal

et al., 2004). En Honduras es un elemento de “un tipo especial de ‘bosques de niebla’ situado entre 1.400-2.800 m caracterizado por un porte más bajo, presentes en cumbres o picos aislados y con fuerte exposición al viento”, también acompañada de especies de *Quercus*, *Alfaroa* (Juglandaceae) y *Magnolia*. En Costa Rica se reporta como elemento de bosques dominados por *Quercus*. En Colombia su rango altitudinal reportado es marcadamente más restringido y en todos los casos se encuentra en bosques asociados a cañadas, de pendientes pronunciadas y dominados por *Q. humboldtii* o *Colombobalanus excelsa* (Fagaceae), aunque en hábitat intervenidos *M. colombiana* se constituye como el elemento dominante. También se encuentra acompañada de elementos de distribución restringida como *Alfaroa* y *Phyllonoma* (Phyllonomaceae).

A pesar que la distribución de las poblaciones de *Matudaea* es restringida, dentro de las áreas de ocurrencia se constituye como un elemento dominante, característica que se relaciona con el síndrome de polinización anemófila el cual en poblaciones densas aumentan las oportunidades de polinización, con el sistema de dispersión de semillas por autocoria, la capacidad de rebrotar (Figura 3B y 3C) y de reproducción clonal. Estas características hacen que las especies de *Matudaea* sean reportadas como elementos que reúnen criterios de rareza relacionados con especificidad de hábitat y rango geográfico discontinuo (Santiago *et al.*, 2002; González Villarreal *et al.*, 2004), lo que las convierte en especies vulnerables y motiva a realizar estudios conducentes a su conservación (González-Espinosa *et al.*, 2011).

Aspectos morfológicos

El género *Matudaea* se compone de dos especies vivas que presentan muy baja diferenciación morfológica. Se caracterizan como árboles de 8 a 30 m de altura (Figura 3A), con tricomas estrellado lepidotos y/o hirsutos en las ramas jóvenes (Figura 3E), las hojas y especialmente las inflorescencias y las flores (Figura 3L); las hojas son alternas, enteras, frecuentemente trinervias y persistentes (Figura 3G); la base foliar presenta estípulas lineares caducas (Figura 3D). Las inflorescencias son panículas densas, comprimidas o botrioides (Figura 3J); las flores son bisexuales, cada una encerrada por una envoltura bracteode o sepaloide que se abre o rompe de forma irregular durante la antesis; no se forman otras estructuras del perianto (Figura 3K y L). Estambres 12-24 por flor, con desarrollo centripeto, anteras elongadas, basifijas, con una larga protrusión apical del conectivo, tecas bisporangiadas de dehiscencia valvar (Figura 3K-M); ovario súpero, bilocular, cada carpelo con un óvulo. Fruto en cápsula leñosa, loculicida, en la que normalmente se desarrolla una sola semilla la cual es expulsada con fuerza en el momento de la apertura de la cápsula (Endress, 1989, 1993; González Villarreal *et al.*, 2004).

La carencia de perianto, la elevada tasa polen/óvulos debida al alto número de estambres, los estigmas expuestos, el desarrollo de una sola semilla por gineceo y la proteroginia son caracteres que sugieren que *Matudaea* es anemófila (Endress, 1996).

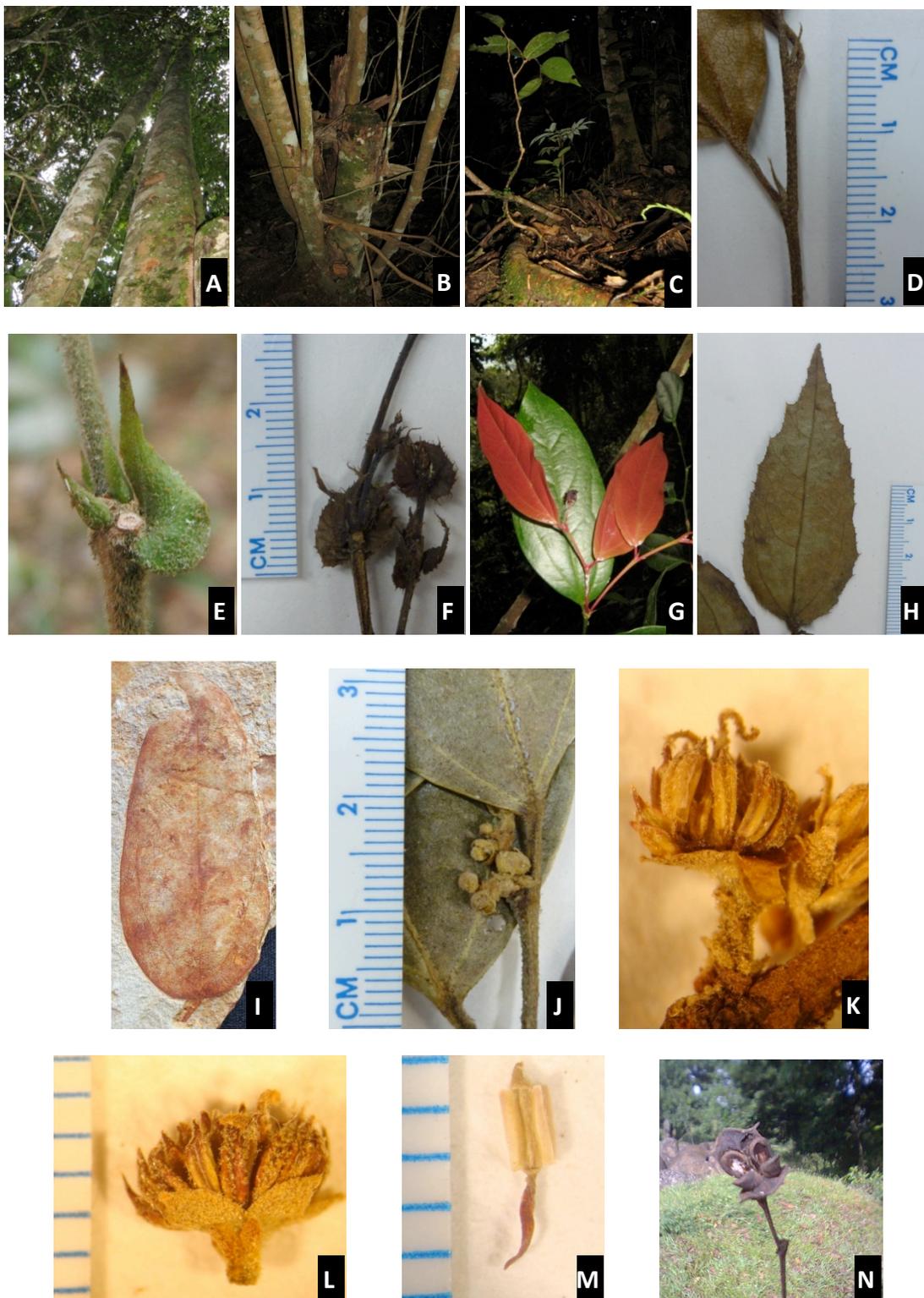


Figura 3. Principales características morfológicas de *Matudaea colombiana*. **A.** Fuste. **B.** Rebrotos de tallos en la base del fuste. **C.** Rebrote vegetativo sobre raíces superficiales. **D.** Estípula filiforme. **E.** Estípula auriculada con margen entero. **F.** Estípula auriculada con margen fimbriado. **G.** Hojas jóvenes. **H.** Hoja de margen bidentado. **I.** Hoja fósil de *M. paleobalcanica* (Palamarev *et al.*, 2005). **J.** Inflorescencia. **K y L.** Flor. **M.** Detalle de estambre con valvas abiertas. **N.** Fruto con dos lóculos desarrollados.

APROXIMACIONES FILOGEOGRÁFICAS Y EL ESTUDIO DE ORGANISMOS NEOTROPICALES

El término filogeografía fue utilizado por primera vez por (Avice *et al.*, 1987) en un estudio que relacionó la estructura genética y la distribución geográfica de poblaciones por medio de la inferencia de relaciones filogenéticas entre haplotipos. Esta aproximación enriqueció el área de la genética de poblaciones con elementos teóricos y herramientas analíticas derivadas de las áreas de demografía poblacional, biogeografía y sistemática molecular (Avice, 2009). Durante el desarrollo de la filogeografía, también se dio lugar al aumento en la producción de secuencias de DNA gracias a la optimización de las técnicas de PCR y secuenciamiento, además del desarrollo de programas informáticos para análisis de secuencias y bases de datos moleculares en internet. Esto ha contribuido a un estrechamiento del vínculo experimental entre las áreas de sistemática molecular y la genética de poblaciones que ha dado lugar a numerosas investigaciones que utilizan aproximaciones derivadas de ambas áreas en conjunto para inferir procesos tanto micro- como macroevolutivos en numerosos grupos de organismos.

Entre las herramientas analíticas utilizadas en la filogeografía se encuentran: (I) el análisis de la diversidad y estructura genética intra- e interpoblacional por medio de las herramientas clásicas de la genética de poblaciones, (II) análisis de relaciones de haplotipos, árboles de genes e hipótesis filogenéticas, y (III) análisis de parámetros histórico-demográficos desarrollados con el avance de la teoría de coalescencia (Hey & Machado, 2003). Estos análisis convergen en el entendimiento de los procesos históricos relacionados con la estructuración, diversificación poblacional y especiación en un contexto geográfico.

La enorme diversidad biológica presente en la región neotropical está relacionada con un amplio y complejo conjunto de fenómenos histórico-geográficos susceptibles de ser abordados por medio de herramientas filogeográficas. En una revisión cuantitativa para el área de filogeografía, (Beheregaray, 2008) muestra que existe un enorme vacío de información para el Neotrópico en comparación a otras regiones del planeta. Posteriormente, con una revisión enfocada a estudios filogeográficos para Suramérica, (Turchetto-Zolet *et al.*, 2013) resaltan los vacíos de información que aun existen en el conocimiento de la biodiversidad del Neotrópico y el establecimiento de los procesos históricos generales relacionados con la formación de la diversidad y distribución de los linajes actuales de la región. Sin embargo en este trabajo se muestra también que a partir del incremento en los estudios que se han adelantando durante los últimos años se vislumbra un mosaico complejo de patrones filogeográficos, varios relacionados principalmente con fenómenos como la orogenia andina y las oscilaciones climáticas del Pleistoceno, además de patrones más locales como el impacto de ríos como barreras históricas al flujo génico.

Adicionalmente (Turchetto-Zolet *et al.*, 2013) muestran que dentro del Suramérica las subregiones tropicales que presentan mayor cantidad de estudios filogeográficos son la Amazonia, el Bosque Atlántico brasileño y el Cerrado brasileño. Es notable también los estudios realizados en áreas de tierras bajas de la región del Istmo de Panamá y Costa Rica. En cuanto a los estudios para taxones distribuidos a ambos lados del Istmo de Panamá en su mayoría corresponden a estudios con

grupos de tierras bajas (Miller & Schaal, 2005; Dick & Heuertz, 2008; Andrew Jones *et al.*, 2013; Cavers *et al.*, 2013).

Es notable la falta de estudios para organismos neotropicales distribuidos en áreas de altitud, (Cadena *et al.*, 2007) resaltan la importancia del estudio de taxones de montaña como complemento importante para el conocimiento de los procesos que dieron lugar a diversidad biológica del Neotrópico. Debido a la mayor complejidad topográfica y ambiental existen diferencias en los procesos estructuración genética y diversificación con respecto a taxones de tierras bajas, además en áreas de montaña se encuentran mayor cantidad de grupos con afinidades biogeográficas extratropicales. Entre los estudios que involucran organismos de montaña distribuidos en ambos lados del Istmo de Panamá se resaltan el trabajo de Weir *et al.* (2008) en aves y el de Serrano-Serrano *et al.* (2010) para plantas.

OBJETIVOS

Objetivo general

Examinar las relaciones inter- e intraespecíficas de *Matudaea colombiana* e inferir los procesos históricos que pudieron haber dado lugar a ésta.

Objetivos específicos

Con el fin de lograr este objetivo se plantearon los siguientes objetivos específicos: 1) Evaluar la diversidad y estructura genética de las poblaciones de *M. colombiana* distribuidas en regiones geográficas disjuntas; 2) obtener una hipótesis filogenética de *M. colombiana* y taxones relacionados y evaluar su correspondencia con la clasificación taxonómica actual de *Matudaea*; 3) evaluar la hipótesis de divergencia de nicho entre *M. colombiana* y *M. trinervia* por medio de modelamientos de distribución de especies; y 4) estimar la edad de divergencia de *M. colombiana* con respecto a la especie centroamericana y compararla con hipótesis biogeográficas relacionadas con la migración de elementos boreotropicales hacia Suramérica.

METODOLOGÍA

TRABAJO DE CAMPO

Con base en registros biológicos de *Matudaea colombiana* obtenidos de colecciones botánicas provenientes de los herbarios de la Universidad del Cauca (CAUP), de la Universidad Nacional de Colombia (COL), de la Universidad Nacional de Colombia - Sede de Medellín (MEDEL) y de la Universidad Distrital (UDBC), junto a los registros depositados en las bases de datos biológicas tropicos.org y gbif.org, se obtuvieron las localidades conocidas para la especie en Colombia, las cuales se visitaron para coleccionar muestras para ejemplares de herbario y de tejido foliar preservadas en sílica gel. En todas estas localidades se muestrearon los individuos encontrados, se georreferenciaron y se realizaron observaciones de tipo y estado de la cobertura vegetal, topografía y cercanía a cursos de agua, entre otros.

Se muestrearon 15 localidades pertenecientes a seis departamentos y 11 municipios presentes en las tres cordilleras de Colombia (Anexo 1, Figura 6). Los ejemplares testigo (*G. A. Silva 1382-1386 y 1763-1777*) fueron depositados en el Herbario Nacional Colombiano. Se colectó tejido foliar en sílica gel de un total de 119 individuos.

MODELOS DE DISTRIBUCIÓN DE LAS ESPECIES DE *Matudaea*

Se realizaron modelos de distribución de *Matudaea colombiana* y *M. trinervia* por medio del método de máxima entropía (Phillips *et al.*, 2006) implementado en el programa *Maxent* 3.3.3. Este método, permite predecir la distribución espacial de las condiciones ambientales favorables con base en datos de presencia de la especie y capas tipo *raster* con información de variables ambientales. El programa estima la distribución que se ajusta a los valores de las variables ambientales en las localidades conocidas para la especie y arroja un mapa de igual resolución a las capas climáticas de entrada con valores de adecuabilidad ambiental (*environmental suitability*) para cada celda. Esta metodología ha mostrado resultados precisos cuando solo se tienen datos de presencia de la especie y tamaños de muestra pequeños (Elith *et al.*, 2006; Hernandez *et al.*, 2006; Pearson *et al.*, 2006; Elith & Graham, 2009). Los datos de localidades se obtuvieron de los registros biológicos georeferenciados obtenidos en el trabajo de campo para *M. colombiana* junto con la información disponible de registros biológicos (*GBIF data portal*, tropicos.org) y publicaciones (González Villarreal *et al.*, 2004). Las localidades obtenidas de bases de datos en línea fueron visualizadas en mapas de las regiones de estudio con el fin de confirmar su fiabilidad. En total se encontraron 91 registros georeferenciados para *M. trinervia* y 45 para *M. colombiana* (estos se encuentran dispersos en el área completa de distribución conocida para ambas especies; Figura 2). Para la obtención de los modelos de distribución se utilizaron únicamente registros separados por distancias mayores a un kilómetro, se utilizaron 67 registros para *M. trinervia* y 29 para *M. colombiana* (Anexo 5).

Las capas tipo *raster* con información de variables climáticas fueron obtenidas de worldclim.org (Hijmans *et al.*, 2005). Se obtuvieron 19 capas correspondientes a 19 variables bioclimáticas con resolución de 30 arcseg (aprox. 1 km² en el Ecuador). A cada capa se le realizó un recorte al área de interés la cual corresponde a la distribución geográfica de todo el género y se guardaron en formato ASCII con proyección geográfica Lat/Long y Datum WGS 84.

Con el fin de evitar la sobreparametrización de los modelos de distribución se realizó un filtro de las variables ambientales a utilizar. Para esto se calculó el coeficiente de correlación de Pearson para todos los pares de variables incluidas por medio del programa *ENMTools* 1.3 (Warren *et al.*, 2010), solo fueron utilizadas las variables que mostraron coeficientes de correlación menores que 0.75.

La elaboración de los modelos fue replicada 10 veces. Para cada réplica se fijó un submuestreo aleatorio del 25% de los registros con el fin de obtener valores de promedio y desviación estándar de las medidas de verificación del modelo AUC (área bajo la curva ROC; Phillips *et al.*, 2006) y TSS (*true skill statistic*; Allouche *et al.*, 2006). El valor AUC representa la capacidad del modelo de distinguir áreas de presencia positiva del entorno geográfico de las localidades conocidas, los valores varían entre 0,5 para modelos que no presentan capacidad discriminante (igual posibilidad que el modelo escoja como positivo un valor realmente positivo o cualquier otro del entorno geográfico), hasta 1 que indica que el modelo es perfecto (el modelo discrimina sin error alguno ocurrencias verdaderas y puntos entorno geográfico). La medida TSS varía entre -1 y 1, donde valores menores que 0 indican que el modelo no predice ocurrencias mejor que una elección a azar y un TSS igual que 1 indica un perfecto ajuste del modelo con respecto a las localidades conocidas y el *background* geográfico.

ANÁLISIS DE CONSERVATISMO/DIVERGENCIA DE NICHO ENTRE ESPECIES DE *Matudaea*

La tendencia de especies relacionadas o clados a mantener una baja diferenciación de sus nichos ecológicos y las condiciones ambientales asociadas (características ecológicas ancestrales) durante escalas de tiempo evolutivo a sido llamada “conservatismo de nicho” o “conservatismo filogenético de nicho” (Harvey & Pagel, 1991; Peterson, 1999; Wiens, 2004; Wiens & Graham, 2005). Ackerly (2003) llama la atención sobre la importancia de conservatismo de nicho y su relación con selección estabilizadora como fuerzas determinantes de la distribución de las especies y su respuesta a cambios en variables ambientales. El conservatismo de nicho explica el proceso de especiación proceso bajo un escenario temporal que da soporte a las propuestas de estasis de la teoría de evolución puntuada.

Los fenómenos de cambio o retención de nicho entre grupos de reciente o profunda divergencia filogenética es un aspecto importante a tener en cuenta en el área de biogeografía. Recientemente el uso conjunto de análisis filogenéticos y modelamientos de nicho han mejorado el entendimiento de las dinámicas de nicho (Pearman *et al.*, 2008). Teóricamente un proceso de divergencia genética o especiación alopátrica se considera que está acompañado de

conservatismo de nicho ya que es la característica fundamental que impide que las poblaciones aisladas entre si no superen la barrera que las separa (Wiens & Graham, 2005).

El análisis de conservatismo vs. divergencia de nicho entre *Matudaea colombiana* y *M. trinervia* resulta interesante debido al patrón de distribución alopatrica entre estas, también por presentar un relativo amplio rango latitudinal en la distribución geográfica del género y por la marcada característica discontinua en la que se encuentran las poblaciones del género que llevan a pensar que presenta una alta especificidad de nicho. Adicionalmente obtener una comparación ecológica del espacio bioclimático de *M. colombiana* y *M. trinervia* puede aportar indicios al entendimiento de los aspectos climáticos involucrados con la presencia de taxones boreotropicales en Los Andes tropicales y con el fin de contribuir a la discusión de la separación a nivel específico de *M. colombiana* con respecto a *M. trinervia*.

Con el fin de comparar cuantitativamente los valores de adecuabilidad ambiental obtenidos para las dos especies con los modelamientos de nicho, se calcularon los índices de solapamiento de nicho D de Schoener e I de Hellinger (Schoener, 1968; van der Vaart, 1998) por medio del programa *ENMTools* 1.3 (Warren *et al.*, 2010), ambos índices varían entre 0 (modelos totalmente discordantes) y 1 (modelos idénticos). La validez estadística de los valores obtenidos para estos índices se evaluó mediante la comparación con distribuciones nulas obtenidas para cada por medio del análisis de identidad de nicho (*niche identity*) implementado en el programa *ENMTools* 1.3 (Warren *et al.*, 2010). Para cada índice se obtuvieron las distribuciones nulas a partir de 100 pseudoréplicas del conjunto de datos generadas por aleatorización la pertenencia de cada una de las localidades observadas entre las especies.

Teniendo en cuenta que las variables climáticas utilizadas para modelar el nicho de las especies son susceptibles a presentar altos valores de auto correlación espacial (Soberón, 2007) y que una alta variación de las variables climáticas entre regiones puede inflar medias de divergencia ecológica (Godsoe, 2010), los valores de los análisis realizados de conservatismo vs. divergencia de nicho se compararon con valores obtenidos con los mismos análisis para el *background* geográfico (áreas disponibles para el establecimiento de las especies). Se ha mostrado que la delimitación del *background* geográfico afecta de forma importante el resultado de estos análisis (McCormack *et al.*, 2010), en la medida que mayor heterogeneidad ambiental se incluya en el *background* de una especie mayor será la diferenciación encontrada entre este y la especie con que se le compare. Teniendo en cuenta esto y la amplia heterogeneidad ambiental que en cortas distancias geográficas presentan las regiones montañosas, se resolvió que la forma más adecuada de delimitar el *background* geográfico de cada una de las especies es delimitando el área dentro del rango altitudinal donde ocurren las poblaciones conocidas para cada una de las especies de *Matudaea*.

Los valores obtenidos de los índices de solapamiento de nicho D e I se compararon con distribuciones nulas generadas a partir de 100 comparaciones entre los modelos de cada una de las especies con respecto modelos obtenidos a partir de puntos aleatorios tomados dentro del

background geográfico de la otra especie y viceversa. Este análisis se implementó con la opción *Background Analysis* en el programa *ENMTools* 1.3 (Warren *et al.*, 2010).

Como análisis complementario se realizó la comparación de la diferencia del espacio ambiental ocupado entre las especies con respecto a la diferencia del espacio ambiental del *background* geográfico de ambas especies (McCormack *et al.*, 2010). La delimitación del espacio ambiental se llevó a cabo por medio de la reducción de los valores crudos de clima para cada una de las localidades conocidas y puntos aleatorios de ambas especies mediante un Análisis de Componentes Principales (PCA, por sus siglas en inglés). En el análisis se incluyeron los valores de las nueve variables bioclimáticas utilizadas para la elaboración de los modelos de nicho para 67 localidades de *M. trinervia*, 29 localidades de *M. colombiana* y 1000 puntos aleatorios dentro del *background* geográfico de cada una de las especies. El PCA se realizó en el programa *Mystat* (versión para estudiantes del paquete estadístico *Systat*; (Stepp & Leitner, 1989) siguiendo las instrucciones detalladas por Joseph Manthey (*University of Kansas*; http://faculty.oxy.edu/mccormack/McCormack/picks/Niche/Niche_method_detailed_protocol.pdf).

