

# Relaciones filogenéticas, según el gen citocromo oxidasa I (COI), entre la fauna Ibero-Marroquí de *Cataglyphis* grupo *albicans* (Hym. Formicidae)

ANDRÉS DE HARO<sup>1</sup>, NITU PAGÈS<sup>2</sup> y VÍCTOR SARTO I MONTEYS<sup>2</sup>

1. Departament de Biologia Animal, Vegetal i Ecologia. Universitat Autònoma de Barcelona.08193 Bellaterra-Cerdanyola (Spain). a.deharo@terra.es

2. CReSA-Entomologia. Campus de Bellaterra, Edifici CReSA. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra-Cerdanyola(Spain). Nitu.pages@cresa.uab.es; Victor.sarto@cresa.uab.es

Recibido: 11-03-2005. Aceptado: 14-04-2005

ISSN: 0210-8984

## RESUMEN

La secuenciación de un fragmento del gen citocromo oxidasa I (COI), pone de manifiesto las relaciones filogenéticas entre las especies del género *Cataglyphis* grupo *albicans*, tanto dentro de la Península Ibérica, como en Marruecos Dentro de la fauna ibérica, *C.douwesi* y *C.rosenhaueri* se muestran como especies hermanas y las más recientemente diferenciadas. Están estrechamente relacionadas con *C.gadeai* siendo las tres especies de separación más reciente. *C.ibericus* se muestra la más alejada genéticamente y antigua y es especie hermana de la antecesora de las otras tres especies ibéricas, con un tiempo estimado de divergencia de 960.000 años En cuanto a la fauna africana, *C.albicans* es una especie hermana de *C.ruber*, aunque muy alejadas ya genéticamente entre sí. La antecesora de estas dos especies puede ser considerada como la especie originaria de la colonización ibérica, con un tiempo de divergencia de 2.482.000 años. *C.cubicus* es la más primitiva del grupo *albicans* estudiado aquí y es especie hermana de la antecesora del resto de la fauna ibero-marroquí. Es muy diferente del conjunto, como se ve también en la volsella de los machos.

**Palabras clave.** *Cataglyphis*, Hymenoptera, Formicidae, grupo *albicans*, gen COI, filogenia, fauna ibero-marroquí.

## ABSTRACT

**Mitochondrial Cytochrome Oxidase I gene (COI), and phylogenetic relationship among the Ibero-Moroccan fauna of *Cataglyphis*, group *albicans* (Hym.Formicidae)**

The sequencing of the COI gene shows the phylogenetic relationship among the Iberian species of *Cataglyphis*, group *albicans* (Hym.Formicidae) as well as those of the same group from Morocco. Within the Iberian fauna, *C. douwesi* and *C. rosenhaueri* were found to be sister species and those that differentiated most recently. These two species are very closely

related to *C. gadeai*, being those that separated most recently. *C. ibericus* is the oldest and the sister species of the ancestor of the other three Iberian species, with an estimated divergence time of 960.000 years. As for the African fauna, *C. albicans* is a sister species of *C. ruber*, although genetically quite distant from each other. The ancestor of these two species can be considered to have originated the Iberian fauna, with 2.482.000 years of divergence time. *C. cubicus* is the most primitive of the *albicans* group studied here and the sister species of the ancestor of the remaining Iberian and Moroccan fauna. It is very different from the rest, as also reflected by the volsella of the males.

We consider the description of *C. albicans* made by EMERY (1906) to be the original one for the species, the type specimens of workers and sexuate ants from Kairouan (Tunisia) being held in the Col. Emery in the Museo Civico Di Storia Naturale (Genova, Italy). We consider the description of *C. ibericus* (de HARO & COLLINGWOOD, 2003) to be the original one for the species, its typespecimens of workers and sexuates used in this description being held in the Zoology Laboratory of the Universitat Autònoma de Barcelona (Spain).

**Key words:** *Cataglyphis*, Hymenoptera, Formicidae, *albicans* group, mitochondrial gene COI, phylogeny, Ibero - Moroccan fauna, genetic divergence.

## INTRODUCCIÓN

Los estudios filogenéticos, de tanta tradición en el quehacer zoológico, tropezaban a veces con una gran barrera a la hora de plantearse las relaciones entre las especies animales. La carencia de datos estructurales precisos que permitieran ahondar en las raíces comunes de la organización animal, fue superada por la posibilidad de analizar estructuras a nivel molecular, que han permitido desarrollar técnicas finas que permiten sobrepasar las barreras de morfología microscópica. Las técnicas de secuenciación molecular, se han convertido así en un complemento necesario para las morfológicas, habiéndose aclarado muchos problemas de orden filogenético, de tal forma que estas técnicas forman ya parte de la metodología zoológica. Así, en nuestro país, entre otros, HASEGAWA *et al.* (2002), pueden enfrentarse con los problemas taxonómicos planteados por las relaciones entre las hormigas esclavistas *Rossomyrmex