ANÁLISIS MOLECULAR

Para cada una de las muestras de tejido foliar obtenidas para los 119 individuos de *M. colombiana* colectados y para dos individuos de *M. trinervia* procesados en este proyecto, uno proveniente de una población localizada en Veracruz, México (19.73°N – 97.27°W), hoy cultivado en el Jardín Botánico Francisco Javier Clavijero de Xalapa y otro proveniente de un ejemplar de herbario colectado en San José de Costa Rica. Se realizaron los protocolos de extracción de DNA genómico modificados a partir de los descritos en Doyle & Doyle (1987) y Jobes *et al.* (1995). Por medio de reacciones en cadena de la polimerasa (procedimiento conocido como PCR, por sus siglas en inglés) se realizó la amplificación de las regiones no codificantes del genoma del cloroplasto (cpDNA) *atpB-rbcL*, *trnS-trnG*, *trnL-trnF*, *psbA-trnH*, *rpl16* intrón y *petA-psbE*. La secuenciación de los productos amplificados se realizó en el servicio de secuenciación y análisis molecular del Instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia (<http://www.ssigmol.unal.edu.co/>). Los detalles de todos los protocolos de laboratorio se encuentran en el Anexo 2.

PROCESAMIENTO DE DATOS

Todos los análisis de este estudio se realizaron con base en la comparación de las secuencias alineadas de los diferentes individuos siguiendo el principio de homología primaria (Kitching, 1998). Para tal fin se reunieron todas las secuencias de una misma región del DNA en una matriz, se guardaron en archivos de texto con formato *FASTA* y posteriormente fueron exportados a otros formatos según fuera necesario.

Para este estudio se usaron como unidades básicas de trabajo los **haplotipos**, definidos como moléculas de DNA con combinaciones únicas de polimorfismos, heredadas como unidades completas y separados de otros haplotipos por al menos una mutación o inserción-delección (*indels*); (Avice, 2000; Schaal & Leverich, 2001). Los haplotipos de cloroplasto para el análisis poblacional fueron definidos con base en los polimorfismos observados en las regiones intergénicas *atpB-rbcL* y *trnS-trnG* que resultaron más informativas en un análisis previo (Anexo 2).

Análisis de diversidad y estructura genética

El alineamiento de las secuencias correspondientes a este análisis se realizó manualmente en el programa *Bioedit* (Hall, 1999). Se realizó el cálculo de los parámetros de diversidad genética (número de sitios segregantes, diversidad haplotípica y diversidad nucleotídica) por medio del programa *DNAsp* v.5 (Librado & Rozas, 2009).

Matudaea colombiana presenta dispersión de semillas a corta distancia y amplia separación geográfica entre las poblaciones. Por otra parte los marcadores moleculares utilizados provienen del genoma cloroplástico que es de naturaleza haploide (presenta un tamaño efectivo poblacional reducido en comparación con el genoma nuclear) y de herencia materna (transmitido solo a través de las semillas). Teniendo en cuenta estos dos fenómenos en el estudio, se espera encontrar alta estructura genética interpoblacional y mayor aun entre grupos de poblaciones separadas por barreras fisiográficas mayores que en este caso son los valles interandinos que separan las tres cordilleras. Con el fin de evaluar esta hipótesis se realizó un análisis de varianza molecular (*AMOVA*, por sus siglas en inglés) para el cual se realizó un diseño jerárquico en el cual se asignó cada individuo dentro de una población (considerando cada población como cada una de las localidades de colecta, Anexo 1), luego cada población dentro de la región que ocupa (cordillera Occidental, Central y Oriental) y luego las regiones (cordilleras) dentro de la muestra total (Figura 6, Anexo 1). La asignación de cada secuencia (individuo) a su población de origen y los grupos de poblaciones a cada cordillera se realizó por medio del programa *DNAsp* v.5 (Librado & Rozas, 2009) y el *AMOVA* se llevó a cabo en *Arlequin* v.3.5 (Excoffier & Lischer, 2010).

Análisis de las relaciones entre haplotipos

El estudio de las relaciones a nivel intraespecífico de *M. colombiana* se realizó mediante el cálculo de una red de haplotipos por medio del algoritmo de parsimonia estadística (Templeton *et al.*, 1992) el cual estima el máximo número de diferencias entre haplotipos como resultado de sustituciones simples y luego construye la red agregando inicialmente los haplotipos separados por un cambio, luego por dos y así sucesivamente hasta conectar todos los haplotipos en una o varias redes con base en un límite máximo de diferencias establecido inicialmente. Este algoritmo está implementado en el programa TCS 1.21 (Clement *et al.*, 2000). Para este análisis se incluyeron

todas las secuencias de los marcadores *atpB-rbcL* y *trnS-trnG* obtenidas en este estudio para *M. colombiana*, así como las de dos especímenes de *M. trinervia* procedentes de México y Costa Rica.

Análisis filogenético y estimación de tiempos de divergencia

El estudio de las relaciones a nivel interespecífico de *Matudaea* se llevó a cabo con el objetivo de evaluar el estado de agrupación de los haplotipos identificados de *M. colombiana* y su relación con respecto a las muestras de *M. trinervia* y géneros del clado Loropetaloidae. Adicionalmente se realizó el análisis con el fin de obtener una estimación de la edad de divergencia de *M. colombiana* frente a *M. trinervia* y analizar esta estimación con respecto a los escenarios biogeográficos históricos relacionados con la distribución geográfica del género teniendo en cuenta las poblaciones actuales y la evidencia fósil.

Teniendo en cuenta los marcadores moleculares secuenciados en este estudio y los disponibles en la base de datos de secuencias de DNA *Genbank*, se ensambló una matriz para hacer análisis filogenéticos que incluyó la mayor cantidad de información posible (secuencias y puntos de calibración fósil) sin dejar datos faltantes para ningún taxón o marcador. La matriz se realizó con los marcadores *trnL-trnF* (KJ002048-KJ002050, KJ026535-KJ026538), *atpB-rbcL* (JX161786.1, JX161746.1, JX161804.1, JX161754.1, JX161736.1, KJ002046, KJ002047), *trnS-trnG* (JX161708.1, JX161657.1, JX161732.1, JX161668.1, JX161650.1, KJ002044, KJ002045) y *psbA-trnH* (KJ002051-KJ002053, KJ026531-KJ026534) que permitieron incluir además de la información obtenida en este trabajo para el género *Matudaea*, otros dos géneros del clado Loropetaloidae, un género de Hamamelidoideae externo a este clado, otros dos géneros de Hamamelidaceae y cinco especies de dos géneros de Altingiaceae (Anexo 3). Con ese muestreo se logró obtener una representación suficiente de taxones para utilizar cinco puntos de calibración con la evidencia fósil disponibles distribuidos desde el nodo más relacionado al grupo de estudio hasta nodos correspondientes a clados del grupo externo, esto permite obtener estimaciones de edades de divergencia con mayor grado de confianza (Sauquet *et al.*, 2012).

Para todas las secuencias obtenidas de *Genbank* en lo posible se ubicó información del ejemplar testigo u otra identificación de la muestra con el fin de concatenar secuencias de los mismos individuos para los diferentes marcadores (Tabla 1, Anexo 3).

Se realizó el alineamiento para cada matriz correspondiente a un marcador por separado mediante la plataforma en línea del programa MAFFT 7 <http://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>, se usó la estrategia de alineamiento **G-INS-i** que asume la existencia de una homología global entre todas las secuencias y a lo largo de estas y penalidad para la apertura de *indels* de 1,53 (Kato & Standley, 2013).

Teniendo en cuenta que todos los marcadores moleculares utilizados corresponden a una sola unidad de herencia se concatenaron las cuatro matrices en una sola.

Tabla 1. Marcadores y características de la matriz utilizadas para los análisis filogenéticos.

| | Características |
|--------------------------------|--|
| Marcadores utilizados | <i>trnL-trnF + atpB-rbcL + trnS-trnG + psbA-trnH</i> |
| Número de muestras | 17 |
| Número de caracteres | 2497 |
| Variables | 393 |
| Constantes | 2104 |
| Parsimonia informativos | 244 |
| Modelo estimado | |
| AIC | TVM+G |
| BIC | TPM1uf+G |
| Likelihood Ratio Test | 389.88 |
| p-valor | 9.2 E-74 |

Por medio del programa *jModeltest* 2.1.2 se estimó el modelo de sustitución nucleotídica que más se ajusta a los datos (Darriba *et al.*, 2012). Con el fin de evaluar el ajuste de los datos a un modelo de reloj molecular estricto o relajado se aplicó un *Likelihood Ratio Test* (LRT; Felsenstein, 1981) a los datos bajo los dos supuestos con el programa PAUP 4.0beta (Swofford, 2003) (Tabla 1).

Teniendo en cuenta que para el análisis filogenético se incluyeron terminales desde estrechamente relacionados (intraespecíficos) hasta divergentes a nivel de familias diferentes, podría existir diferentes niveles de autocorrelación entre las tasas de sustitución entre ramas en diferentes partes de la filogenia, por esta razón se realizó una exploración amplia con diferentes modelos disponibles para estimar las edades de divergencia. Como modelos no correlacionados se utilizaron en análisis de inferencia bayesiana los modelos de reloj molecular relajado exponencial y log-normal (Drummond *et al.*, 2006). Como modelos correlacionados se utilizó el método *Penalized Likelihood* (Sanderson, 2002) que dependiendo del parámetro de *smoothing* impuesto infiere diferentes niveles de correlación en las tasas de sustitución entre ramas cercanas.

El análisis de inferencia bayesiana se realizó en la plataforma *BEAST* v1.7 (Drummond *et al.*, 2012). Se utilizó el *prior* de especiación de *Yule* y con base en los resultados obtenidos con *jModelTest* se utilizó el modelo de sustitución molecular *GTR+G*. Se realizaron análisis independientes utilizando los modelos de reloj molecular relajado exponencial no correlacionado y reloj molecular relajado lognormal no correlacionado. Para todos los análisis se estableció un *prior* uniforme para la tasa de sustitución global de entre 1E-8 y 1E-14 sustituciones/sitio/año el cual impone un límite amplio teniendo en cuenta las tasas de sustitución reportadas para marcadores cloroplásticos en varios grupos de árboles (*cf.* Richardson *et al.*, 2001; Petit & Hampe, 2006). Se constriñeron como monofiléticos los taxones correspondientes a Hamamelidaceae, Hamamelidoideae, Loropetapoide y las tres especies correspondientes al clado asiático de Altingiaceae. Los puntos de calibración fósil se establecieron como la edad mínima del nodo respectivo mediante *prior* con distribución normal para el nodo de la raíz y lognormal para los demás nodos calibrados (Tabla 2). Se realizaron

dos esquemas de calibración incluyendo y excluyendo la calibración correspondiente al fósil de *Matudaea menzelii*. Cada conjunto de datos se corrió cuatro veces, cada vez con 100.000.000 de generaciones (total 4E8 generaciones) con muestreos cada 10000. Todos los análisis se realizaron en el aplicativo en línea *Bioportal* (Kumar *et al.* 2009).

Mediante el programa *Tracer* v1.5 se verificó que la convergencia de las *MCMC* fuera alcanzada antes del 10% inicial del muestreo posterior de parámetros (valor que fue utilizado como *burn-in*) y que los tamaños de muestra efectivo (*ESS*) mayores a 200 fueran alcanzados. Los resultados de las cuatro corridas de cada análisis se unieron por medio de *LogCombiner* v1.6.2.

En la aproximación basada en máxima verosimilitud, con base en el resultado obtenido en *jModelTest* se utilizó el modelo de sustitución GTR, cuatro categorías de tasas de sustitución y distribución Gamma = 0.6810. El soporte de las ramas se midió por medio de los valores del *Shimodaira-Hasegawa approximate likelihood ratio test* (SH-like; Anisimova & Gascuel, 2006) y *Bootstrap* con 1000 réplicas (Felsenstein, 1985). El filograma (árbol filogenético con longitudes de ramas) se realizó en el programa PhyML 3.0 (Guindon & Gascuel, 2003; Guindon *et al.*, 2010). La estimación de las tasas de sustitución y tiempos de divergencia por medio del método *Penalized Likelihood* (Sanderson, 2002) implementado en el programa *r8s* 1.71 (Sanderson, 2003). Se empleó el algoritmo de *Powell*, el valor óptimo para el parámetro *smoothing* se obtuvo por medio de análisis *cross-validation* probando valores entre 1 – 7.9E4. La edad de cada fósil fue aplicada como edad mínima para el respectivo clado (Tabla 2) y para la raíz adicionalmente se aplicó constreñimiento de edad máxima de 115 Ma.

Tabla 2. Nodos y edades de calibración derivadas de evidencia fósil utilizadas para la estimación de tiempos de divergencia. *Prior con distribución normal. **Prior con distribución lognormal.

| Punto de calibración (<i>Crown clade</i>) | Valores <i>prior</i> (SD) BEAST | Edad (rango) Ma | Referencias |
|--|------------------------------------|-----------------|---|
| Raíz | 89 (1,0)* | 89 (88-110) | (Zhou <i>et al.</i> , 2001) |
| Altingiaceae - clado este de Asia | 2,75 (0,5)** | 15,6 (7-36) | (Pigg <i>et al.</i> , 2004) |
| Subfamilia Hamamelidoideae | 4.46 (0,3)** | 86,5 (53-142) | (Takahashi <i>et al.</i> , 1999) |
| Clado Loropetaloides | 4.42 (0,3)** | 83 (51-136) | (Magallon-Puebla <i>et al.</i> , 1996; Magallon <i>et al.</i> , 2001) |
| Género <i>Matudaea</i> | 3.34 (0,4)** | 28 (15-55) | (Kunzmann & Walther, 2012) |

Esquema de calibración

Cada uno de los fósiles utilizados para calibrar el análisis de datación molecular fue analizado por medio de la búsqueda de toda la información relacionada con la descripción del fósil; metodología para datar el fósil y posicionarlo en la filogenia (ver recomendaciones de Sauquet *et al.*, 2012) (Anexo 4).

La raíz de la filogenia se calibró con edad de 89 Ma con base en el fósil de *Microaltingia apocarpela* (Zhou *et al.*, 2001), para el análisis de inferencia bayesiana se utilizó un prior con

distribución normal con valor promedio de 89 ± 1 . Esta distribución tiene correspondencia con la edad mínima de la formación donde se encontró el fósil (88,5 Ma) y su extremo superior es menor a 115 Ma que corresponde a la edad máxima obtenida para el orden Saxifragales (Magallon & Castillo, 2009; Bell *et al.*, 2010). Se considera que este fósil representa la edad mínima de aparición de los grupos incluidos en el análisis por las siguientes razones: (1) Análisis filogenéticos que incluyen evidencia morfológica muestran que este fósil se relaciona como grupo hermano de Altingiaceae (Zhou *et al.*, 2001; Ickert-Bond *et al.*, 2007); (2) Análisis filogenéticos recientes muestran que Altingiaceae es el grupo de más temprana divergencia dentro del “clado leñoso” del orden Saxifragales donde se encuentra también Hamamelidaceae y otras 2 familias (Soltis *et al.*, 2013); y (3) *M. apocarpela* presenta algunas características morfológicas afines a Hamamelidaceae (Friis *et al.*, 2011).

El clado correspondiente a las especies *Liquidambar formosana*, *A. obovata* y *L. acalycina* (clado este de Asia; Ickert-Bond & Wen, 2006) fue calibrado en 15,6 Ma con base en el fósil *L. changii* (Pigg *et al.*, 2004). El clado correspondiente a la subfamilia Hamamelidoideae se calibró con edad de 86,5 Ma basado en los fósiles de semilla y flores más antiguos que se conocen con filiación a este grupo (Coniciano, Cretácico tardío; Takahashi *et al.*, 1999). El clado Loropetaloidae se calibró con edad de 83 Ma. con base en los fósiles de *Androdecidua endressii* y *Allonia decandra* (Santoniano, Cretácico tardío; Magallon-Puebla *et al.*, 1996; Magallon *et al.*, 2001). El grupo de terminales de *Matudaea* se calibró en 28 Ma. con base en el fósil *Matudaea menzelii* (Oligoceno medio; Mai & Walther, 1978; Lundell, 1979; Kunzmann & Walther, 2012) (Tabla 2).

RESULTADOS

OBSERVACIONES DE CAMPO

Las poblaciones visitadas de *Matudaea colombiana* se encontraron en un rango altitudinal entre 1.500 y 2.100 metros. En todos los casos se encontraban en áreas de pendiente muy pronunciada, mayor a 45° y anexas a cursos de agua. En general se encontró como elemento dominante en los bosques que ocupa, en los cuales presenta individuos de hasta 30 m de altura y 1 m de DAP. Corresponden a áreas de vegetación fragmentada y en regeneración, acompañada de especies como *Quercus humboldtii* (Fagaceae), *Alfaroa colombiana* (Juglandaceae), *Phyllonoma ruscifolia* (Phyllonomaceae), *Toxicodendron striatum* (Anacardiaceae), *Billia rosea* (Sapindaceae), *Monotropa uniflora* (Ericaceae) y *Magnolia* spp. (Magnoliaceae) entre otras. En los únicos casos donde se encontró en hábitats conservados fue en bosques de *Colombobalanus excelsa* del sur del Huila, donde *M. colombiana* presenta individuos de menos de 8 m de altura y tallos de ca. 10 cm de DAP, en este caso *M. colombiana* hace parte de los estratos bajos del bosque y no es dominante. Algunas características del hábitat observadas en cada población se resumieron en la Tabla 3.

Algunos individuos encontrados de *M. colombiana* muestran algunas características morfológicas que no han sido reportadas para el género como la presencia de estípulas de forma auriculada de margen entero o fimbriado en algunas ramillas (Figura 3E y F), hojas con margen dentado o bidentado en ramas más expuestas a la luz (Figura 3H) y un posible desarrollo de dos semillas (Figura 3N).

Resulta importante resaltar que en todas las poblaciones muestreadas se encontró que *M. colombiana* presenta el desarrollo de numerosos rebrotes cercanos a la base del tronco lo que muestra que los individuos puede regenerarse luego de caer o ser cortado el tronco principal (Figura 3A y B), esta producción de rebrotes se observó además sobre algunos tallos rastreros o raíces superficiales (Figura 3C) lo que lleva a pensar que estos árboles presentan propagación clonal. En varias poblaciones esta característica dificultó la distinción entre individuos.

Entre los nombres locales que se encontraron para *M. colombiana* se encuentran: **Encenillo** (E. Linares, com. Pers.; Guaduas, Cundinamarca); **Guayabo Negro** (W. Vargas, com. Pers.; Filandia, Quindío); **Angelino** o **Angelito** (Onzaga, Santander) y **Hueso de Gallina** (Suaita, Santander). En varias localidades los conocedores locales reconocieron la utilidad de esta especie como maderable especialmente para construcción, la cual calificaban como de alta calidad y durabilidad principalmente si se preserva en condiciones secas.

Tabla 3. Características ecológicas generales de las poblaciones de *Matudaea colombiana* muestreadas.

| No. Población (Anexo 1) | No. de individuos encontrados | Estado de conservación del bosque | Características del hábitat y conectividad ecológica | Accesibilidad |
|-------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|--|--|
| MC_01 | 13 | Intervenido | Parche de bosque de área inferior a 1 ha. Rodeado de potreros pero cercano a bosque primario. | Aislado. Sin carreteras. Área de amortiguamiento de la reserva regional Farallones del Citará. |
| MC_02 | 6 | Intervenido | Bosque primario continuo. | Muy aislado. Sin carreteras. Área de amortiguamiento de la reserva regional Farallones del Citará. |
| MC_03 | 5 | Muy intervenido | Parche de bosque de área inferior a 0.5 ha. Rodeado de potreros y aislado de bosques primarios. | Parcialmente aislado. Acceso a pie por la quebrada Doña María o por fincas. |
| MC_04 | 15 | Conservado | Bosque primario continuo. | Área protegida (regional). Fácil accesibilidad por carretera principal. |
| MC_05 | 5 | Intervenido | Parche de bosque restringido a vega de quebrada con pendiente >70°. Rodeado de potreros. | Parcialmente aislado. Acceso a pie por fincas. |
| MC_06 | 4 | Intervenido | Parche de bosque restringido a vega de quebrada. Rodeado de potreros. | Parcialmente aislado. Acceso a pie por fincas. |
| MC_07 | 9 | Intervenido | Parche de bosque de área inferior a 0.5 ha. Rodeado de potreros y aislado de bosques primarios. | Fácil accesibilidad por carretera principal. |
| MC_08 | 10 | Muy intervenido | No hay bosque, son árboles en medio de vegetación en regeneración de altura menor a 2m. | Parcialmente aislado. Acceso a pie por fincas y caminos. |
| MC_09 | 4 | Intervenido | Parche de bosque de área inferior a 0.5 ha. Rodeado de potreros, con cercanía de bosques intervenidos. | Accesible por carretera interveredal. |
| MC_10 | 11 | Poco intervenido | Bosque ripario continuo rodeado de potreros. | Parcialmente aislado. Acceso por fincas y caminos. |
| MC_11 | 6 | Intervenido | Parche de bosque de área >1 ha. Rodeado de potreros. | Fácil accesibilidad por carretera interveredal. |
| MC_12 | 7 | Muy intervenido | Parche de bosque de área inferior a 0.5 ha. Rodeado de potreros y con cercanía de bosques primarios. | Fácil accesibilidad por carretera interveredal. |
| MC_13 | 10 | Intervenido | Parche de bosque de área inferior a 0.5 ha. Restringido a la cumbre de una loma, rodeado de vegetación en regeneración, cultivos y potreros. | Parcialmente aislado. Acceso por fincas y caminos. |
| MC_14 | 10 | Conservado | Bosque primario dominado por <i>Colombobalanus excelsa</i> . Restringido a algunas cumbres. | Área protegida (municipal). Fácil accesibilidad por carretera interveredal. |
| MC_15 | 4 | Conservado | Bosque primario dominado por <i>Colombobalanus excelsa</i> . Restringido a algunas cumbres. | Área protegida (municipal). Fácil accesibilidad por carretera interveredal. |

MODELOS DE DISTRIBUCIÓN DE LAS ESPECIES DE *Matudaea*

La distribución alopátrica de las especies de *Matudaea* se refleja de forma clara en los modelos obtenidos. En ningún sentido de comparación las localidades de una de las especies permitió predecir la distribución de la otra especie, por lo cual se encontró muy baja proporción de áreas sobrelapadas entre los modelos (todas fueron dentro de Suramérica; Figura 4 y 5). Esta segregación es más notable en el modelo de *M. colombiana* el cual predijo muy pocas áreas por fuera del rango geográfico conocido para esta especie y todas estas dentro de Suramérica (Figura 4). Por su parte el modelo de *M. trinervia*, aparte de predecir áreas dentro del rango geográfico conocido para esta especie, predijo grandes áreas dentro de Los Andes colombianos entre las que se encuentran la Sierra Nevada de Santa Marta, Serranía del Perijá y Piedemonte Llanero, ninguna de estas correspondiente a áreas conocidas para *M. colombiana* ni predichas por su respectivo modelo (Figura 4 y 5).

Las variables climáticas que más influyeron en la distribución predicha para cada especie son diferentes, para *M. colombiana* son Bio 4 y Bio 9, mientras que para *M. trinervia* son Bio 6 y Bio 13 (Tabla 4).

Tabla 4. Contribución porcentual de las variables utilizadas para realizar los modelos bioclimáticos de distribución de las especies de *Matudaea*. En negrilla se resaltan los valores de las variables que más contribuyeron a los respectivos modelos.

| Variable | Contribución (%) | |
|--|----------------------|---------------------|
| | <i>M. colombiana</i> | <i>M. trinervia</i> |
| BIO 4 = Estacionalidad de temperatura | 33,3 | 11,8 |
| BIO 9 = Temperatura media del trimestre más seco | 28,8 | 7,7 |
| BIO 19 = Precipitación del trimestre más frío | 21,3 | 7,6 |
| BIO 6 = Temperatura mínima del mes más frío | 7,4 | 36,9 |
| BIO 5 = Temperatura máxima del mes más cálido | 6,1 | 8,3 |
| BIO 15 = Estacionalidad de precipitación | 2,7 | 0,1 |
| BIO 13 = Precipitación del mes más húmedo | 0,3 | 23,3 |
| BIO 18 = Precipitación del trimestre más cálido | 0,1 | 0,8 |
| BIO 2 = Rango diurno de temperatura (promedio mensual) | 0,1 | 3,5 |

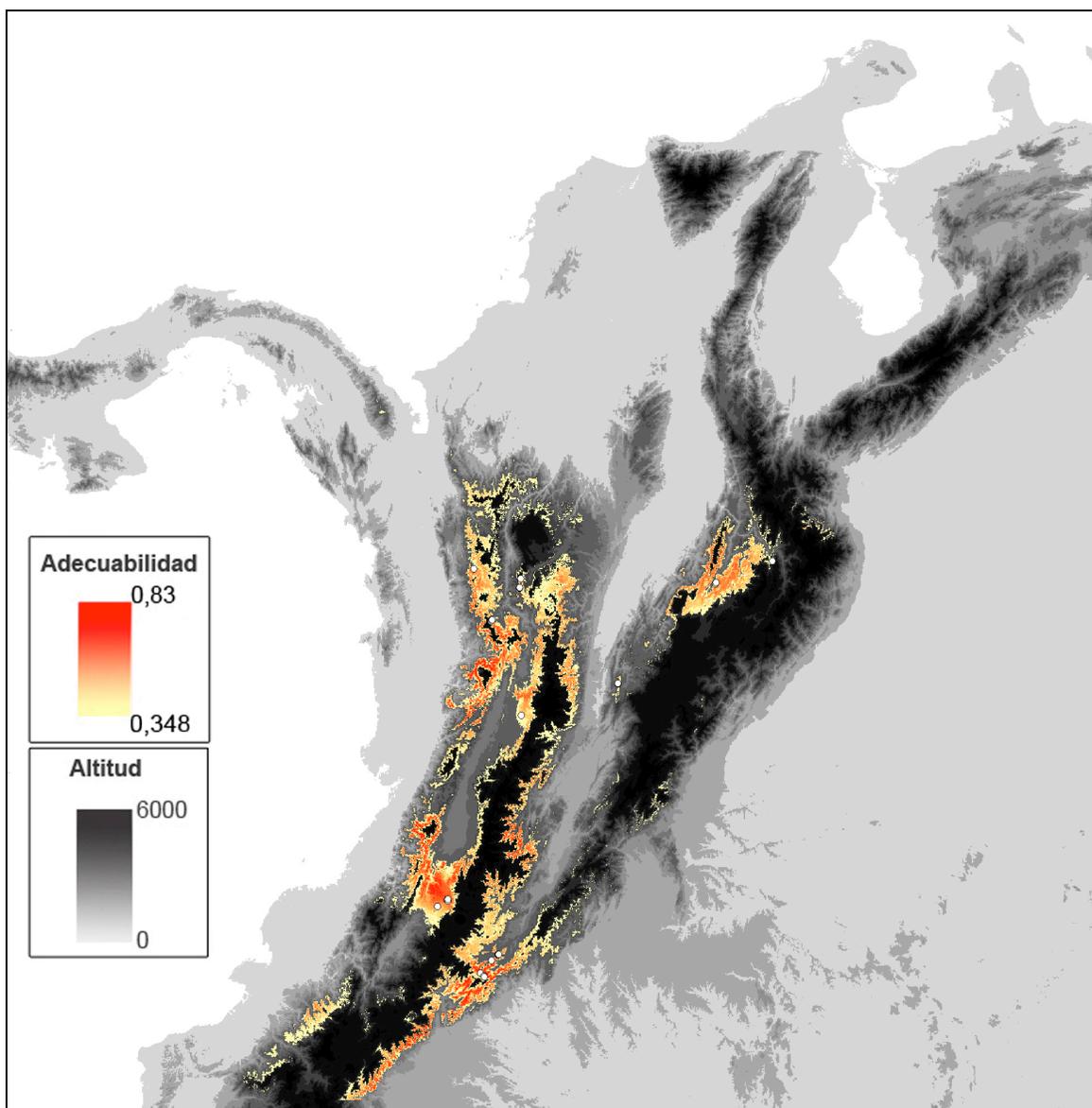


Figura 4. Mapa de distribución potencial de *Matudaea colombiana* de acuerdo con el promedio de 10 modelos bioclimáticos obtenidos por medio de Maxent. Se aplicó el umbral (el menor obtenido de entre los 10 modelos) que envuelve al 90% de los registros de presencia utilizados para realizar el modelo (*10 percentile training presence threshold*). **AUC** = 0.989 ± 0.005 ; **TSS** = 0.771 ± 0.212 . Los puntos blancos representan las localidades utilizadas para elaborar el modelo. Ningún área fuera del mapa tiene valores de adecuabilidad para la especie dentro del rango presentado.

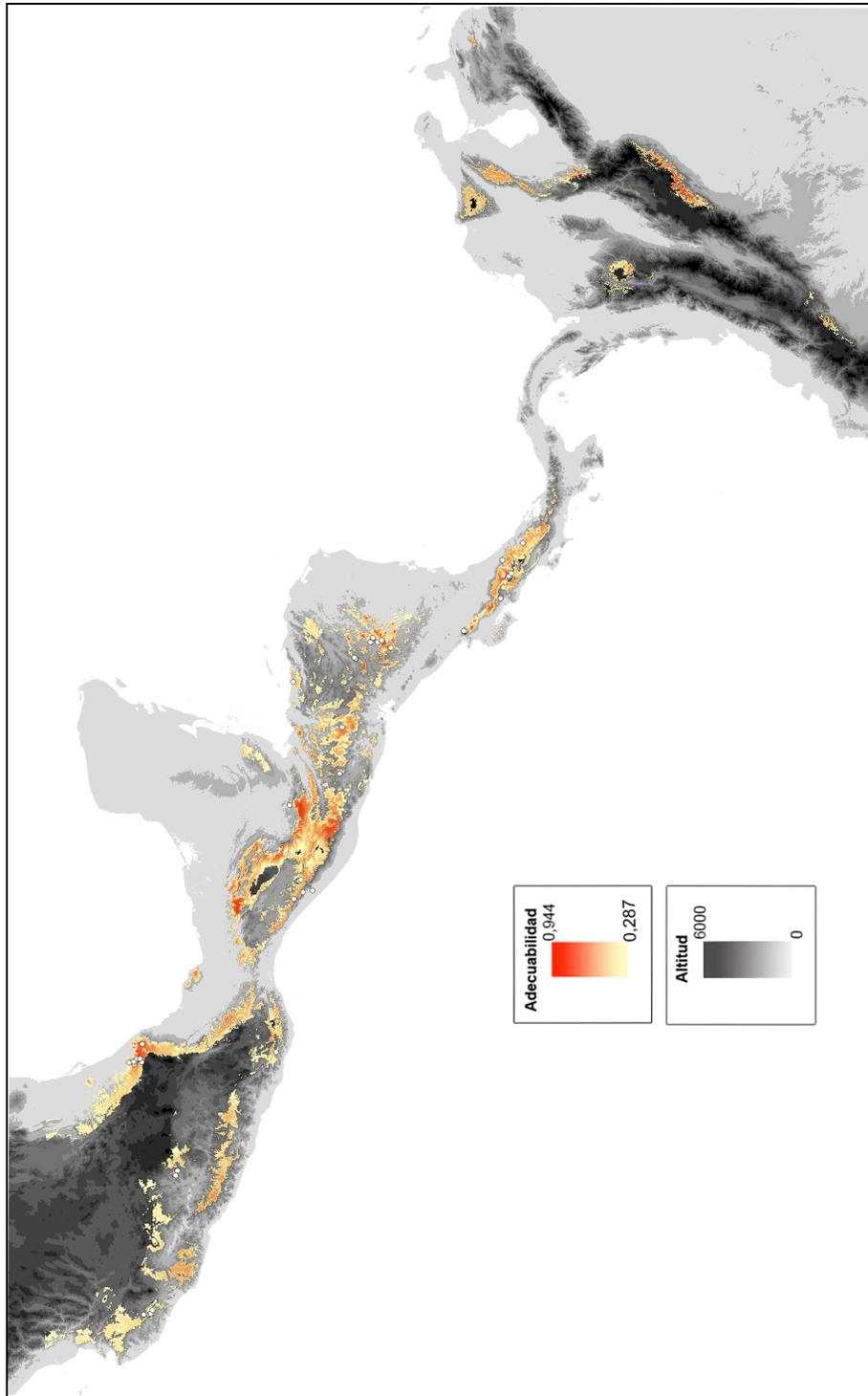


Figura 5. Mapa de distribución potencial de *Matudaea trinervia* de acuerdo con el modelo bioclimático obtenido por medio de Maxent. Se aplicó el umbral (el menor obtenido de entre los 10 modelos) que envuelve al 90% de los registros de presencia utilizados para realizar el modelo (*10 percentile training presence threshold*). **AUC** = 0.911 ± 0.036 ; **TSS** = 0.659 ± 0.105 . Los puntos blancos representan las localidades utilizadas para elaborar el modelo. Ningún área fuera del mapa tiene valores de adecuabilidad para la especie dentro del rango presentado.

El modelo de *M. colombiana* permite identificar cinco áreas importantes que presentaron altos valores de adecuabilidad para esta especie, dos de estas áreas incluyen localidades visitadas en este trabajo (Betania-Antioquia y sur del Huila); de las tres áreas restantes, una se encuentra en el costado centro-occidente del departamento del Tolima (próxima al PNN Las Hermosas), la otra al sur del Tolima y el norte del Huila (próxima al PNN Nevado del Huila) y la última al este de Cali (próxima al PNN Farallones de Cali). Existen reportes de robledales de *Quercus humboldtii* para estas tres últimas áreas, además se han destacado estas regiones de los departamentos de Huila y Tolima porque presentan alta adecuabilidad para *Q. humboldtii* y el área próxima al PNN Farallones de Cali, está solapada con un área de importancia media para la conservación de *Q. Humboldtii* (Rodríguez-Correa, 2008). Esta última región también se encuentra *Colombobalanus excelsa*, la cual también se ha observado que comparte hábitat con *M. colombiana*.

Resulta importante anotar que próxima al área de alta adecuabilidad correspondiente con las localidades del sur del departamento del Huila (PNN Cueva de Los Guácharos), podría distinguirse otra área de importancia en la región de frontera compartida entre el Huila, Cauca y Caquetá (Figura 4), que hace parte de los PNN Fragua Indi Wasi y Serranía de los Churumbelos, en esta área no ha sido reportada *M. colombiana*.

También resulta importante resaltar otras áreas que el modelo muestra con valores menores de adecuabilidad pero que por su localización geográfica resultan muy interesantes por estar por fuera de los límites de distribución geográfica conocida para *M. colombiana*. Una se encuentra en las proximidades del cerro Tacarcuna de la Serranía del Darién, en la frontera entre Colombia y Panamá, que además resulta de interés por encontrarse geográficamente intermedia entre las distribuciones de las dos especies de *Matudaea*. Otra área de interés está localizada al este y sureste del valle de Sibundoy sobre el piedemonte amazónico del Putumayo. Desde esta localidad hacia el sur en los departamentos de Putumayo y Nariño y el norte del Ecuador se encuentran delimitadas áreas adecuadas para *M. colombiana* tanto en el flanco amazónico como el pacífico de la cordillera de Los Andes.

ANÁLISIS DE CONSERVATISMO/DIVERGENCIA DE NICHOS ENTRE ESPECIES DE *Matudaea*

Los valores *D* de Schoener e *I* de Hellinger de solapamiento de nicho mostraron que existe diferencia significativa entre los modelos obtenidos para *Matudaea colombiana* y *M. trinervia* (Tabla 5). Sin embargo el análisis de background mostró que no existe señal significativa de divergencia o conservatismo de nicho entre cada una de las especies con respecto al *background* geográfico de la otra especie (Tabla 5). Estos resultados pueden relacionarse con una diferenciación climática marcada entre las áreas de estudio y a su vez con una alta correlación geográfica de las variables (Tabla 6).

Tabla 5. Medidas de sobrelapamiento de nicho obtenidas e intervalos de confianza calculados a partir de la generación de distribuciones nulas por medio del análisis de identidad de nicho y de *background* por medio del programa *ENMTools*. Valores menores que el intervalo de confianza constituyen evidencia estadísticamente significativa de divergencia de nicho (D) y valores superiores al intervalo son evidencia para conservatismo (C) de nicho con valor $p < 0,05$.

| | Análisis de identidad de nicho | | Análisis de <i>Background</i> | | | |
|----------------|--|-------------------|---|-------------------|---|-------------------|
| | <i>M. trinervia</i> vs. <i>M. colombiana</i> | | <i>M. colombiana</i> vs. <i>M. trinervia</i> background | | <i>M. trinervia</i> vs. <i>M. colombiana</i> background | |
| | Valores observados | Distribución nula | Valores observados | Distribución nula | Valores observados | Distribución nula |
| I de Hellinger | 0.20*D | 0.9 - 0.98 | 0.20 | 0.14 - 0.22 | 0.20 | 0.17 - 0.33 |
| D de Schoener | 0.07*D | 0.67 - 0.84 | 0.07 | 0.03 - 0.07 | 0.07 | 0.06 - 0.14 |

Tabla 6. Resultados del análisis de conservatismo vs. divergencia de nicho dentro del espacio bioclimático de las especies y su respectivo *background* geográfico realizado por medio de la reducción de variables climáticas crudas en un análisis de componentes principales (PCA). Diferencias de nicho observadas menor que la distribución nula constituyen evidencia de conservatismo de nicho (C) y diferencias mayores que la distribución nula constituyen evidencia de divergencia de nicho (D). *Diferencias de nicho estadísticamente significativas (prueba T; valor $p < 0,003$). ** Ver Tabla 4 para descripción de las variables.

| | COMPONENTES PRINCIPALES | | |
|--|---|------------------------------|--------------------------------|
| | PC1 | PC2 | PC3 |
| Cantidad de variación explicada (%) | 42.55 | 32.78 | 12.53 |
| Diferencias de nicho observadas | 1.18* (C) | 0.17 (C) | 0.56* (D) |
| Distribución nula (background) | (1,70 - 1,79) | (0,22 - 0,40) | (0,20 - 0,37) |
| PATRÓN INFERIDO | Conservatismo | Conservatismo | Divergencia |
| Cargas de las variables mas informativas** | BIO 15 (0,91) BIO 4 (0,84) | BIO 6 (0,91) BIO 9 (0,83) | BIO 18 (0,62) BIO 13 (0,53) |
| Interpretación | Estacionalidad de temperatura y precipitación | Extremos de temperatura | Extremos de precipitación |
| Correlación geográfica (longitud) | -0.87 | 0.27 | -0.43 |
| Correlación geográfica (latitud) | 0.83 | -0.17 | 0.49 |

Los tres primeros componentes principales del análisis de conservatismo/divergencia de nicho realizada sobre ejes independientes acumularon más del 85 % de la variación existente en los datos climáticos crudos (Tabla 6).

Este análisis mostró una señal significativa de conservatismo de nicho y fuerte correlación geográfica para el primer componente el cual resume principalmente la información contenida en las variables estacionalidad de temperatura y estacionalidad de precipitación. Los otros dos componentes principales mostraron señales de conservatismo de nicho relacionado con variables de extremos de temperatura y divergencia de nicho relacionado con variables de extremos de precipitación (Tabla 6).

DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE *Matudaea colombiana*

En general se encontró una diversidad genética muy baja (Tabla 7). Solo se encontraron cinco posiciones polimórficas para las 1331 pares de bases secuenciadas para los marcadores *atpB-rbcL* y *trnS-trnG*. Adicionalmente a esta baja diversidad se suma la ausencia total de polimorfismos en el muestreo preliminar realizado para otras cuatro regiones del cloroplasto (Anexo 2). Con base en los polimorfismos encontrados en el total de la muestra para las regiones *atpB-rbcL* y *trnS-trnG* se delimitaron cinco haplotipos que se denotaron con números del 1 al 5 (Tabla 8, Figura 6). El haplotipo 1 presentó mayor frecuencia (57 de las 93 muestras analizadas) y amplia distribución ya que, se encontró en ocho de las 15 poblaciones estudiadas (siete localizadas dentro de la cordillera Oriental). El haplotipo 2 se encontró restringido a cuatro poblaciones y 13 individuos del centro y sur de la Cordillera Central (Quindío y Cauca). Los otros tres haplotipos resultaron restringidos a una localidad específica: el haplotipo 5 se encontró en los 17 individuos pertenecientes a las dos poblaciones de Betania (MC01 y MC02); el haplotipo 3 se observó en los 4 individuos de la población de Medellín (MC03); y el haplotipo 4 que resultó el menos frecuente de todos está presente en solo dos individuos de los seis encontrados en una de las poblaciones de Guaduas, Cundinamarca (MC12) (Tabla 8, Figura 6, Anexo 1).

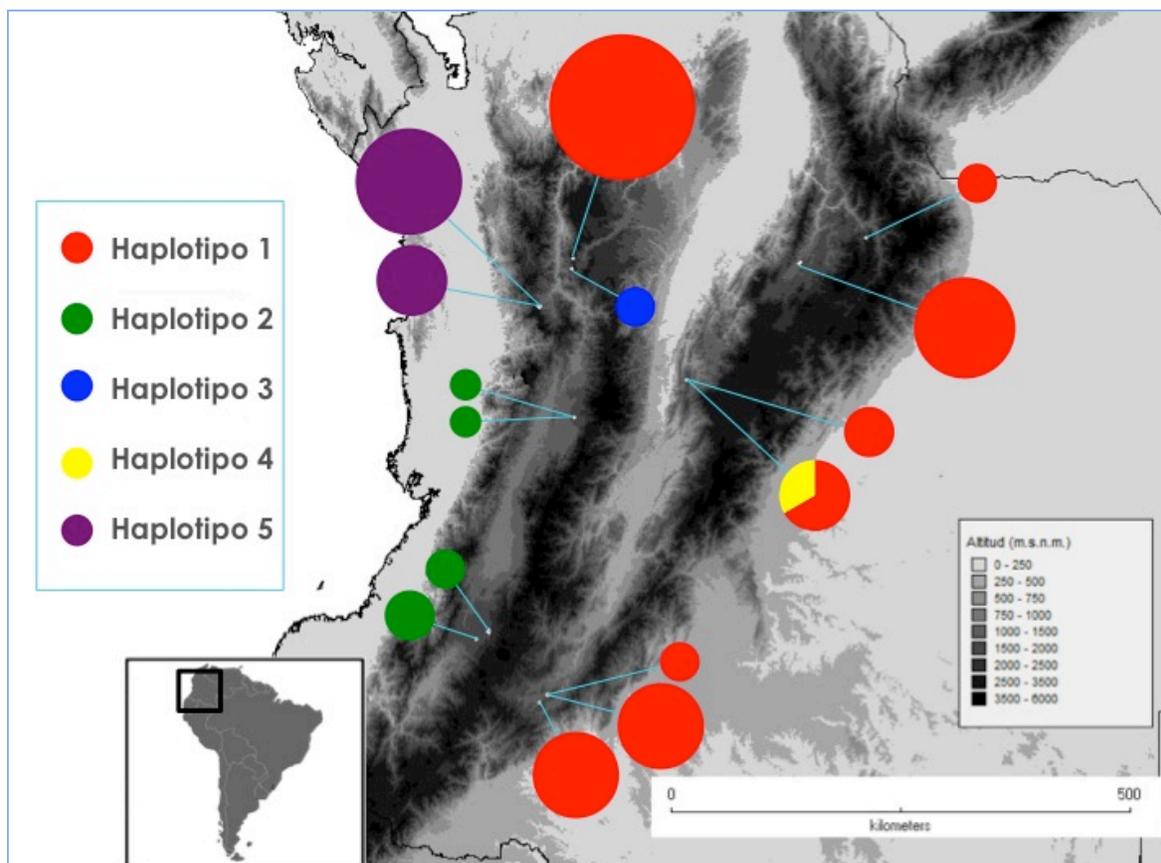


Figura 6. Composición haplotípica de cada localidad muestreada de *M. colombiana*. El tamaño relativo del círculo hace referencia al número de individuos muestreados y el color al haplotipo identificado.

Tabla 7. Parámetros de diversidad genética para marcador y en conjunto obtenidos por medio de *DNA*_{sp} para las poblaciones muestreadas de *Matutaea colombiana* en todo su rango de distribución.

| Parámetro de diversidad genética | <i>trnS-trnG</i> | <i>atpB-rbcL</i> | Matriz completa |
|--|------------------|------------------|-----------------|
| No. de muestras | 86 | 72 | 93 |
| Longitud (pb) | 703 | 628 | 1331 |
| Contenido de G + C | 0.324 | 0.315 | 0.321 |
| No. de posiciones variables (sitios segregantes) | 3 | 2 | 5 |
| No. de haplotipos | 3 | 3 | 5 |
| Diversidad haplotípica (H_d) | 0.413 | 0.180 | 0.544 |
| Diversidad nucleotídica (π) | 1,07E-3 | 5E-4 | 8.7E-4 |

Tabla 8. Haplotipos identificados, posiciones polimórficas de cada marcador, distribución geográfica y frecuencia de cada haplotipo identificado entre las poblaciones muestreadas de *Matudaea colombiana*.

| No. Haplotipo | trnS-trnG | | | atpB-rbcL | | Frecuencia en cada población (Anexo 1) | | | | | | | | | | | | | | | Frecuencia total | |
|---------------|-----------|-----|-----|-----------|-----|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------------------|----|
| | 51 | 524 | 674 | 162 | 235 | MC 01 | MC 02 | MC 03 | MC 04 | MC 05 | MC 06 | MC 07 | MC 08 | MC 09 | MC 10 | MC 11 | MC 12 | MC 13 | MC 14 | MC 15 | | |
| 1 | A | A | A | A | A | | | | 15 | | | | | | 4 | 8 | 5 | 3 | 9 | 9 | 4 | 57 |
| 2 | . | . | C | . | . | | | | | 2 | 2 | 5 | 4 | | | | | | | | | 13 |
| 3 | . | . | . | C | . | | | 4 | | | | | | | | | | | | | | 4 |
| 4 | . | . | . | . | T | | | | | | | | | | | | 2 | | | | | 2 |
| 5 | C | C | . | . | . | 11 | 6 | | | | | | | | | | | | | | | 17 |

El resultado del AMOVA muestra que la mayor parte de la diversidad genética (96,7%) se encuentra distribuida a nivel interpoblacional, de ésta el 61,5% se encuentra distribuida entre las cordilleras y el 35,2% entre poblaciones dentro cada cordillera (Tabla 9). Dentro de las poblaciones existe muy poca variación (3%) (Tabla 8 y 9). Los índices de fijación F_{ST} y F_{SR} sugieren una diferenciación casi completa a nivel interpoblacional (tanto entre poblaciones dentro de las regiones y como entre poblaciones dentro de la muestra total). El índice de fijación F_{RT} muestra una diferenciación entre regiones con respecto a la muestra total, aunque de menor magnitud que la encontrada con los otros índices.

Tabla 9. Resumen de los resultados del AMOVA realizado por medio del programa Arlequin 3.5 para las poblaciones y agrupaciones regionales establecidos para *Matudaea colombiana*.

| Grupos | Fuente de variación | d.f. | Suma de cuadrados | Componente de varianza | Porcentaje de variación | Índices de fijación | P-valor |
|-----------------------------------|--|------|-------------------|------------------------|-------------------------|---------------------|---------|
| División regional (cordilleras) | Entre cordilleras | 2 | 15.047 | 0.37807 Va | 61.51 | $F_{RT}=0.6151$ | 0.03715 |
| Poblaciones dentro de cada región | Entre poblaciones dentro de las cordilleras | 12 | 6.85 | 0.21674 Vb | 35.26 | $F_{SR}=0.91613$ | 0.00000 |
| Poblaciones | Entre poblaciones dentro de la población total | 78 | 0.833 | 0.01984 Vc | 3.23 | $F_{ST}=0.96772$ | 0.00000 |

RELACIONES DE DIVERGENCIA INTRAESPECÍFICA

En la Figura 7 se encuentra la red de haplotipos obtenida, en ésta se muestran las relaciones genéticas entre los cinco haplotipos identificados para *Matudaea colombiana* (Tabla 8) y las muestras de *M. trinervia* incluidas. El análisis muestra que el haplotipo 1, el más frecuente y ampliamente distribuido (Figura 6), se localiza en el centro de la red y que los demás haplotipos divergen de éste, con los haplotipos 2, 3 y 4 separados por un cambio y el haplotipo 5 por dos. Las

muestras de *M. trinervia* se relacionan con un haplotipo no muestreado o extinto intermediario a los haplotipos 1 y 5 (Figura 7).

Es importante notar que la divergencia genética entre *Matudaea colombiana* y *M. trinervia* es mucho mayor con respecto a la encontrada a nivel intraespecífico en *M. colombiana*, pero existe menor distancia genética entre *M. colombiana* y la muestra de *M. trinervia* de Costa Rica que entre esta y la muestra proveniente de México (Figura 7).

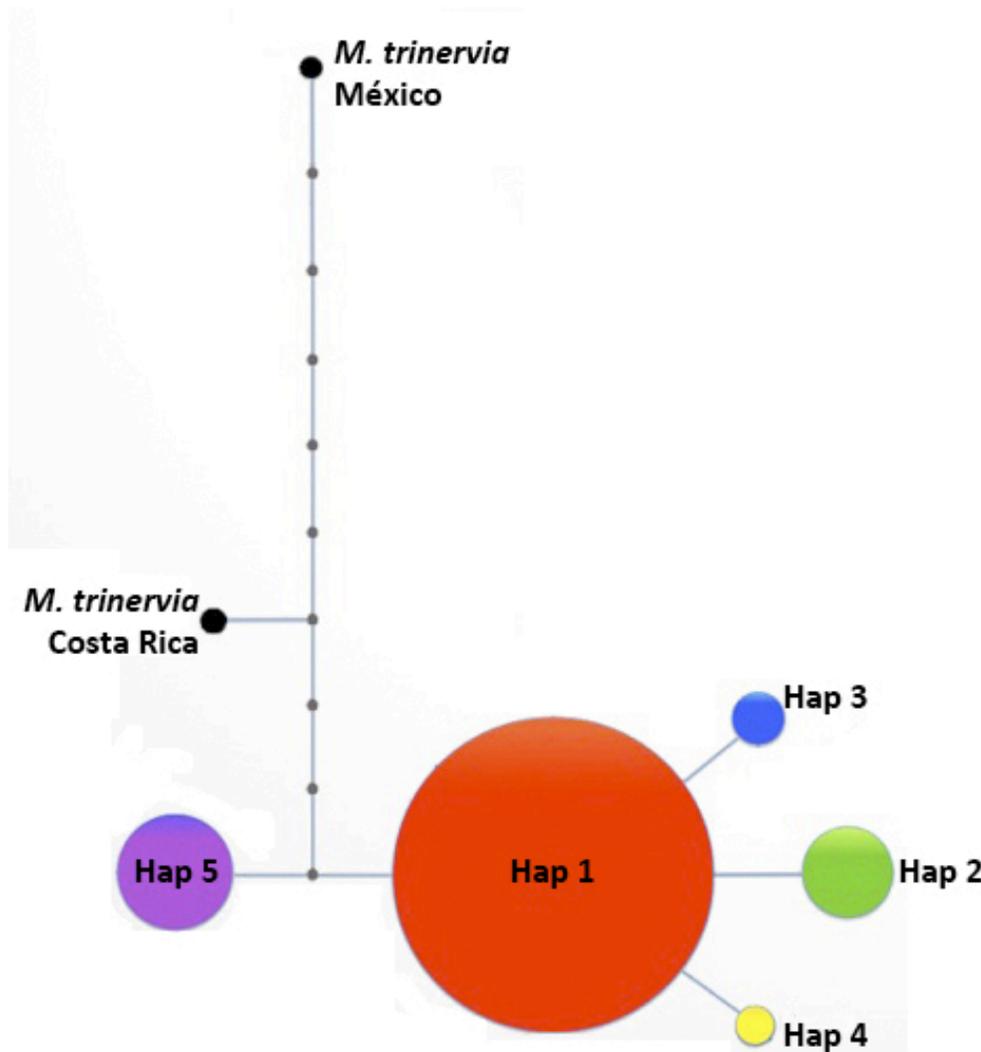


Figura 7. Red de haplotipos obtenida con base en las secuencias obtenidas de las regiones *trnS-trnG* y *atpB-rbcL* para las muestras de *Matudaea colombiana* y *M. trinervia*. Los números de cada haplotipo corresponden a los de la Tabla 8. Los tamaños relativos de cada figura corresponden a la frecuencia de cada haplotipo en la muestra total y los puntos sobre las conexiones entre los haplotipos corresponden a un paso mutacional.

ANÁLISIS FILOGENÉTICOS

Todas las topologías resultantes tanto de los análisis bayesianos como en el de máxima verosimilitud mostraron resultados semejantes y relaciones filogenéticas entre los géneros y especies congruentes a las propuestas en otros análisis previamente publicados para Hamamelidaceae (Li & Bogle, 1999, 2001; Li et al., 1999a, 1999b; Magallón, 2007) y Altingiaceae (Ickert-Bond & Wen, 2006; Morris *et al.*, 2008). El género *Matudaea* resultó como un grupo monofilético, los cinco haplotipos de *Matudaea colombiana* se agruparon con alto soporte y *M. trinervia* resultó como grupo parafilético con respecto a *M. colombiana* (Figura 8 y 9). Se encontró al haplotipo 5 como el de más temprana divergencia dentro del grupo que incluye todos los haplotipos de *Matudaea colombiana* pero el nodo del grupo que incluye los haplotipos 1, 2, 3 y 4 presentó valores de soporte más bajos entre 0,73 – 0,82 de probabilidad posterior (análisis bayesianos; Figura 9) y 0,7 de *SH-like* y *Bootstrap* (análisis de Máxima Verosimilitud; Figura 8).

Los análisis de edades de divergencia mostraron diferencias dependiendo del modelo de reloj molecular utilizado y la inclusión del punto de calibración del género *Matudaea* (Tabla 2). El método que asume correlación entre ramas adyacentes (*Penalized likelihood*) fue el que mostró mayor sensibilidad a la calibración del nodo del género *Matudaea* (Figura 10).

Las edades de divergencia estimadas para *Matudaea colombiana* (*stem clade*) están entre 10,1 – 12,9 Ma en los análisis realizados con modelos de reloj relajado no correlacionado (exponencial y lognormal) y entre 8,4 – 13,5 Ma para los análisis que asumen correlación entre las tasas de sustitución en ramas adyacentes (*Penalized likelihood*; Figura 10). El efecto del uso de la calibración del género *Matudaea* sobre la edad de divergencia de *M. colombiana* tuvo poca incidencia en los análisis realizados en *BEAST* (la diferencia fue de aproximadamente 1,6 Ma), sin embargo los análisis realizados con el modelo de relojes relajado correlacionado (*Penalized likelihood*) la diferencia entre las edades estimadas fue mayor (Figura 10).

La edad estimada de inicio de diversificación (*crown clade*) para *M. colombiana* estuvo entre 4,4 – 6,1 Ma en los análisis realizados con modelos de reloj relajado no correlacionado (exponencial y lognormal) y entre 2,1 – 2,9 Ma para los análisis que asumen correlación entre las tasas de sustitución en ramas adyacentes (*Penalized likelihood*; Figura 10). Las edades estimadas para este nodo mostraron un efecto menor con la inclusión del punto de calibración de *Matudaea*, las diferencias entre las edades estimadas fue entre 0,5 – 0,8 Ma (Figura 10).

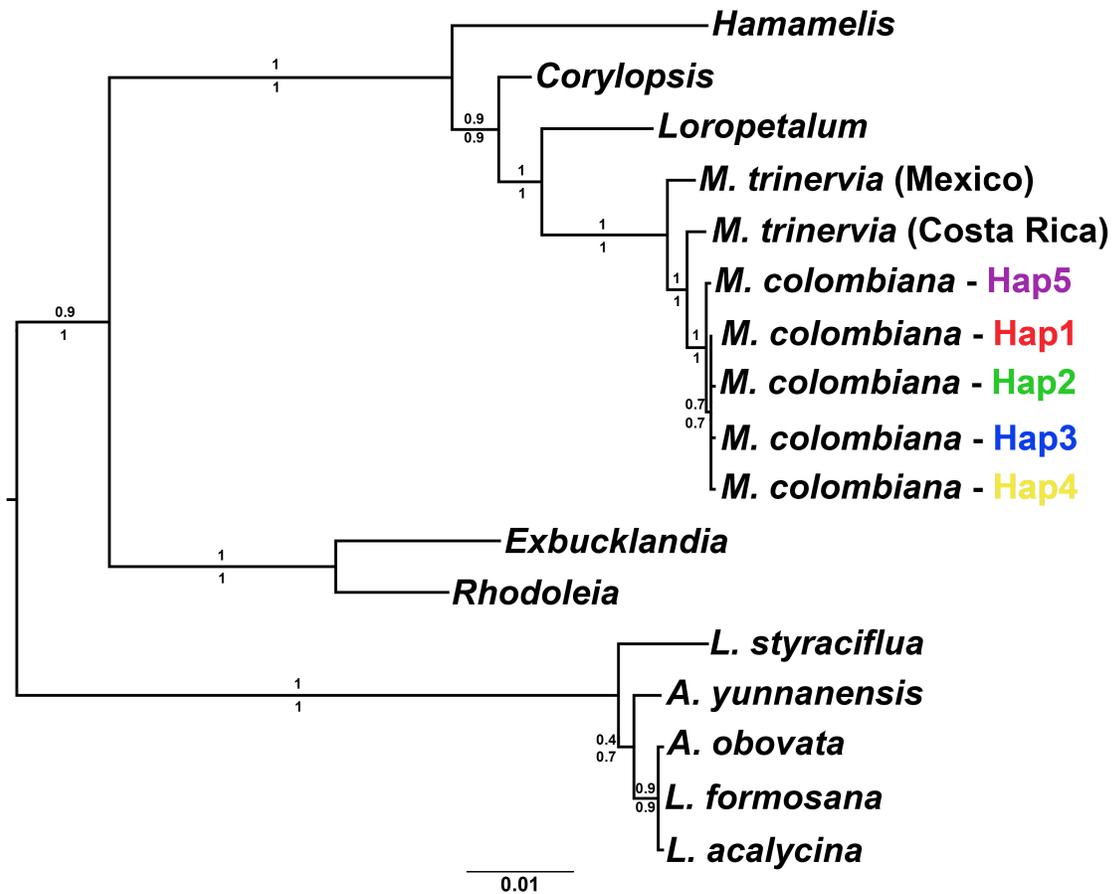


Figura 8. Filograma obtenido por medio de análisis de Máxima Verosimilitud en el programa phyML (log-likelihood=-5846,43). Los números sobre las ramas corresponden a los valores de soporte obtenidos con *SH-like* y debajo de las ramas corresponden al valor de *Bootstrap* (1000 réplicas). Los colores de los haplotipos de *M. colombiana* corresponden a los colores utilizados en la Figura 7.

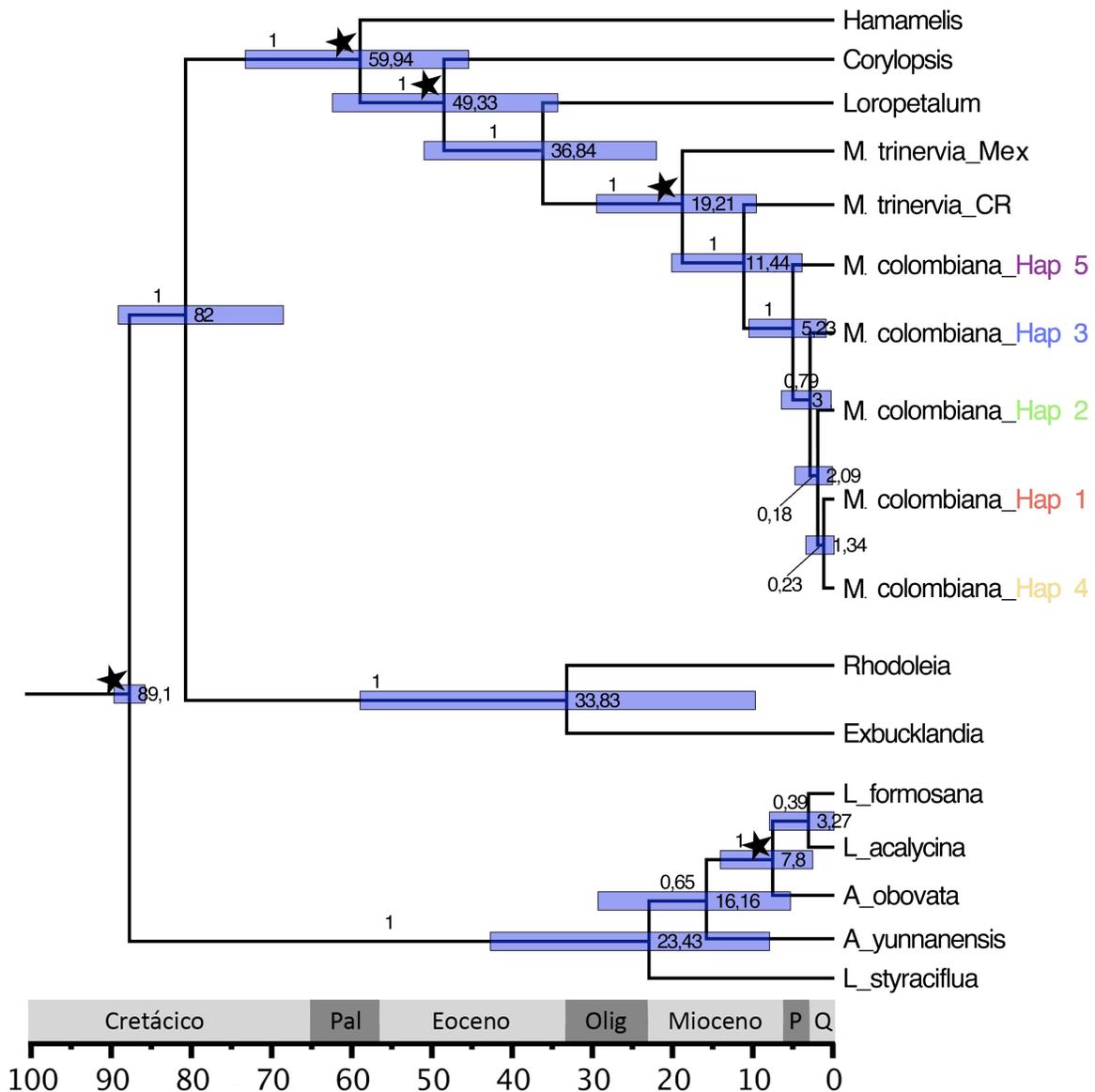


Figura 9. Cronograma obtenido por medio de análisis de Inferencia Bayesiana en el programa BEAST. Los números sobre las ramas corresponden a valores de soporte (Probabilidad Posterior). Los número frente los nodos corresponden a la edad (Ma) y las barras la amplitud del intervalo de confianza (HPD 95%). Los nodos indicados con la estrella corresponden a los puntos de calibración mencionados en la Tabla 2. Los colores de los haplotipos de *M. colombiana* corresponden a los colores utilizados en la Figura 7. La escala esta en millones de años antes del presente y en tonos de gris se resaltan los intervalos de los periodos geológicos, Pal: Paleoceno; Olig: Oligoceno; P: Plioceno; Q: Cuaternario.

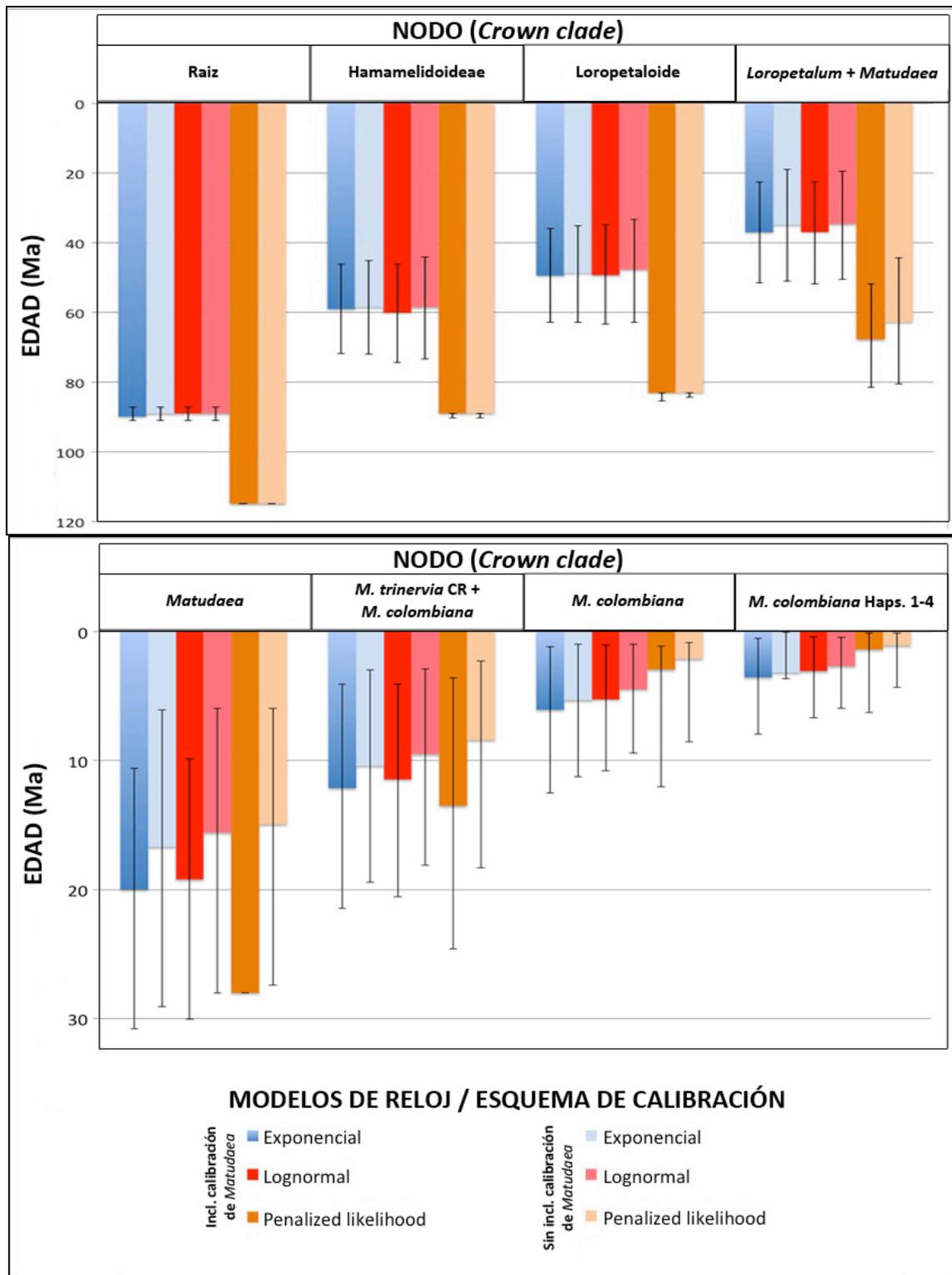


Figura 10. Análisis de datación de tiempos de divergencia de los grupos incluidos en los análisis filogenéticos (Figura 8 y 9). Las barras representan la edad del nodo respectivo (Ma) y las líneas el intervalo de confianza respectivo (95%). Con colores se diferencia los cuatro modelos de reloj molecular utilizados y dentro de cada modelo se contrasta con el respectivo color tenue para las edades obtenidas excluyendo el punto de calibración correspondiente al género *Matudaea* (Tabla 2; Anexo 4).

DISCUSIÓN

DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE *M. colombiana*

Se encontró que *Matudaea colombiana* presenta una diversidad nucleotídica y haplotípica muy baja, la más baja en comparación a reportes obtenidos con marcadores no codificantes del cpDNA de otras especies de árboles neotropicales (Tabla 10). Es importante resaltar que existe un vacío de información en lo que se refiere a la caracterización de la diversidad genética con este tipo de marcadores para árboles de bosques montanos neotropicales, especialmente para taxones con distribución geográfica y nicho ecológico semejante a *M. colombiana* como las especies de *Alfaroa*, *Oreomunnea* y algunas de *Quercus*, entre otras (Williams, 1991; Lozano-Contreras *et al.*, 1994; Lozano-Contreras, 1996; Rzedowski, 1996). El único referente medianamente comparable es el estudio filogeográfico de *Q. virginiana* y *Q. oleoides* realizado por Cavender-Bares *et al.*, (2011) en bosques subtropicales de México en el cual reportan la existencia de dos haplotipos de amplia distribución, junto a otros cinco haplotipos restringidos a una o dos localidades de su estudio. Para estas especies de *Quercus* en un solo marcador se reporta mayor diversidad haplotípica que lo encontrado para *M. colombiana*.

En contraste, se encontró que el número de haplotipos observados en *Matudaea colombiana* es más similar al reportado en otras especies de la familia Hamamelidaceae. (Yamanaka *et al.*, 2008) identificaron para el grupo de especies *Corylopsis glabrecens*, *C. gotoana*, *C. pauciflora* y *C. spicata*, nueve haplotipos basados en tres marcadores (intrón *trnL*, *trnS-trnG* y *rpl20-rps12*), entre los cuales dos son de amplia distribución en la zona de estudio y representan el 50% y 20% de los individuos muestreados; los otros siete haplotipos identificados fueron encontrados en una o dos poblaciones y por lo tanto los consideraron como raros y restringidos geográficamente. De forma similar, en un análisis filogenético de especies de *Hamamelis*, (Xie *et al.*, 2010) reportaron la existencia de solo tres sitios polimórficos ($S=3$) en una matriz conjunta para las regiones *trnL-trnF*, *psaA-ycf3*, *atpB-rbcL* y *psbA-trnH*.

El hecho que la baja diversidad genética encontrada en *Matudaea colombiana* sea más semejante a otras especies de Hamamelidaceae se relaciona con las tasas de sustitución encontradas en los análisis filogenéticos ($2,0 - 3,5E-10$ sust./sitio/año), estas resultan interesantes porque son más bajas que las reportadas para marcadores cloroplásticos en taxones de porte arbóreo (*cf.* Wolfe *et al.*, 1987; Richardson *et al.*, 2001; Petit & Hampe, 2006). Esta baja tasa de sustitución puede relacionarse con el carácter relictual de las especies de Hamamelidaceae que se caracteriza por aspectos como endemismo, rango geográfico restringido, especificidad de hábitat y poblaciones pequeñas (Habel *et al.*, 2010).

Estos niveles bajos de diversidad genética también pueden relacionarse con características propias de *Matudaea colombiana* como tamaños poblacionales bajos (se encontraron solo 119 individuos en este trabajo), tiempos entre generaciones largos, alta capacidad de rebrote (ver sección a continuación) y distribución geográfica restringida (Frankham, 1996).

Adicionalmente es importante tener en cuenta que la diversidad genética encontrada para *M. colombiana* también puede ser consecuencia de un proceso reciente de reducción poblacional relacionado con los ciclos glaciales e interglaciales que caracterizaron el clima global durante el Cuaternario. Estos ciclos ocasionaron una dinámica de ascenso y descenso de los cinturones de vegetación que caracterizan el gradiente altitudinal en los Andes Tropicales y por ende un desplazamiento altitudinal, así como ampliaciones y compresiones del hábitat adecuado para las especies (Hooghiemstra & Van der Hammen, 2004).

Los resultados de los análisis de estructura genética en *Matudaea colombiana* muestran que existe alta estructuración genética (reducido flujo genético) entre poblaciones, esto se relaciona con rasgos de la historia de vida de la especie como la producción de frutos monocárpicos, el mecanismo de dispersión de semillas a corta distancia (Hamrick *et al.* 1993) y tamaños de poblaciones pequeños con individuos agrupados que contribuyen a aislar las poblaciones incrementando la posibilidad de diferenciación por deriva genética (Loveless & Hamrick 1984).

También se encontró que existe alta estructuración genética entre grupos de poblaciones pertenecientes a cordilleras diferentes. Este patrón muestra que los valles interandinos (franjas largas de tierras bajas en sentido N-S) se constituyen como una barrera para el flujo genético entre poblaciones de *Matudaea colombiana* localizadas en cordilleras diferentes, para el caso del valle del Río Magdalena este patrón ya fue encontrado en poblaciones de aves de *Buarremon brunneinucha* (Cadena *et al.*, 2007).

Este patrón de diferenciación genética entre cordilleras contrasta con el patrón de homogeneidad genética norte-sur (en el sentido de las cordilleras) que en general para *M. colombiana* se mostró independiente de la distancia geográfica (más evidente en las poblaciones de la cordillera Oriental) (Figura 6). Esta homogeneidad genética N-S puede ser consecuencia de algunos o todos los factores ya discutidos que explican la baja diversidad genética de *M. colombiana*.

Tabla 10. Medidas de diversidad genética derivada de marcadores del cpDNA reportadas para varios taxones de árboles neotropicales. π =diversidad nucleotídica. S=número de sitios polimórficos.

| Taxón | Región geográfica | Marcador | Número de Haplotipos | π | S | Referencia |
|---|--|--|----------------------|----------|-----|--|
| <i>Spondias purpurea</i> | México – Panamá | <i>trnS-trnG</i> | 30 | - | - | Miller & Schaal, (2005) |
| <i>Hymenaea stigonocarpa</i> | Brasil | <i>psbC-trnS3</i> | 23 | 3,0 E-3 | 15 | Ramos <i>et al.</i> (2007) |
| <i>Symphonia globulifera</i> | Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, Ecuador, Brasil, Perú, Bolivia, Guyana Francesa | <i>psbA-trnH</i> | 20 | 1,11 E-2 | 23 | Dick & Heuertz, (2008) |
| <i>Hymenaea courbaril</i> | Centro-oeste y sudeste de Brasil | <i>psbC-trnS3</i> | 18 | 3,0 E-3 | 19 | Ramos <i>et al.</i> , (2008) |
| <i>Jacaratia mexicana</i> | Centro-oeste al sureste de México | <i>atpB-rbcL y trnL-trnF</i> | 16 | 8,8 E-3 | 47 | Arias <i>et al.</i> , (2010) |
| <i>Podocarpus matudae</i> | México y Guatemala | <i>trnL-trnF y psbA-trnH</i> | 11 | - | 23 | Ornelas <i>et al.</i> , (2010) |
| <i>Plathymenia reticulata</i> | Centro-oeste, Noreste y sureste de Brasil | <i>trnL-trnL-trnF y trnS-trnG</i> | 18 | 2,5 E-3 | 25 | Novaes <i>et al.</i> , (2010) |
| <i>Dalbergia nigra</i> | Bosque Atlántico de Brasil | <i>trnV-trnM, trnL intrón</i> | 15 | 8,9 E-4 | 11 | Ribeiro <i>et al.</i> , (2010) |
| <i>Cedrela fissilis</i> | Norte y centro de Brasil | <i>trnT-trnL, trnS-trnG y psbB-psbT-psbN</i> | - | - | 27 | (Garcia <i>et al.</i> , 2011) |
| <i>Quercus virginiana y Q. oleoides</i> | Sureste de los Estados Unidos, México y Costa Rica | <i>trnD-trnT</i> | 5 | - | - | Cavender-Bares <i>et al.</i> , (2011) |
| <i>Tabebuia impetiginosa</i> | Diagonal seca en Brasil | <i>trnS-trnG, psbA-trnH y ycf6-trnC</i> | 86 | 1,82 E-2 | 149 | Collevatti <i>et al.</i> (2012c) |
| <i>Schizolobium parahyba</i> | Bosque Atlántico de Brasil, Amazonas, Chocó | <i>matK, psbA-trnH y trnL-trnF</i> | 21 | 2,4 E-3 | - | Turchetto-Zolet <i>et al.</i> , (2012) |
| <i>Caryocar brasiliense</i> | Cerrado brasileiro | <i>psbA-trnH y ycf6-trnC</i> | 8 | | 17 | Collevatti <i>et al.</i> (2012b) |
| <i>Tibouchina papyrus</i> | Restringida a áreas rocosas del Cerrado brasileiro | <i>psbA-trnH, trnS-trnG y trnC-ycf6</i> | 17 | 2,9 E-3 | 11 | Collevatti <i>et al.</i> (2012a) |
| <i>Bursera simaruba</i> | Panamá, Costa Rica, El Salvador y Nicaragua | <i>psbA-trnH y trnG intrón</i> | 37 | 3,97 E-3 | 27 | |
| <i>Brosimum alicastrum</i> | Panamá, Costa Rica, El Salvador y Nicaragua | <i>psbA-trnH y trnG intrón</i> | 16 | 4,32 E-3 | 22 | Poelchau & Hamrick, (2013) |
| <i>Ficus insípida</i> | Panamá, Costa Rica, El Salvador y Nicaragua | <i>psbA-trnH y trnG intrón</i> | 15 | 2,97 E-3 | 14 | |

DIVERSIDAD GENÉTICA Y CAPACIDAD DE REBROTE

El patrón de diversidad genética observado en *M. colombiana* puede estar relacionado con la alta capacidad de rebrote observada (Figura 3A, 3B y 3C). Se ha mostrado que existe una estrecha relación entre la diversidad genética y la alta capacidad de persistencia de los individuos que presentan estrategias de rebrote. Del Tredici (2001) y Bond & Midgley (2001, 2003) relacionan la capacidad de rebrote en árboles con el aumento los tiempos de generación (ciclos de vida más largos), pocas fluctuaciones demográficas, flujo génico entre generaciones y colonización de nuevos ambientes por individuos adultos, factores que en consecuencia conducen a la disminución de los efectos de la deriva genética (Montalvo *et al.*, 1997; Chung & Epperson, 2000; Setsuko *et al.*, 2004; Premoli & Steinke, 2008), de las tasas de diversificación y a la preservación de un patrón definido de diversidad genética en la población por mayor tiempo.

Además es posible que la capacidad de rebrote se relacione con una baja diversidad genética debido a que existe un costo en la reserva o movilización de recursos para rebrotar (Vesk & Westoby, 2004) y que la alocaión de recursos para rebrotar se puede traducir en un detrimento en la producción de semillas y la disminución de reclutamiento de plántulas especialmente en sitios con baja disponibilidad de nutrientes (Nzunda & Lawes, 2011) fenómeno que influye en la disminución de las tasas de diversificación. Bellingham & Sparrow (2009) afirman que en bosques montanos tropicales con baja disponibilidad de nutrientes existe una tendencia a la baja diversificación de árboles que presentan múltiples tallos.

Estudios de patrones de diversidad y estructura genética en especies de árboles rebrotantes evidencian que esta característica afecta los patrones de estructura genética a escala espacial fina dado que los clones presentan un patrón agregado de distribución horizontal, sin embargo se reportan la formación de clones a grandes distancias del progenitor en *Eurya emarginata* (Theaceae, Chung & Epperson, 2000). También muestran que poblaciones de árboles rebrotantes preservan considerables niveles de diversidad genética (Premoli & Steinke, 2008), lo que podría estar relacionado con posibles efectos de reducción de progenie endogámica, estrategia que ayudaría a preservar la diversidad genética en las poblaciones (Montalvo *et al.*, 1997; Setsuko *et al.*, 2004).

La presencia de árboles con capacidad de rebrotar es frecuente en hábitat con disturbio constante (Bond & Midgley, 2001, 2003; Del Tredici, 2001), en lugares con esta característica *M. colombiana* presenta la capacidad de recuperar la cobertura vegetal y convertirse en la especie dominante donde ha ocurrido sobreexplotación forestal de roble (*Q. humboldtii*) o remoción de la cobertura vegetal por vía antrópica o natural (derrumbes), esto puede relacionarse con que presente poblaciones densas y siempre en áreas de pendiente muy pronunciada.

Como en *Matudaea*, el rebrote es un atributo frecuente en árboles de especies raras, relictos del Terciario, que sobreviven en hábitats con constantes disturbios de bosques húmedos subtropicales (Tang & Ohsawa, 2002). Este patrón se a observado en *Euptelea pleiospermum* (Eupteleaceae) que también es una especie arbórea, de bosques de altitud, asociada a cursos de agua, catalogada como rara y relicto del Terciario (Wei & Jiang, 2012), esta presenta estrategia de

rebrote que posiblemente le provee un efecto de amortiguamiento a los impactos negativos de la deforestación y la fragmentación del hábitat sobre la diversidad genética.

DIVERSIDAD GENÉTICA Y CONSERVACIÓN DE *M. colombiana*

Matudaea colombiana no se encuentra incluida en las listas de especies amenazadas de la IUCN. Aspectos como bajo tamaño poblacional y distribución geográfica restringida son características que deben ser analizadas para evaluar el grado de amenaza de esta especie. A esto se suma el hecho que el hábitat donde se encuentra *M. colombiana* es el tipo de vegetación más amenazado entre los bosques tropicales por causas propias del terreno donde se encuentran, por la alta presión antrópica y efecto del cambio climático global (Doumenge *et al.*, 1995; Aldrich *et al.*, 1997; Bubb *et al.*, 2004; Armenteras *et al.*, 2007). *M. trinervia* presenta un rango de distribución mayor y con base en información que requiere ser actualizada está incluida en la categoría **Vulnerable B1+2c** (área de ocupación pequeña, fuertemente fragmentada y con disminución continua; IUCN, 2012) y se encuentra registrada en listados de árboles en peligro de México (González-Espinosa *et al.*, 2011). Con base en esto se sugiere que *M. colombiana* se incluya en la categoría **en peligro (EN)**, teniendo en cuenta que presenta distribución severamente fragmentada, con disminución continua por causa de la deforestación y posiblemente por el cambio climático y además teniendo en cuenta que la población total estimada de la especie es <2500 individuos maduros (IUCN, 2012).

Con el fin de obtener bases genéticas para soportar medidas de conservación para *Matudaea colombiana* resulta importante implementar un estudio basado en marcadores como microsatélites que permitan obtener un panorama de la diversidad, estructura y flujo genético de *M. colombiana* a una escala temporal más reciente.

RELACIONES INTRA- E INTERESPECÍFICAS DE *Matudaea*

Los análisis filogenéticos mostraron que tanto el género *Matudaea* como la especie *M. colombiana* se agrupan como grupos monofiléticos con altos valores de soporte, sin embargo las muestras de *M. trinervia* incluidas se tornaron como grupo parafilético en relación a *M. colombiana* (Figura 8 y 9). Adicionalmente la red de haplotipos mostró que existe menor distancia genética entre el grupo de haplotipos de *M. colombiana* y la muestra de *M. trinervia* de Costa Rica que entre este último y la muestra mexicana (Figura 7). Estos resultados son congruentes con la baja diferenciación morfológica que presenta el género en conjunto y soporta la posibilidad que *Matudaea* sea un género monoespecífico. Sin embargo para poder tener un respaldo sólido para realizar cambios taxonómicos es necesario incluir mayor número de muestras de *M. trinervia* así como secuencias de marcadores nucleares que permitan complementar la información de divergencia entre las poblaciones centroamericanas frente a las colombianas. Es importante tener en cuenta que las topologías obtenidas fueron generadas con marcadores de herencia

exclusivamente materna y por lo tanto no excluye la posibilidad de presencia de reticulaciones con la inclusión de marcadores de herencia biparental.

EDADES DE DIVERGENCIA Y ESCENARIOS BIOGEOGRÁFICOS RELACIONADOS

La presencia de *Matudaea* en Europa central durante el Oligoceno medio inferida por la evidencia fósil (Palamarev *et al.*, 2005; Kunzmann & Walther, 2012) muestra que el origen de este género pudo haberse dado dentro de las formaciones boreotropicales mesotérmicas existentes entre Norteamérica y Europa (Wolfe, 1975). Análisis paleoecológicos describen que estas formaciones permanecieron relativamente continuas desde el Eoceno tardío, hasta el comienzo de condiciones más frías y secas en el Oligoceno tardío (Axelrod, 1975), proceso que pudo haber impulsado la migración de esta flora hacia regiones al sur, hoy consideradas subtropicales. Además, se ha propuesto que el surgimiento de tierras altas tropicales en el sur de Centroamérica y el norte de Suramérica y el levantamiento del Istmo de Panamá permitió la colonización de Los Andes del norte de Suramérica por elementos de esta flora boreotropical (Graham, 1999). Cody *et al.* (2010) muestran que, con base en dataciones moleculares para grupos de plantas, el proceso conocido como el Gran Intercambio Biótico Americano ha sido asincrónico e incluso más antiguo con respecto a taxones animales; sin embargo la mayoría de esas dataciones moleculares se han realizado con taxones de tierras bajas.

La única evidencia datada que permite inferir la llegada de taxones de bosque de montaña al norte de Suramérica es la palinológica, la cual sugiere que se dio durante el periodo Cuaternario y por ende que este proceso se relaciona con condiciones climáticas favorables que produjeron los periodos glaciales en las tierras bajas de la región del Istmo para que estos elementos llegaran hasta el norte de la cordillera de Los Andes (Graham, 1999). Sin embargo, las estimaciones de divergencia entre las especies de *Matudaea* obtenidas en este trabajo (8,4 – 13,5 Ma; Figura 10) muestran que la llegada de *Matudaea colombiana* al norte de Los Andes pudo haber ocurrido entre el periodo Mioceno medio o tardío, lo cual es congruente con la evidencia reciente que la región del Istmo de Panamá pudo ser una cadena continua de masas terrestres por encima del nivel del mar desde antes del periodo Oligoceno (Farris *et al.*, 2011; Montes *et al.*, 2012) y entonces el proceso de migración podría ser un efecto del enfriamiento de final del periodo Terciario.

En cuanto al efecto de las fluctuaciones climáticas del Cuaternario, podría entonces decirse que están involucradas en procesos como la colonización hasta el extremo sur del rango de distribución de la especie y posteriormente el aislamiento y diferenciación entre poblaciones previamente ubicadas en un rango geográfico similar al actual.

BOSQUES DE MONTAÑA NEOTROPICALES, ¿RELICTOS DE HÁBITATS BOREOTROPICALES?: ANÁLISIS DE CONSERVATISMO VS. DIVERGENCIA DE NICHOS EN *Matudaea*

El amplio rango norte-sur de *Matudaea* desde México hasta el sur de Los Andes colombianos, a primera vista supone un rango igual de amplio en las condiciones ambientales que las poblaciones del género han logrado colonizar. Sin embargo este trabajo, con base en los análisis derivados de los modelos de distribución y análisis multivariados de variables climáticas, muestra que existe un patrón de conservatismo de nicho ecológico entre poblaciones de *Matudaea* separadas por el Istmo de Panamá (Tabla 5 y 6). Es posible entonces, que junto a la ampliación del rango geográfico se hayan dado muy pocos cambios en los requerimientos ambientales, esta condición puede relacionarse con la alta especificidad de hábitat, así como con la distribución restringida y discontinua observada para las poblaciones conocidas de *Matudaea* (Figura 2).

Sin embargo, teniendo en cuenta que las condiciones ambientales no cambian en concierto, así como tampoco la tolerancia de los organismos a estas, para capturar la complejidad de la respuesta de las plantas al clima subyacente resulta más informativo enfoques que permitan evaluar las hipótesis de conservatismo de nicho para las variables que lo caracterizan por separado. El análisis de componentes principales (McCormack *et al.*, 2010) permitió evidenciar que algunas variables presentaron señal diferenciada de conservatismo o divergencia de nicho (Tabla 6). Resulta interesante que variables relacionadas con extremos de temperatura mostraron señal de conservatismo de nicho en *Matudaea*, esto podría relacionarse con que *Matudaea* comprende organismos de montaña limitados a rangos altitudinales estrechos dentro de los cuales la temperatura puede ser la variable que limita su distribución. En contraste la señal de divergencia de nicho encontrada en variables de extremos de precipitación puede relacionarse con que estas plantas podrían presentar menos restricciones fisiológicas que limiten su desarrollo en diferentes regímenes de precipitación y además una posible especialización a hábitats con extremos de precipitación diferenciados en los Andes colombianos en comparación con Centroamérica.

CONCLUSIONES

Matudaea colombiana presenta una diversidad genética relativamente baja con respecto a otros taxones arbóreos neotropicales, pero es similar a otras especies de Hamamelidaceae. Se concluye que esto puede ser una característica natural de la especie relacionada con rasgos de historia de vida como poblaciones pequeñas, tiempos de generación largos y alta capacidad de rebrote. Varias de estas características son frecuentes en especies de Hamamelidaceae lo que soporta la idea que la baja diversificación de *M. colombiana* puede ser una condición natural de la especie. Sin embargo la diversidad genética actual de *M. colombiana* puede ser también consecuencia de una disminución poblacional que la especie pudo haber experimentado durante parte de los ciclos glaciares e interglaciares del Cuaternario los cuales pudieron ocasionar una reducción del hábitat disponible y en consecuencia una desaparición de poblaciones junto con parte del pool genético de la especie.

La diversidad genética encontrada presenta estructuración geográfica con respecto a las cordilleras de Los Andes en Colombia lo que muestra que los valles interandinos se constituyen como una barrera importante para el flujo genético de los taxones de montaña.

Los análisis filogenéticos muestran a *Matudaea trinervia* como un grupo parafilético con relación a *M. colombiana*, sin embargo para decidir que *Matudaea* es un género monoespecífico se sugiere incluir más información de las poblaciones centroamericanas.

La datación de la divergencia de *Matudaea colombiana* sugiere un proceso de colonización desde Centroamérica hacia el norte de Suramérica a finales del periodo Terciario. Esta estimación se corrobora con estudios geológicos recientes que afirman que para ese periodo en la región del Istmo de Panamá ya había un camino continuo de tierra sobre el nivel del mar.

Las poblaciones de *Matudaea* presentan señal de conservatismo de nicho a lo largo de la distribución geográfica del género, este conservatismo está más relacionado con variables de extremos de temperatura, mientras que presenta diferenciación en variables de extremos de precipitación lo que puede relacionarse con una plasticidad fenotípica que le permitió explorar hábitats de menor latitud en el N de Los Andes.

BIBLIOGRAFÍA

- Ackerly D.D. (2003) Community Assembly, Niche Conservatism, and Adaptive Evolution in Changing Environments. *International Journal of Plant Sciences*, **164**, S165–S184.
- Aldrich M., Billington C., Edwards M., & Laidlaw R. (1997) *Tropical montane cloud forests: an urgent priority for conservation*. World Conservation Monitoring Centre, UNEP-WCMC, Cambridge, UK.
- Allouche O., Tsoar A., & Kadmon R. (2006) Assessing the accuracy of species distribution models: prevalence, kappa and the true skill statistic (TSS). *Journal of Applied Ecology*, **43**, 1223–1232.
- Andrew Jones F., Cerón-Souza I., Hardesty B.D., & Dick C.W. (2013) Genetic evidence of Quaternary demographic changes in four rain forest tree species sampled across the Isthmus of Panama. *Journal of Biogeography*, **40**, 720–731.
- Anisimova M. & Gascuel O. (2006) Approximate Likelihood-Ratio Test for Branches: A Fast, Accurate, and Powerful Alternative. *Systematic Biology*, **55**, 539–552.
- Antonelli A., Nylander J.A.A., Persson C., & Sanmartín I. (2009) Tracing the impact of the Andean uplift on Neotropical plant evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**, 9749–9754.
- Antonelli A. & Sanmartín I. (2011) Why are there so many plant species in the Neotropics? *Taxon*, **60**, 403–414.
- Arias D., Peñaloza-Ramírez J., Dorado O., Cuevas-Reyes P., Leyva E., Albarrán-Lara A.L., & Rangel-Altamirano G. (2010) Phylogeographic patterns and possible incipient domestication of *Jacaratia mexicana* A. DC. (Caricaceae) in Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **57**, 1227–1238.
- Armenteras D., Cadena C.E., & Moreno R. del P. (2007) *Evaluación del estado de los bosques de niebla y de la meta 2010 en Colombia*. HUMBOLDT, Bogotá (Colombia).
- Avise J.C. (2000) *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, Mass.
- Avise J.C. (2009) Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography*, **36**, 3–15.
- Avise J.C., Arnold J., Ball R.M., Bermingham E., Lamb T., Neigel J.E., Reeb C.A., & Saunders N.C. (1987) Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual review of ecology and systematics*, **18**, 489–522.
- Axelrod D.I. (1975) Evolution and Biogeography of Madrean-Tethyan Sclerophyll Vegetation. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **62**, 280–334.
- Beheregaray L.B. (2008) Twenty years of phylogeography: the state of the field and the challenges for the Southern Hemisphere. *Molecular Ecology*, **17**, 3754–3774.

- Bell C.D., Soltis D.E., & Soltis P.S. (2010) The age and diversification of the angiosperms re-revisited. *American Journal of Botany*, **97**, 1296–1303.
- Bellingham P.J. & Sparrow A.D. (2009) Multi-stemmed trees in montane rain forests: their frequency and demography in relation to elevation, soil nutrients and disturbance. *Journal of Ecology*, **97**, 472–483.
- Bermingham E. & Martin A.P. (1998) Comparative mtDNA phylogeography of neotropical freshwater fishes: testing shared history to infer the evolutionary landscape of lower Central America. *Molecular Ecology*, **7**, 499–517.
- Beu A.. (2001) Gradual Miocene to Pleistocene uplift of the Central American isthmus: Evidence from tropical American tonnoidean gastropods. *Journal of Paleontology*, **75**, 706–720.
- Bond W.J. & Midgley J.J. (2001) Ecology of sprouting in woody plants: the persistence niche. *Trends in Ecology & Evolution*, **16**, 45–51.
- Bond W.J. & Midgley J.J. (2003) The Evolutionary Ecology of Sprouting in Woody Plants. *International Journal of Plant Sciences*, **164**, S103–S114.
- Bubb P., May I., Miles L., & Sayer J. (2004) *Cloud forest agenda*. UNEP-WCMC, Cambridge, UK.
- Burnham R.J. & Graham A. (1999) The History of Neotropical Vegetation : New Developments and Status. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **86**, 546–589.
- Cadena C.D., Klicka J., & Ricklefs R.E. (2007) Evolutionary differentiation in the Neotropical montane region: Molecular phylogenetics and phylogeography of Buarremon brush-finches (Aves, Emberizidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **44**, 993–1016.
- Cavender-Bares J., Gonzalez-Rodriguez A., Pahlich A., Koehler K., & Deacon N. (2011) Phylogeography and climatic niche evolution in live oaks (*Quercus* series *Virentes*) from the tropics to the temperate zone. *Journal of Biogeography*, **38**, 962–981.
- Cavers S., Telford A., Arenal Cruz F., Pérez Castañeda A.J., Valencia R., Navarro C., Buonamici A., Lowe A.J., & Vendramin G.G. (2013) Cryptic species and phylogeographical structure in the tree *Cedrela odorata* L. throughout the Neotropics. *Journal of Biogeography*, **40**, 732–746.
- Chung M.G. & Epperson B.K. (2000) Clonal and spatial genetic structure in *Eurya emarginata* (Theaceae). *Heredity*, **84**, 170–177.
- Clement M., Posada D., & Crandall K.A. (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular ecology*, **9**, 1657–1659.
- Coates A.G., Collins L.S., Aubry M., & Berggren W.A. (2004) The Geology of the Darien , Panama , and the late Miocene-Pliocene collision of the Panama arc with northwestern South America. *Geological Society of America Bulletin*, **116**, 1327–1344.

Cody S., Richardson J.E., Rull V., Ellis C., & Pennington R.T. (2010) The Great American Biotic Interchange revisited. *Ecography*, **33**, 326–332.

Collevatti R.G., de Castro T.G., de Souza Lima J., & de Campos Telles M.P. (2012a) Phylogeography of *Tibouchina papyrus* (Pohl) Toledo (Melastomataceae), an endangered tree species from rocky savannas, suggests bidirectional expansion due to climate cooling in the Pleistocene: Phylogeography of *T. papyrus*. *Ecology and Evolution*, **2**, 1024–1035.

Collevatti R.G., Lima-Ribeira M.S., Souza-Neto A.C., Franco A.A., Oliveira G. de, & Terribile L.C. (2012b) Recovering the demographical history of a Brazilian Cerrado tree species *Caryocar brasiliense*: coupling ecological niche modeling and coalescent analyses. *Natureza & Conservação*, **10**, 169–176.

Collevatti R.G., Terribile L.C., Lima-Ribeiro M.S., Nabout J.C., de Oliveira G., Rangel T.F., Rabelo S.G., & Diniz-Filho J.A.F. (2012c) A coupled phylogeographical and species distribution modelling approach recovers the demographical history of a Neotropical seasonally dry forest tree species. *Molecular Ecology*, **21**, 5845–5863.

Cuenca A., Asmussen-Lange C.B., & Borchsenius F. (2008) A dated phylogeny of the palm tribe Chamaedoreae supports Eocene dispersal between Africa, North and South America. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **46**, 760–775.

Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., & Posada D. (2012) jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, **9**, 772–772.

Davis C.C., Bell C.D., Mathews S., & Donoghue M.J. (2002) Laurasian migration explains Gondwanan disjunctions: Evidence from Malpighiaceae. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **99**, 6833–6837.

Dick C.W. & Heuertz M. (2008) The complex biogeographic history of a widespread tropical tree species. *Evolution*, **62**, 2760–2774.

Doumenge C., Gilmour D., Pérez M.R., & Blockhus J. (1995) Tropical Montane Cloud Forests: Conservation Status and Management Issues. *Tropical Montane Cloud Forests* (ed. by L.S. Hamilton, J.O. Juvik, and F.N. Scatena), pp. 24–37. Springer US, New York, NY.

Doyle J. & Doyle J. (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, **19**, 11–15.

Drummond A.J., Ho S.Y.W., Phillips M.J., & Rambaut A. (2006) Relaxed Phylogenetics and Dating with Confidence. *PLoS Biology*, **4**, e88.

Drummond A.J., Suchard M.A., Xie D., & Rambaut A. (2012) Bayesian Phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution*, **29**, 1969–1973.

Elith J. & Graham C.H. (2009) Do they? How do they? WHY do they differ? On finding reasons for

differing performances of species distribution models. *Ecography*, **32**, 66–77.

Elith J., H. Graham C., P. Anderson R., Dudík M., Ferrier S., Guisan A., J. Hijmans R., Huettmann F., R. Leathwick J., Lehmann A., Li J., G. Lohmann L., A. Loiselle B., Manion G., Moritz C., Nakamura M., Nakazawa Y., McC. M. Overton J., Townsend Peterson A., J. Phillips S., Richardson K., Scachetti-Pereira R., E. Schapire R., Soberón J., Williams S., S. Wisz M., & E. Zimmermann N. (2006) Novel methods improve prediction of species' distributions from occurrence data. *Ecography*, **29**, 129–151.

Endress P.K. (1989) Aspects of evolutionary differentiation of the Hamamelidaceae and the Lower Hamamelididae. *Plant Systematics and Evolution*, **162**, 193–211.

Endress P.K. (1993) Hamamelidaceae. *The Families and Genera of Vascular Plants* (ed. by K. Kubitzki), pp. 322–331. Berlin.

Endress P.K. (1996) *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge University Press, Cambridge [England]; New York, NY, USA.

Erdei B. & Rákosi L. (2009) The Middle Eocene flora of Csordakút (N Hungary). *Geologica Carpathica*, **60**, 43–57.

Excoffier L. & Lischer H.E.L. (2010) Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, **10**, 564–567.

Farris D.W., Jaramillo C., Bayona G., Restrepo-Moreno S.A., Montes C., Cardona A., Mora A., Speakman R.J., Glascock M.D., & Valencia V. (2011) Fracturing of the Panamanian Isthmus during initial collision with South America. *Geology*, **39**, 1007–1010.

Felsenstein J. (1981) Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, **17**, 368–376.

Felsenstein J. (1985) Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap. *Evolution*, **39**, 783–791.

Frankham R. (1996) Relationship of Genetic Variation to Population Size in Wildlife. *Conservation Biology*, **10**, 1500–1508.

Friis E.M., Crane P.R., & Pedersen K.R. (2011) *Early flowers and angiosperm evolution*. Cambridge University Press, Cambridge; New York.

Garcia M.G., Silva R.S., Carniello M.A., Veldman J.W., Rossi A.A.B., & de Oliveira L.O. (2011) Molecular evidence of cryptic speciation, historical range expansion, and recent intraspecific hybridization in the Neotropical seasonal forest tree *Cedrela fissilis* (Meliaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **61**, 639–649.

- Gentry A.H. (1982) Neotropical Floristic Diversity: Phytogeographical Connections Between Central and South America, Pleistocene Climatic Fluctuations, or an Accident of the Andean Orogeny? *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **69**, 557–593.
- Godsoe W. (2010) Regional Variation Exaggerates Ecological Divergence in Niche Models. *Systematic Biology*, **59**, 298–306.
- González Villarreal L.M., Jiménez-Reyes N., & Hernández López L. (2004) *La familia Hamamelidaceae en el estado de Jalisco, México*. Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Mexico.
- González-Espinosa M., Meave J.A., Lorea-Hernández F.G., Ibarra-Manríquez G., & Newton A.C. (2011) *The red list of Mexican cloud forest trees*. Fauna & Flora International, Cambridge.
- Graham A. (1999) The tertiary history of the northern temperate element in the northern Latin American biota. *American Journal of Botany*, **86**, 32–38.
- Gregory-Wodzicki K.M. (2000) Uplift history of the Central and Northern Andes: A review. *Geological Society of America Bulletin*, **112**, 1091–1105.
- Guindon S., Dufayard J.F., Lefort V., Anisimova M., Hordijk W., & Gascuel O. (2010) New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology*, **59**, 307–321.
- Guindon S. & Gascuel O. (2003) A Simple, Fast, and Accurate Algorithm to Estimate Large Phylogenies by Maximum Likelihood. *Systematic Biology*, **52**, 696–704.
- Habel J., Assmann T., Schmitt T., & Avise J. (2010) Relict Species: From Past to Future. *Relict Species: Phylogeography and Conservation Biology* (ed. by J. Habel and T. Assmann), pp. 1–5. Springer Berlin Heidelberg,
- Hall T. (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, **41**, 95–98.
- Harvey P.H. & Pagel M.D. (1991) *The comparative method in evolutionary biology*. Oxford University Press, Oxford ; New York.
- Hernandez P.A., Graham C.H., Master L.L., & Albert D.L. (2006) The effect of sample size and species characteristics on performance of different species distribution modeling methods. *Ecography*, **29**, 773–785.
- Hey J. & Machado C.A. (2003) The study of structured populations [mdash] new hope for a difficult and divided science. *Nat Rev Genet*, **4**, 535–543.
- Hijmans R.J., Cameron S.E., Parra J.L., Jones P.G., & Jarvis A. (2005) Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, **25**, 1965–

1978.

Hooghiemstra H. & Van der Hammen T. (2004) Quaternary Ice-Age dynamics in the Colombian Andes: developing an understanding of our legacy. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **359**, 173–181.

Ickert-Bond S.M., Pigg K.B., & Wen J. (2007) Comparative infructescence morphology in Altingia (Altingiaceae) and discordance between morphological and molecular phylogenies. *American Journal of Botany*, **94**, 1094–1115.

Ickert-Bond S.M. & Wen J. (2006) Phylogeny and biogeography of Altingiaceae: Evidence from combined analysis of five non-coding chloroplast regions. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **39**, 512–528.

IUCN (2012) Available at: <http://www.iucnredlist.org/search>.

Jobes D.V., Hurley D.L., & Thien L.B. (1995) Plant DNA Isolation: A Method to Efficiently Remove Polyphenolics, Polysaccharides, and RNA. *Taxon*, **44**, 379–386.

Katoh K. & Standley D.M. (2013) MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability. *Molecular Biology and Evolution*, **30**, 772–780.

Keigwin L.D. (1978) Pliocene closing of the Isthmus of Panama, based on biostratigraphic evidence from nearby Pacific Ocean and Caribbean Sea cores. *Geology*, **6**, 630–634.

Kirby M.X. & MacFadden B. (2005) Was southern Central America an archipelago or a peninsula in the middle Miocene? A test using land-mammal body size. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **228**, 193–202.

Kitching I.J. (1998) *Cladistics: the theory and practice of parsimony analysis*. Oxford University Press, Oxford ; New York.

Kunzmann L. & Walther H. (2012) Early Oligocene plant taphocoenoses of the Haselbach megafloreal complex and the reconstruction of palaeovegetation. *Palaeobiodiversity and Palaeoenvironments*, **92**, 295–307.

Kvaček Z. (2002) Late Eocene landscape, ecosystems and climate in northern Bohemia with particular reference to the locality of Kučlín near Bílina. *Bulletin of the Czech Geological Survey*, **77**, 217–236.

Kvaček Z. & Teodoridis V. (2007) Tertiary macrofloras of the Bohemian Massif: a review with correlations within Boreal and Central Europe. *Bulletin of Geosciences*, **82**, 383–408.

Li I. & Bogle U.A.L. (1999) Phylogenetic Relationships in the Hamamelidoideae Inferred from Sequences of trn non-Coding Regions of Chloroplast DNA. *Harvard Papers in Botany*, **4**, 343–356.

Li J. & Bogle A.L. (2001) A new suprageneric classification system of the Hamamelidoideae based on

morphology and sequences of nuclear and chloroplast DNA. *Harvard Papers in Botany*, **5**, 499–515.

Li J., Bogle A.L., & Klein A.S. (1999a) Plant Systematics and Evolution Phylogenetic relationships in the Hamamelidaceae : evidence from the nucleotide sequences of the plastid gene matK. *Plant Systematics and Evolution*, **218**, 205–219.

Li J., Bogle A.L., & Klein A.S. (1999b) Phylogenetic Relationships of the Hamamelidaceae Inferred from Sequences of Internal Transcribed Spacers (ITS) of Nuclear Ribosomal DNA. *American Journal of Botany*, **86**, 1027–1037.

Librado P. & Rozas J. (2009) DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, **25**, 1451–1452.

Lozano-Contreras G. (1996) Hallazgo de la familia Hamamelidaceae en Colombia y descripción de una nueva especie de Matudaea de Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, **20**, 443–445.

Lozano-Contreras G., González F., & Ruiz N. (1994) Hallazgo de Oreomunnea (Juglandaceae) en Suramérica y descripción de una especie nueva de Colombia. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, **52**, 13–19.

Lundell C.L. (1979) A Fossil Species of Matudaea Lundell (Hamamelidaceae) from the Middle Oligocene of Central Europe. *Wrightia*, **6**, 59.

Magallón S. (2007) From Fossils to Molecules : Phylogeny and the Core Eudicot Floral Groundplan in Hamamelidoideae (Hamamelidaceae, Saxifragales). *Systematic Botany*, **32**, 317–347.

Magallon S. & Castillo A. (2009) Angiosperm diversification through time. *American Journal of Botany*, **96**, 349–365.

Magallon S., Herendeen P.S., & Crane P.R. (2001) *Androdecidua endressii* gen. et sp. nov., from the Late Cretaceous of Georgia (United States): Further Floral Diversity in Hamamelidoideae (Hamamelidaceae). *International Journal of Plant Sciences*, **162**, 963–983.

Magallon-Puebla S., Herendeen P.S., & Endress P.K. (1996) *Allonia decandra* : floral remains of the tribe Hamamelideae (Hamamelidaceae) from Campanian strata of southeastern USA. *Plant Systematics and Evolution*, **202**, 177–198.

Mai D. & Walther H. (1978) Die Floren der Haselbacher Serie im Weißelster-Becken (Bezirk Leipzig, DDR). *Abh Staatl Mus Mineral Geol Dresden*, **28**, 1–101.

Manchester S.R. (1999) Biogeographical Relationships of North American Tertiary Floras. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **86**, 472–522.

McCormack J.E., Zellmer A.J., & Knowles L.L. (2010) Does Niche Divergence Accompany Allopatric Divergence in Aphelocoma Jays as Predicted Under Ecological Speciation?: Insights from Tests with

Niche Models. *Evolution*, **64**, 1231–1244.

Miller A. & Schaal B. (2005) Domestication of a Mesoamerican cultivated fruit tree, *Spondias purpurea*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **102**, 12801–12806.

Montalvo A., Conard S., Conkle M., & Hodgskiss P. (1997) Population structure, genetic diversity, and clone formation in *Quercus chrysolepis* (Fagaceae). *American Journal of Botany*, **84**, 1553–1553.

Montes C., Cardona A., McFadden R., Moron S.E., Silva C.A., Restrepo-Moreno S., Ramirez D.A., Hoyos N., Wilson J., Farris D., Bayona G.A., Jaramillo C.A., Valencia V., Bryan J., & Flores J.A. (2012) Evidence for middle Eocene and younger land emergence in central Panama: Implications for Isthmus closure. *Geological Society of America Bulletin*, **124**, 780–799.

Morris A.B., Ickert-Bond S.M., Brunson D.B., Soltis D.E., & Soltis P.S. (2008) Phylogeographical structure and temporal complexity in American sweetgum (*Liquidambar styraciflua*; Altingiaceae). *Molecular Ecology*, **17**, 3889–3900.

Novaes R.M.L., De Lemos Filho J.P., Ribeiro R.A., & Lovato M.B. (2010) Phylogeography of *Plathymenia reticulata* (Leguminosae) reveals patterns of recent range expansion towards northeastern Brazil and southern Cerrados in Eastern Tropical South America. *Molecular Ecology*, **19**, 985–998.

Nzunda E.F. & Lawes M.J. (2011) Costs of resprouting are traded off against reproduction in subtropical coastal dune forest trees. *Plant Ecology*, **212**, 1991–2001.

Ornelas J.F., Ruiz-Sánchez E., & Sosa V. (2010) Phylogeography of *Podocarpus matudae* (Podocarpaceae): pre-Quaternary relicts in northern Mesoamerican cloud forests. *Journal of Biogeography*, **37**, 2384–2396.

Palamarev E., Bozukov V., Uzunova K., & Petkova A. (2005) Catalogue of the Cenozoic plants of Bulgaria (Eocene to Pliocene). *Phytologia Balcanica*, **11**, 215–364.

Paraschiv V. (2008) New Sarmatian Plant Macroremains from Oltenia Region (Romania). *Acta Palaeontologica Romaniae*, **6**, 279–286.

Pearman P.B., Guisan A., Broennimann O., & Randin C.F. (2008) Niche dynamics in space and time. *Trends in Ecology & Evolution*, **23**, 149–158.

Pearson R.G., Raxworthy C.J., Nakamura M., & Townsend Peterson A. (2006) Predicting species distributions from small numbers of occurrence records: a test case using cryptic geckos in Madagascar. *Journal of Biogeography*, **34**, 102–117.

Pennington R.T. & Dick C.W. (2004) The role of immigrants in the assembly of the South American rainforest tree flora. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **359**,

1611–1622.

Pennington R.T., Lavin M., Sarkinen T., Lewis G.P., Klitgaard B.B., & Hughes C.E. (2010) Contrasting plant diversification histories within the Andean biodiversity hotspot. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107**, 13783–13787.

Peterson A.T. (1999) Conservatism of Ecological Niches in Evolutionary Time. *Science*, **285**, 1265–1267.

Petit R.J. & Hampe A. (2006) Some Evolutionary Consequences of Being a Tree. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **37**, 187–214.

Phillips S.J., Anderson R.P., & Schapire R.E. (2006) Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, **190**, 231–259.

Pigg K.B., Ickert-Bond S.M., & Wen J. (2004) Anatomically preserved Liquidambar (Altingiaceae) from the middle Miocene of Yakima Canyon, Washington state, USA, and its biogeographic implications. *American Journal of Botany*, **91**, 499–509.

Pirie M.D., Chatrou L.W., Mols J.B., Erkens R.H.J., & Oosterhof J. (2006) “Andean-centred” genera in the short-branch clade of Annonaceae: testing biogeographical hypotheses using phylogeny reconstruction and molecular dating. *Journal of Biogeography*, **33**, 31–46.

Poelchau M.F. & Hamrick J.L. (2013) Comparative phylogeography of three common Neotropical tree species. *Journal of Biogeography*, **40**, 618–631.

Premoli A.C. & Steinke L. (2008) Genetics of sprouting: effects of long-term persistence in fire-prone ecosystems. *Molecular Ecology*, **17**, 3827–3835.

Radtke M.G., Pigg K.B., & Wehr W.C. (2005) Fossil *Corylopsis* and *Fothergilla* Leaves (Hamamelidaceae) from the Lower Eocene Flora of Republic, Washington, U.S.A., and their Evolutionary and Biogeographic Significance. *Biochemical Systematics and Ecology*, **166**, 347–356.

Ramos A.C.S., De Lemos-Filho J.P., & Lovato M.B. (2008) Phylogeographical Structure of the Neotropical Forest Tree *Hymenaea courbaril* (Leguminosae: Caesalpinioideae) and Its Relationship with the Vicariant *Hymenaea stigonocarpa* from Cerrado. *Journal of Heredity*, **100**, 206–216.

Ramos A.C.S., Lemos-Filho J.P., Ribeiro R.A., Santos F.R., & Lovato M.B. (2007) Phylogeography of the Tree *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae: Caesalpinioideae) and the Influence of Quaternary Climate Changes in the Brazilian Cerrado. *Annals of Botany*, **100**, 1219–1228.

Ribeiro R.A., Lemos-Filho J.P., Ramos A.C.S., & Lovato M.B. (2010) Phylogeography of the endangered rosewood *Dalbergia nigra* (Fabaceae): insights into the evolutionary history and conservation of the Brazilian Atlantic Forest. *Heredity*, **106**, 46–57.

Richardson J.E., Pennington R.T., Pennington T.D., & Hollingsworth P.M. (2001) Rapid

- Diversification of a Species-Rich Genus of Neotropical Rain Forest Trees. *Science*, **293**, 2242–2245.
- Rodríguez-Correa H. (2008) *Patrones genético-poblacionales a nivel geografico y ambiental en Quercus humboldtii Bonpl. para Los Andes colombianos*. Tesis para optar al título de Biólogo. Universidad del Quindío, Armenia, Quindío.
- Rzedowski J. (1996) Análisis preliminar de la flora vascular de los bosques mesófilos de montaña de México. *Acta Botánica Mexicana*, **35**, 25–44.
- Sanderson M. (2002) Estimating Absolute Rates of Molecular Evolution and Divergence Times: A Penalized Likelihood Approach. *Molecular Biology and Evolution*, **19**, 101–109.
- Sanderson M.J. (2003) r8s: inferring absolute rates of molecular evolution and divergence times in the absence of a molecular clock. *Bioinformatics*, **19**, 301–302.
- Santiago A.L., Jardel E.J., & Cuevas R. (2002) Rareza y estado de conservación de especies arbóreas del bosque mesófilo de montaña en la Reserva de la Biosfera Sierra de Manantlán, México. *Ibugana*, **10**, 5–22.
- Sauquet H., Ho S.Y.W., Gandolfo M.A., Jordan G.J., Wilf P., Cantrill D.J., Bayly M.J., Bromham L., Brown G.K., Carpenter R.J., Lee D.M., Murphy D.J., Sniderman J.M.K., & Udovicic F. (2012) Testing the Impact of Calibration on Molecular Divergence Times Using a Fossil-Rich Group: The Case of Nothofagus (Fagales). *Systematic Biology*, **61**, 289–313.
- Schaal B.A. & Leverich W.J. (2001) Plant Population Biology and Systematics Barbara A. Schaal and Wesley J. Leverich. *Taxon*, **50**, 679–695.
- Schoener T.W. (1968) The Anolis Lizards of Bimini: Resource Partitioning in a Complex Fauna. *Ecology*, **49**, 704–726.
- Serrano-Serrano M.L., Hernández-Torres J., Castillo-Villamizar G., Debouck D.G., & Sánchez M.I.C. (2010) Gene pools in wild Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) from the Americas: evidences for an Andean origin and past migrations. *Molecular phylogenetics and evolution*, **54**, 76–87.
- Setsuko S., Ishida K., & Tomaru N. (2004) Size distribution and genetic structure in relation to clonal growth within a population of *Magnolia tomentosa* Thunb. (Magnoliaceae). *Molecular Ecology*, **13**, 2645–2653.
- Soberón J. (2007) Grinnellian and Eltonian niches and geographic distributions of species. *Ecology Letters*, **10**, 1115–1123.
- Soltis D.E., Mort M.E., Latvis M., Mavrodiev E.V., O’Meara B.C., Soltis P.S., Burleigh J.G., & Rubio de Casas R. (2013) Phylogenetic relationships and character evolution analysis of Saxifragales using a supermatrix approach. *American Journal of Botany*, **100**, 916–929.
- Stepp S.L. & Leitner D.W. (1989) Software review: MystatTM: A personal version of systat

(statistical). *Performance + Instruction*, **28**, 33–34.

Swofford D. (2003) *PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.,

Takahashi M., Crane P.R., & Ando H. (1999) Fossil Flowers and Associated Plant Fossils from the Kamikitaba Locality (Ashizawa Formation, Futaba Group, Lower Coniacian, Upper Cretaceous) of Northeast Japan. *Journal of Plant Research*, **112**, 187–206.

Takhtajan A.L. (1997) *Diversity and classification of flowering plants*. Columbia University Press, New York.

Tang C.Q. & Ohsawa M. (2002) Tertiary relic deciduous forests on a humid subtropical mountain, Mt. Emei, Sichuan, China. *Folia Geobotanica*, **37**, 93–106.

Templeton A., Crandall K., & Sing C. (1992) A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics*, **132**, 619–633.

Del Tredici P. (2001) Sprouting in temperate trees: A morphological and ecological review. *The Botanical Review*, **67**, 121–140.

Turchetto-Zolet A.C., Cruz F., Vendramin G.G., Simon M.F., Salgueiro F., Margis-Pinheiro M., & Margis R. (2012) Large-scale phylogeography of the disjunct Neotropical tree species *Schizolobium parahyba* (Fabaceae-Caesalpinioideae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **65**, 174–182.

Turchetto-Zolet A.C., Pinheiro F., Salgueiro F., & Palma-Silva C. (2013) Phylogeographical patterns shed light on evolutionary process in South America. *Molecular Ecology*, **22**, 1193–1213.

Van der Vaart A.W. (1998) *Asymptotic statistics*. Cambridge University Press, Cambridge, UK ; New York, NY, USA.

Vesk P.A. & Westoby M. (2004) Funding the bud bank: a review of the costs of buds. *Oikos*, **106**, 200–208.

Warren D.L., Glor R.E., & Turelli M. (2010) ENMTools: a toolbox for comparative studies of environmental niche models. *Ecography*, **33**, 607–611.

Wei X. & Jiang M. (2012) Limited genetic impacts of habitat fragmentation in an “old rare” relict tree, *Euptelea pleiospermum* (Eupteleaceae). *Plant Ecology*, **213**, 909–917.

Weigt L.A., Crawford A.J., Rand A.S., & Ryan M.J. (2005) Biogeography of the túngara frog, *Physalaemus pustulosus*: a molecular perspective. *Molecular Ecology*, **14**, 3857–3876.

Weir J.T., Bermingham E., Miller M.J., Klicka J., & González M.A. (2008) Phylogeography of a morphologically diverse Neotropical montane species, the Common Bush-Tanager (*Chlorospingus ophthalmicus*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **47**, 650–664.

- Wiens J.J. (2004) Speciation and Ecology Revisited: Phylogenetic Niche Conservatism and The Origin of Species. *Evolution*, **58**, 193.
- Wiens J.J. & Graham C.H. (2005) Niche conservatism: Integrating Evolution, Ecology, and Conservation Biology. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **36**, 519–539.
- Williams G. (1991) Nota sobre la estructura del estrato arbóreo del bosque mesófilo de montaña en los alrededores del campamento “El Triunfo”, Chiapas. *Acta Botánica Mexicana*, **13**, 1–7.
- Wolfe J.A. (1975) Some Aspects of Plant Geography of the Northern Hemisphere During the Late Cretaceous and Tertiary. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **62**, 264–279.
- Wolfe K.H., Li W.H., & Sharp P.M. (1987) Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast, and nuclear DNAs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **84**, 9054–9058.
- Xie L., Yi T.-S., Li R., Li D.-Z., & Wen J. (2010) Evolution and biogeographic diversification of the witch-hazel genus (*Hamamelis* L., Hamamelidaceae) in the Northern Hemisphere. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **56**, 675–689.
- Yamanaka M., Kobayashi S., & Setoguchi H. (2008) Distinct geographical structure across species units evidenced by chloroplast DNA haplotypes and nuclear ribosomal ITS genotypes of *Corylopsis* (Hamamelidaceae) in the Japanese islands. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **157**, 501–518.
- Zhou Z., Crepet W.L., & Nixon K.C. (2001) The Earliest Fossil Evidence of the Hamamelidaceae : Late Cretaceous (Turonian) Inflorescences and Fruits of Altingioideae. *American Journal of Botany*, **88**, 753–766.

ANEXOS

Anexo 1. Identificación y localización geográfica de las poblaciones estudiadas, identificación de los individuos muestreados y códigos de acceso de Genbank para las secuencias generadas.

| ID_Población | Cordillera | Departamento | Municipio | Localidad | Coordenadas long/lat WGS 84 | Altitud m.s.n.m. | No. de colección COL | No. de individuos colectados | Fecha de colecta | ID_ Individuos | ID_accesión genbank | |
|--------------|------------|--------------|-------------|---|-----------------------------|------------------|----------------------|------------------------------|-----------------------|--|--|--|
| | | | | | | | | | | | atpB-rbcl | trnS-trnG |
| MC01 | Occidental | Antioquia | Betania | Farallones del Citará, Vereda Pedral Arriba, Quebrada La Bramadora | 76.00975° W 5.7465° N | 1750 | GAS 1761 | 13 | 01 de junio de 2009 | MC01_028- MC01_040 | JX161754- JX161758 | JX161668- JX161678 |
| MC02 | Occidental | Antioquia | Betania | Farallones del Citará, Vereda La Oscura, Quebrada La Bramadora | 76.02014° W 5.74508° N | 2100 | GAS 1758 | 6 | 31 de mayo de 2009 | MC02_022- MC02_027 | JX161751- JX161753 | JX161662- JX161667 |
| MC03 | Central | Antioquia | Medellín | Corregimiento San Antonio de Prado, Vereda El Astillero, Quebrada Doña María. | 75.67886° W 6.22028° N | 1960 | GAS 1764 | 5 | 03 de junio de 2009 | MC03_002- MC03_006 | JX161736- JX161739 | JX161650- JX161653 |
| MC04 | Central | Antioquia | Angelópolis | Reserva Ecológica Cuchilla El Romeral, sector El Loco. | 75.6918° W 6.11858° N | 2060 | GAS 1767 | 15 | 04 de junio de 2009 | MC04_001, MC04_007- MC04_012, MC04_054- MC04_061 | JX161735, JX161740- JX161745, JX161768- JX161772 | JX161649, JX161654- JX161656, JX161688- JX161695 |
| MC05 | Central | Quindío | Filandia | Veredas Cauchera y Vergel, Finca La Betulia. | 75.67218° W 4.64201° N | 1700 | GAS 1773 | 5 | 03 de febrero de 2012 | MC05_100- MC05_104 | JX161799- JX161800 | JX161723- JX161724 |
| MC06 | Central | Quindío | Filandia | Veredas Cauchera y Vergel, Finca La Betulia. | 75.67208° W 4.6412° N | 1680 | GAS 1774 | 4 | 03 de febrero de 2012 | MC05_105- MC05_108 | JX161801- JX161802 | JX161725- JX161726 |
| MC07 | Central | Cauca | Popayán | Carretera Popayán-Totoró-La Plata (Huila). Río Palacé. | 76.52967° W 2.51276° N | 1850 | GAS1770 | 9 | 06 de febrero de 2012 | MC07_110- MC07_118 | - | JX161727- JX161731 |
| MC08 | Central | Cauca | Popayán | Vereda La Playa, quebradas afluentes del Río Alto Moreno (Río Hondo). | 76.64317° W 2.43577° N | 1670 | GAS 1769 | 10 | 06 de febrero de 2012 | MC08_119- MC08_128 | JX161803- JX161806 | JX161732- JX161734 |

| ID_Población | Cordillera | Departamento | Municipio | Localidad | Coordenadas long/lat WGS 84 | Altitud m.s.n.m. | No. de colección COL | No. de individuos colectados | Fecha de colecta | ID_Inviduidos | ID_accesión genbank | |
|--------------|------------|--------------|------------------|--|-----------------------------|------------------|----------------------|------------------------------|-------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| | | | | | | | | | | | atpB-rbcl | trnS-trnG |
| MC09 | Oriental | Santander | Onzaga | Vereda Vegas de Padua, Quebrada de Los Micos. | 72.77483° W 6.42886° N | 2010 | GAS 1777 | 4 | 21 de enero de 2012 | MC09_085- MC09_088 | JX161791- JX161793 | JX161712- JX161715 |
| MC10 | Oriental | Santander | Suaita | Inspección San José de Suaita, Vereda La Meseta. | 73.428° W 6.17578° N | 1630 | GAS 1775 | 11 | 23 de enero de 2012 | MC10_089- MC10_099 | JX161794- JX161798 | JX161716- JX161722 |
| MC11 | Oriental | Cundinamarca | Guaduas | Vereda La Campeona. | 74.557° W 5.0112° N | 1980 | GAS 1385 | 7 | 13 de diciembre de 2010 | MC11_076- MC11_082 | JX161786- JX161790 | JX161708- JX161711 |
| MC12 | Oriental | Cundinamarca | Guaduas | Vereda La Campeona. | 74.5573° W 5.0095° N | 1930 | GAS 1386 | 6 | 07 de octubre de 2009 | MC12_013- MC12_018 | JX161746- JX161750 | JX161657- JX161661 |
| MC13 | Oriental | Huila | Pitalito | Vereda El Triunfo. Finca El Chircal, cerca de la quebrada El Pital. | 76.01672° W 1.80864° N | 1500 | GAS 1383 | 10 | 16 de julio de 2009 | MC13_042- MC13_50, MC13_053 | JX161759- JX161766, JX161767 | JX161679- JX161686, JX161687 |
| MC14 | Oriental | Huila | Timaná - Acevedo | Vereda Alto Santa Bárbara, reserva municipal para la protección del agua Acueducto "Cincoveredas". | 75.94211° W 1.87572° N | 1750 | GAS 1382 | 9 | 17 de julio de 2009 | MC14_062- MC14_071 | JX161768- JX161781 | JX161688- JX161703 |
| MC15 | Oriental | Huila | Suaza | Cuchilla de San Marcos - Serranía Peñas Blancas. Reserva del acueducto Santa Bárbara. | 75.934805° W 1.878417° N | 1960 | GAS 1384 | 4 | 17 de julio de 2009 | MC15_072- MC15_075 | JX161782- JX161785 | JX161704- JX161707 |

Anexo 2. Detalle de protocolos de extracción, amplificación y selección de marcadores para los análisis.

EXTRACCIÓN DE ADN

Se realizaron extracciones de ADN siguiendo los protocolos de (Doyle & Doyle, 1987) y (Jobes et al., 1995) a los que se les realizaron modificaciones durante el desarrollo de este trabajo. Los protocolos se detallan a continuación:

1. Doyle & Doyle (1987)

Este protocolo conocido como método CTAB es uno de los más difundidos y utilizados en trabajos de biología molecular, que se basa en la lisis celular con CTAB y posterior purificación del ADN con solventes orgánicos como el Fenol y el Cloroformo. Existen numerosas modificaciones publicadas con el fin de obtener los resultados necesarios para cada caso en particular, para este caso las principales modificaciones que se realizaron fueron el aumento de la concentración del Cloruro de Sodio con el *buffer* de lisis que estaría ayudando a la separación de polisacáridos y la adición de Acetato de Potasio concentrado como ayudante en la precipitación del ADN junto con el Isopropanol.

Reactivos utilizados

Buffer de lisis

Tris HCl 100mM

NaCl 2,5M

EDTA 20 mM

CTAB 2 % (p/v)

2-mercaptoetanol 1% (v/v)

Sarkosyl 5% (p/v)

Cloroformo - Isoamil alcohol 24:1 (CIA)

Isopropanol

Acetato de amonio 7,5% (p/v)

Etanol absoluto

Etanol 70% (v/v)

Buffer TE bajo en sal

Tris HCl 10mM

EDTA 0,1mM pH 8,0

Protocolo

1. Macerar tejido foliar desecado en mortero con nitrógeno líquido hasta obtener un polvo lo más fino posible. Es muy importante que el tejido esté completamente seco y lo más pulverizado posible, por lo tanto esta etapa exige un macerado fuerte ya que las hojas de *M. colombiana* son de consistencia coriácea, el tejido es muy flexible y difícil de romper.
2. Precalentar el buffer de lisis a 65°C y servir 0,8ml en tubos de 2ml. Agregar 16 ul de Sarkosyl 5%.
3. Adicionar 50-100mg de tejido foliar pulverizado y mezclar por agitación manual hasta homogenizar. Con cantidades menores de tejido también es posible obtener resultados positivos, pero con cantidades mayores el tejido absorbe totalmente el buffer y por lo tanto reduce las posibilidades obtener ADN.
4. Incubar a 65°C en baño de maría durante 10 minutos haciendo agitaciones frecuentes (p.ej. cada 3 min).
5. Dejar enfriar a temperatura ambiente y adicionar 0,8ml de CIA mezclar a mano vigorosamente durante 5 minutos.
6. Centrifugar a 14.000 rpm por 10 minutos.
7. Transferir el sobrenadante a un tubo de 1.5ml nuevo, en caso de pasar fracciones de las otras fases repetir desde el paso 6.
8. Agregar 0.8ml de Isopropanol helado (-20°C) y 80ul de Acetato de Amonio. Mezclar suavemente por inversión.
9. Incubar a -20°C *overnight*.
10. Centrifugar a 14.000 rpm por 10 minutos y descartar el sobrenadante.
11. Lavar el pellet con Etanol al 70% y repetir con Etanol absoluto.
12. Dejar secar bien el *pellet* y resuspenderlo en 50 ul de TE – RNAsa. Incubar por 10 minutos a 37°C.
13. Verificar la presencia, concentración y calidad del ADN por medio de electroforesis de agarosa al 1% y almacenarlo a -20°C.

2. Jobes et al. (1995)

El protocolo original consiste en la precipitación selectiva de polifenoles por acción de PVP, de polisacáridos por acción del Cloruro de Sodio de alta concentración y de RNA con ayuda de Cloruro de Litio de alta concentración. La óptima limpieza de estas sustancias es clave para asegurar la obtención del ADN y evitar inhibición en los procesos de amplificación de marcadores durante las PCR. En el artículo donde se describe el protocolo muestra su utilidad en especies de árboles de varios grupos, *Acer*

rubrum (Aceraceae), *Magnolia grandiflora* (Magnoliaceae), *Taxodium* sp. (Taxodiaceae) y *Pinus* sp. (Pinaceae). Adicionalmente (Ribeiro & Lovato, 2007) mostraron buenos resultados de este protocolo para la obtención de ADN de material colectado en sílica gel y de material de herbario de *Dalbergia* spp. (Fabaceae).

Reactivos utilizados

Buffer de lisis

CTAB 2% (p/v)

PVP 2% (p/v)

NaCl 1,5M

EDTA 20mM pH 8,0 nm

Tris HCl 100 mM

DTT 10mM

Acetato de sodio 100mM pH 4,8

SDS 5.25% (p/v)

Acetato de potasio 5M

NaCl 5M

Isopropanol

Etanol absoluto

Etanol 70%

Buffer TE bajo en sal

Tris HCl 10mM

EDTA 0,1mM pH 8,0

Protocolo

14. Macerar tejido foliar desecado en mortero con nitrógeno líquido hasta obtener un polvo lo más fino posible. Es muy importante que el tejido esté completamente seco y lo más pulverizado

posible, por lo tanto esta etapa exige un macerado fuerte ya que las hojas de *M. colombiana* son de consistencia coriácea, el tejido es muy flexible y difícil de romper.

15. Precalentar el buffer de lisis a 65°C y servir 0,9ml en tubos de 2ml. Adicionar Proteinasa K para obtener una concentración final de 100ug/ml.
16. Adicionar 50-100mg de tejido foliar pulverizado y mezclar por agitación manual hasta homogenizar. Con cantidades menores de tejido también es posible obtener resultados positivos, pero con cantidades mayores el tejido absorbe totalmente el buffer y por lo tanto reduce las posibilidades obtener ADN.
17. Incubar a 65°C en baño de maría durante 1h haciendo agitaciones frecuentes (p.ej. cada 10 min).
18. Adicionar SDS precalentado a 65°C para obtener una concentración final de 1,5% (v/v). Mezclar por agitación manual e incubar a 65°C durante 1h haciendo agitaciones frecuentes (p.ej. cada 10 min).
19. Dejar enfriar a temperatura ambiente y centrifugar 14.000 rpm por 10 minutos.
20. Transferir la fase líquida (superior) a un tubo nuevo de 2ml y agrega 1/3 del volumen obtenido de Acetato de potasio 5M. Mezclar suavemente por inversión e incubar a -20°C por 30 minutos.
21. Centrifugar a 14.000 rpm por 10 minutos a 4°C.
22. Transferir sobrenadante a un tubo nuevo de 1.5ml agregar el mismo volumen de Isopropanol helado (-20°C). Mezclar suavemente por inversión e incubar a -20°C *overnight*.
23. Centrifugar a 14.000 rpm por 20 minutos a 4°C. Descartar el sobrenadante.
24. Disolver el *pellet* en 100ul de agua HPLC. Adicionar ½ del volumen de NaCl 5M y agitar suavemente por inversión. Agregar dos veces el volumen de etanol absoluto, agitar suavemente por inversión e incubar a -20°C por 30 minutos.
25. Centrifugar a 14.000 rpm por 20 minutos a 4°C.
26. Descartar el sobrenadante, lavar el *pellet* con etanol 70% y repetir con etanol absoluto.
27. Dejar secar bien el *pellet* y resuspenderlo en 50 ul de TE – RNAsa. Incubar por 10 minutos a 37°C.
28. Verificar la presencia, concentración y calidad del ADN por medio de electroforesis de agarosa al 1% y almacenarlo a -20°C.

AMPLIFICACIÓN DE MARCADORES DEL ADN CLOROPLÁSTICO Y NUCLEAR

Se realizó amplificación de un total de siete marcadores, seis cloroplásticos *atpB-rbcL*, *trnS-trnG*, *trnL-trnF*, *psbA-trnH*, *rpl16* intrón, *petA-psbE* y uno nuclear (ITS1-ITS4). A continuación se muestra los materiales y protocolos utilizados.

Para todos los marcadores se realizaron reacciones en un volumen de 25µl con *Taq Buffer* con (NH₄)₂SO₄ 1x; MgCl₂ 2,5mM; dNTPs 0,2mM; Suero bovino (BSA) 0,2mg/ml; Cebador anverso 0,5mM; Cebador reverso 0,5mM; *Taq* Polimerasa 1U y 5µl de ADN de entre 5-10ng. Los primeros utilizados se listan en la Tabla 1.

Tabla 1. Listado de marcadores utilizados con las respectivas secuencias de los primer y referencias bibliográficas de donde se obtuvieron.

| Marcador | Secuencia de los primer | | Referencia |
|---------------------|---|--|---|
| | Forward | Reverse | |
| <i>atpB-rbcL</i> | 5' - GAA GTA GTA GGA TTG ATT CTC - 3' | 5' - TAC AGT TGT CCA TGT ACC AG - 3' | (Manen et al., 1994) |
| <i>trnL-trnF</i> | 5' - GGT TCA AGT CCC TCT ATC CC - 3' | 5' - ATT TGA ACT GGT GAC ACG AG - 3' | (Taberlet et al., 1991) |
| <i>psbA-trnH</i> | 5' - GTT ATG CAT GAA CGT AAT GCT - 3' | 5' - CGC GCA TGG TGG ATT CAC AAT CC - 3' | (Sang et al., 1997; Tate & Simpson, 2003) |
| <i>trnS-trnG</i> | 5' - GCC GCT TTA GTC CAC TCA GC - 3' | 5' - GAA CGA ATC ACA CTT TTA CCA C - 3' | (Hamilton, 1999) |
| <i>petA-psbE</i> | 5' - GCA TCT GTT ATT TTG GCA CA - 3' | 5' - TAC CTT CCC TAT TCA TTG CG - 3' | (Fofana et al., 1997) |
| <i>rpl16 intrón</i> | 5' - CCA ACA CAT CAC TTC GGA TT - 3' | 5' - GCT CCT CGC GAA TGA AGT AA - 3' | (Chacón et al., 2005) |
| ITS 1 - ITS 2 | 5' - TCC GTA GGT GAA CCT GCG G - 3' | 5' - TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC - 3' | (White et al., 1990) |

Las reacciones de amplificación se realizaron en un termociclador marca Biorad con temperatura inicial de 94° por 4 minutos, 35 ciclos con temperaturas y tiempos de acuerdo a cada marcador (Tabla 2) y 10 minutos de extensión final.

Tabla 2. Tiempos y temperaturas de denaturación, alineamiento y extensión optimizadas para los marcadores utilizados en los análisis de diversidad, estructura genética y filogenético para *Matudaea colombiana*.

| <i>trnL - trnF</i> <i>atpB - rbcL</i> | intrón <i>rpl16</i> | <i>trnS - trnG</i> | <i>psbA-trnH</i> | <i>petA-psbE</i> | ITS 1 - ITS 4 |
|--|---------------------|--------------------|------------------|------------------|---------------|
| 94° 1' | 94° 1' | 94° 1' | 94° 1' | 94° 1' | 94° 1' |
| 51° 1' | 46° 1' | 50° 1' | 55° 1' | 52° 1' | 50,5° 1' |
| 72° 1' | 65° 1, 5' | 72° 1' | 72° 1' | 72° 1' | 72° 1' |

La calidad de los productos de PCR se verificó en electroforesis de agarosa al 1% y se visualizó en luz UV con EZ-Vision (Amresco, Solon USA). Los productos se almacenaron a -20°C, posteriormente se purificaron con el kit Wizard SV PCR Clean-Up de Promega (Madison, WI, USA) y se enviaron a

secuenciar al servicio de secuenciación y análisis molecular del Instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia (<http://www.ssigmol.unal.edu.co/>).

SELECCIÓN DE MARCADORES PARA LOS ANÁLISIS

Para cada uno de los marcadores moleculares mencionados en las Tabla 1 y Tabla 2 se evaluó la existencia de polimorfismos a nivel intra- e interpoblacional, para este fin se escogieron cinco individuos de una de las poblaciones de Guaduas, Cundinamarca (MC12_013, MC12_015–MC12_018) y otros 10 individuos de poblaciones distribuidos en todo el rango geográfico de *M. colombiana* (MC02_022, MC03_002, MC04_001, MC04_061, MC05_108, MC07_110, MC09_085, MC10_090, MC13_053 y MC14_063; Anexo 1).

Las regiones que presentaron polimorfismos a dentro y entre poblaciones de *M. colombiana* fueron *atpB-rbcL* (2 SNPs) y *trnS-trnG* (3 SNPs), no se encontraron *indels* en el alineamiento (*cf.* Tablas 7 y 8 del texto principal), por lo tanto se incluyeron en el análisis de diversidad y estructura poblacional. Las cuatro regiones del cpADN restantes no presentaron ningún polimorfismo a este nivel. Para el análisis filogenético se utilizaron adicionalmente *trnL-trnF* y *psbA-trnH* debido a que estas cuatro presentan secuencias de otros géneros de Hamamelidaceae y Altingiaceae en *Genbank*, que fueron incluidas en el análisis (*cf.* Tabla 1 del texto principal y Anexo 3).

La región del ADN nuclear ITS 1-2 presentó polimorfismos a nivel intra-específico, pero antes de incluirlo en los análisis se evaluó la posibilidad de encontrar múltiples copias de la región ITS dentro de un individuo (secuencias parálogas, (Álvarez & Wendel, 2003)). Para esto se realizó la clonación de los productos de PCR para los individuos MC02_022 y MC12_015 (Guaduas y Betania; Anexo 1) por medio del kit pGem T-Easy Vector System (Cat. No. A1380) de Promega (Madison, USA). Se secuenciaron cuatro clones de cada muestra y se alinearon junto a las secuencias obtenidas para los individuos MC04_001, MC12_013, MC12_016, MC12_017, MC13_053 y MC14_062. El alineamiento realizado mostró que existen secuencias parálogas para este marcador y que la divergencia intra-individual llega a superar a inter-poblacional por lo que se excluyó este marcador de este estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez I. & Wendel J.F. (2003) Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. *Molecular phylogenetics and evolution*, **29**, 417–434.
- Chacón M.I., Pickersgill B., & Debouck D.G. (2005) Domestication patterns in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and the origin of the Mesoamerican and Andean cultivated races. *Theoretical and Applied Genetics*, **110**, 432–444.
- Doyle J.J. & Doyle J. (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin of the Botanical Society of America*, **19**, 11–15.
- Fofana B., Harvengt L., Baudoin J., & Dujardin P. (1997) New primers for the polymerase chain amplification of cpDNA intergenic spacers in *Phaseolus* phylogeny. *Belgian Journal of Botany*, **129**, 118–122.
- Hamilton M. (1999) Four primer pairs for the amplification of chloroplast intergenic regions with intraspecific variation. *Molecular ecology*, **8**, 521–523.
- Jobes D.V., Hurley D.L., & Thien L.B. (1995) Plant DNA Isolation: A Method to Efficiently Remove Polyphenolics, Polysaccharides, and RNA. *Taxon*, **44**, 379–386.
- Manen J.-F., Natali A., & Ehrendorfer F. (1994) Phylogeny of Rubiaceae-Rubieae inferred from the sequence of a cpDNA intergene region. *Plant Systematics and Evolution*, **190**, 195–211.
- Ribeiro R.A. & Lovato M.B. (2007) Comparative analysis of different DNA extraction protocols in fresh and herbarium specimens of the genus *Dalbergia*. *Genet. Mol. Res*, **6**, 173–187.
- Sang T., Crawford D.J., & Stuessy T.F. (1997) Chloroplast DNA phylogeny, reticulate evolution, and biogeography of *Paeonia* (Paeoniaceae). *American Journal of Botany*, **84**, 1120–1136.
- Taberlet P., Gielly L., Pautou G., & Bouvet J. (1991) Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology*, **17**, 1105–1109.
- Tate J.A. & Simpson B.B. (2003) Paraphyly of *Tarasa* (Malvaceae) and Diverse Origins of the Polyploid Species. *Systematic Botany*, **28**, 723–737.
- White T.J., Bruns T., Lee S., & Taylor M. (1990) Amplifications and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *Protocols: A guide to methods and applications* (ed. by M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Shinsky, and T.J. White), pp. 315–322. Academic Press Inc., New York.,

Anexo 3. Información de los taxa y secuencias obtenidas del Genbank para los tres análisis filogenéticos realizados.

| Especie | <i>trnL-trnF</i> | | <i>atpB-rbcL</i> | | <i>trnS-trnG</i> | | <i>psbA-trnH</i> | |
|---------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | No. accesion | Ejemplar testigo |
| <i>Corylopsis glabrescens</i> | GU576816.1 | Wen 584 | GU576577.1 | Wen 584 | AB237116.1 | clone:144 | GU576749.1 | Wen 584 |
| <i>Exbucklandia tonkinensis</i> | GU576821.1 | Wen 8510 | GU576581.1 | Wen 8510 | DQ352294.1 | Ickert-Bond 1269 | GU576753.1 | Wen 8510 |
| <i>Hamamelis virginiana</i> | DQ352196.1 | Wen 6229 | GU576597.1 | Wen 6229 | DQ352292.1 | Wen 6229 | GU576769.1 | Wen 6229 |
| <i>Loropetalum chinense</i> | GU576843.1 | Yi 08509 | GU576603.1 | Yi 08509 | AB237129.1 | clone:157 | GU576775.1 | Yi 08509 |
| <i>Rhodoleia championii</i> | GU576846.1 | Wen 11013 | GU576606.1 | Wen 11013 | DQ352293.1 | Ickert-Bond 1293 | GU576777.1 | Wen 11013 |
| <i>Liquidambar styraciflua</i> | GU576841.1 | Wen 8717 | GU576601.1 | Wen 8717 | DQ352314.1 | Wen 7169 | GU576773.1 | Wen 8717 |
| <i>Liquidambar formosana</i> | DQ352221.1 | Ickert-Bond 1363 | EU595852.1 | Ickert-Bond 1363 | DQ352318.1 | Ickert-Bond 1363 | EU595861.1 | Ickert-Bond 1363 |
| <i>Altingia yunnanensis</i> | DQ352211.1 | Ickert-Bond 1295 | EU595848.1 | Ickert-Bond 1295 | DQ352308.1 | Ickert-Bond 1295 | EU595857.1 | Ickert-Bond 1295 |
| <i>Liquidambar acalycina</i> | DQ352216.1 | Wen 8146-11 | EU595851.1 | Wen 8146-11 | DQ352313.1 | Wen 8146-11 | EU595860.1 | Wen 8146-11 |
| <i>Altingia obovata</i> | DQ352208.1 | Ickert-Bond 1372 | EU595853.1 | Ickert-Bond 1372 | DQ352305.1 | Ickert-Bond 1372 | EU595862.1 | Ickert-Bond 1372 |

Anexo 4. Información de tallada de los fósiles utilizados como puntos de calibración en los análisis filogenéticos para realizar la datación de los tiempos de divergencia siguiendo las recomendaciones de (Sauquet et al., 2012).

| IDENTIDAD DEL FÓSIL | | | | ASIGNACIÓN AL NODO | | DATACIÓN | | | |
|---------------------------------|----------------------------------|--|--|------------------------|-----------------------------------|--------------|---|-------------|---|
| Taxa | Referencias | Órgano | Localidad | | Nodo | Método | Formación - Periodo | Edad (Ma) | Metodología |
| <i>Microaltingia apocarpela</i> | (Zhou et al., 2001)1) | Inflorescencias pistiladas, polen sobre los estigmas, semillas y frutos. | Old Crossman Clay Pit, Sayreville, New Jersey. USA | | Altingiaceae (stem clade) | Filogenético | Formación Raritan. Turoniano tardío | 88.5 - 90.4 | Palinología (Doyle & Robbins, 1977) |
| - | (Takahashi et al., 1999)9) | Flores y semillas | Fukushima, Honshu, Japón. | | Hamamelidoideae (Crown clade) | Intuitivo | Formación Ashizawa, Coniaciano tardío, Cretácico tardío. | 89 - 85 | Presencia de amonitas e inoceramidas (Takahashi et al., 1999) |
| <i>Allonia decandra</i> | (Magallon-Puebla et al., 1996)6) | Flores (cáliz, corola, estambres, polen). | Allon Quarry. Roberta, Georgia, USA. | 32°37'47"N, 83°59'10"W | Clado Loropetaloide (crown clade) | Filogenético | Santoniano tardío - Campaniano temprano, Cretácico tardío | 83.5 - 85.5 | Palinología (Herendeen et al., 1999) |
| <i>Androdecidua endressii</i> | (Magallon et al., 2001)1) | Flores (cáliz, corola, estambres, polen). | Allon Quarry. Roberta, Georgia, USA. | 32°37'47"N, 83°59'10"W | Clado Loropetaloide (crown clade) | Filogenético | Santoniano tardío, Cretácico tardío | 83.5 - 85.5 | Palinología (Herendeen et al., 1999) |

| | | | | | | | | | |
|----------------------------|--|-----------------|---|------------------|---|--------------|---|------|----------------------------|
| <i>Liquidambar changii</i> | (Pigg et al., 2004)4) | Infrutescencias | "County Line Holes". Yakima Canyon area of central Washington State. USA. | | <i>Liquidambar</i> clado asiático (crown clade) | Filogenético | Columbia River Basalt group. Mioceno medio. | 15.6 | Geocronología con Ar 40/39 |
| <i>Matudaea menzelii</i> | (Mai & Walther, 1978; Lundell, 1979; Kunzmann & Walther, 2012)2) | Hojas | "Haselbach floral assemblage", Leipzig. Alemania | 51.07°N, 12.43°E | <i>Matudaea</i> (crown clade) | Intuitivo | Rupelian, Oligoceno medio. | 28 | |

BIBLIOGRAFÍA

- Doyle J.A. & Robbins E.I. (1977) Angiosperm pollen zonation of the continental cretaceous of the Atlantic coastal plain and its application to deep wells in the Salisbury embayment. *Palynology*, **1**, 41–78.
- Herendeen P.S., Magallon-Puebla S., Lupia R., Crane P.R., & Kobylinska J. (1999) A preliminary conspectus of the Allon flora from the Late Cretaceous (late Santonian) of central Georgia, USA. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **86**, 407–471.
- Kunzmann L. & Walther H. (2012) Early Oligocene plant taphocoenoses of the Haselbach megafloral complex and the reconstruction of palaeovegetation. *Palaeobiodiversity and Palaeoenvironments*, **92**, 295–307.
- Lundell C.L. (1979) A Fossil Species of *Matudaea* Lundell (Hamamelidaceae) from the Middle Oligocene of Central Europe. *Wrightia*, **6**, 59.

- Magallon S., Herendeen P.S., & Crane P.R. (2001) *Androdecidua endressii* gen. et sp. nov., from the Late Cretaceous of Georgia (United States): Further Floral Diversity in Hamamelidoideae (Hamamelidaceae). *International Journal of Plant Sciences*, **162**, 963–983.
- Magallon-Puebla S., Herendeen P.S., & Endress P.K. (1996) *Allonia decandra*: floral remains of the tribe Hamamelideae (Hamamelidaceae) from Campanian strata of southeastern USA. *Plant Systematics and Evolution*, **202**, 177–198.
- Mai D. & Walther H. (1978) Die Floren der Haselbacher Serie im Weißelster-Becken (Bezirk Leipzig, DDR). *Abh Staatl Mus Mineral Geol Dresden*, **28**, 1–101.
- Pigg K.B., Ickert-Bond S.M., & Wen J. (2004) Anatomically preserved Liquidambar (Altingiaceae) from the middle Miocene of Yakima Canyon, Washington state, USA, and its biogeographic implications. *American Journal of Botany*, **91**, 499–509.
- Sauquet H., Ho S.Y.W., Gandolfo M.A., Jordan G.J., Wilf P., Cantrill D.J., Bayly M.J., Bromham L., Brown G.K., Carpenter R.J., Lee D.M., Murphy D.J., Sniderman J.M.K., & Udovicic F. (2012) Testing the Impact of Calibration on Molecular Divergence Times Using a Fossil-Rich Group: The Case of Nothofagus (Fagales). *Systematic Biology*, **61**, 289–313.
- Takahashi M., Crane P.R., & Ando H. (1999) Fossil Flowers and Associated Plant Fossils from the Kamikitaba Locality (Ashizawa Formation, Futaba Group, Lower Coniacian, Upper Cretaceous) of Northeast Japan. *Journal of Plant Research*, **112**, 187–206.
- Zhou Z., Crepet W.L., & Nixon K.C. (2001) The Earliest Fossil Evidence of the Hamamelidaceae: Late Cretaceous (Turonian) Inflorescences and Fruits of Altingioideae. *American Journal of Botany*, **88**, 753–766.

Anexo 5. Lista de localidades de *Matudaea trinervia* y *M. colombiana* utilizadas para realizar los modelos de nicho ecológico.

| Espece | Longitud | Latitud |
|---------------------|--------------|-------------|
| <i>M. trinervia</i> | -100.2875 | 18.8125 |
| <i>M. trinervia</i> | -100.4208333 | 18.85416667 |
| <i>M. trinervia</i> | -100.4458333 | 18.85416667 |
| <i>M. trinervia</i> | -100.4708333 | 18.87083333 |
| <i>M. trinervia</i> | -104.1291667 | 19.4875 |
| <i>M. trinervia</i> | -104.2291667 | 19.52916667 |
| <i>M. trinervia</i> | -104.2375 | 19.54583333 |
| <i>M. trinervia</i> | -104.2541667 | 19.59583333 |
| <i>M. trinervia</i> | -104.2541667 | 19.72916667 |
| <i>M. trinervia</i> | -104.2625 | 19.5375 |
| <i>M. trinervia</i> | -104.2791667 | 19.57916667 |
| <i>M. trinervia</i> | -82.97916667 | 9.420833333 |
| <i>M. trinervia</i> | -83.45416667 | 9.970833333 |
| <i>M. trinervia</i> | -83.8125 | 9.729166667 |
| <i>M. trinervia</i> | -83.90416667 | 9.770833333 |
| <i>M. trinervia</i> | -83.90416667 | 9.795833333 |
| <i>M. trinervia</i> | -83.92916667 | 9.779166667 |
| <i>M. trinervia</i> | -83.9375 | 9.779166667 |
| <i>M. trinervia</i> | -83.95416667 | 9.729166667 |
| <i>M. trinervia</i> | -83.95416667 | 9.820833333 |
| <i>M. trinervia</i> | -83.9625 | 9.795833333 |
| <i>M. trinervia</i> | -83.97083333 | 9.7875 |
| <i>M. trinervia</i> | -83.97083333 | 9.795833333 |
| <i>M. trinervia</i> | -84.5125 | 10.02916667 |
| <i>M. trinervia</i> | -85.4125 | 10.97916667 |
| <i>M. trinervia</i> | -85.4125 | 11.02916667 |
| <i>M. trinervia</i> | -85.42083333 | 10.9875 |
| <i>M. trinervia</i> | -85.42083333 | 11.02916667 |
| <i>M. trinervia</i> | -85.42916667 | 10.9875 |
| <i>M. trinervia</i> | -85.42916667 | 11.00416667 |
| <i>M. trinervia</i> | -85.62083333 | 13.52083333 |
| <i>M. trinervia</i> | -85.67083333 | 13.27916667 |
| <i>M. trinervia</i> | -85.70416667 | 13.24583333 |
| <i>M. trinervia</i> | -85.70416667 | 13.27916667 |
| <i>M. trinervia</i> | -85.72916667 | 13.37916667 |
| <i>M. trinervia</i> | -85.72916667 | 13.54583333 |
| <i>M. trinervia</i> | -85.72916667 | 13.57916667 |

| Espece | Longitud | Latitud |
|---------------------|--------------|-------------|
| <i>M. trinervia</i> | -85.87916667 | 13.02916667 |
| <i>M. trinervia</i> | -86.15416667 | 14.02916667 |
| <i>M. trinervia</i> | -86.1875 | 13.97916667 |
| <i>M. trinervia</i> | -86.1875 | 13.9875 |
| <i>M. trinervia</i> | -86.82916667 | 15.69583333 |
| <i>M. trinervia</i> | -88.07083333 | 14.34583333 |
| <i>M. trinervia</i> | -88.07083333 | 14.35416667 |
| <i>M. trinervia</i> | -89.35416667 | 14.42083333 |
| <i>M. trinervia</i> | -90.22916667 | 15.77916667 |
| <i>M. trinervia</i> | -92.27083333 | 15.47083333 |
| <i>M. trinervia</i> | -92.2875 | 15.5125 |
| <i>M. trinervia</i> | -92.30416667 | 15.54583333 |
| <i>M. trinervia</i> | -92.3125 | 15.5375 |
| <i>M. trinervia</i> | -92.3125 | 15.55416667 |
| <i>M. trinervia</i> | -92.3125 | 15.5625 |
| <i>M. trinervia</i> | -92.32083333 | 15.54583333 |
| <i>M. trinervia</i> | -92.57083333 | 15.14583333 |
| <i>M. trinervia</i> | -92.6125 | 15.4125 |
| <i>M. trinervia</i> | -92.80416667 | 15.64583333 |
| <i>M. trinervia</i> | -96.82083333 | 19.79583333 |
| <i>M. trinervia</i> | -97.02083333 | 16.12916667 |
| <i>M. trinervia</i> | -97.22083333 | 19.84583333 |
| <i>M. trinervia</i> | -97.22083333 | 19.92083333 |
| <i>M. trinervia</i> | -97.22083333 | 19.92916667 |
| <i>M. trinervia</i> | -97.30416667 | 19.99583333 |
| <i>M. trinervia</i> | -97.30416667 | 20.00416667 |
| <i>M. trinervia</i> | -97.30416667 | 20.02916667 |
| <i>M. trinervia</i> | -97.3125 | 19.8125 |
| <i>M. trinervia</i> | -97.32083333 | 20.15416667 |
| <i>M. trinervia</i> | -97.37083333 | 20.0125 |

| Especie | Longitud | Latitud |
|----------------------|-----------------|----------------|
| <i>M. colombiana</i> | -72.77083333 | 6.429166667 |
| <i>M. colombiana</i> | -73.42916667 | 6.170833333 |
| <i>M. colombiana</i> | -73.42916667 | 6.179166667 |
| <i>M. colombiana</i> | -73.4375 | 6.1625 |
| <i>M. colombiana</i> | -74.55416667 | 5.0125 |
| <i>M. colombiana</i> | -74.5625 | 5.004166667 |
| <i>M. colombiana</i> | -75.67083333 | 4.6375 |
| <i>M. colombiana</i> | -75.67083333 | 4.645833333 |
| <i>M. colombiana</i> | -75.67916667 | 6.220833333 |
| <i>M. colombiana</i> | -75.6875 | 6.1125 |
| <i>M. colombiana</i> | -75.6875 | 6.120833333 |
| <i>M. colombiana</i> | -75.69583333 | 6.120833333 |
| <i>M. colombiana</i> | -75.92916667 | 1.879166667 |
| <i>M. colombiana</i> | -75.9375 | 1.879166667 |
| <i>M. colombiana</i> | -75.94583333 | 1.879166667 |
| <i>M. colombiana</i> | -76.0125 | 1.804166667 |
| <i>M. colombiana</i> | -76.0125 | 5.745833333 |
| <i>M. colombiana</i> | -76.02083333 | 1.8125 |
| <i>M. colombiana</i> | -76.02083333 | 5.729166667 |
| <i>M. colombiana</i> | -76.02083333 | 5.7375 |
| <i>M. colombiana</i> | -76.02083333 | 5.745833333 |
| <i>M. colombiana</i> | -76.10416667 | 1.620833333 |
| <i>M. colombiana</i> | -76.10416667 | 1.629166667 |
| <i>M. colombiana</i> | -76.1375 | 1.6625 |
| <i>M. colombiana</i> | -76.22083333 | 6.3375 |
| <i>M. colombiana</i> | -76.52083333 | 2.504166667 |
| <i>M. colombiana</i> | -76.52083333 | 2.520833333 |
| <i>M. colombiana</i> | -76.52916667 | 2.5125 |
| <i>M. colombiana</i> | -76.64583333 | 2.4375 |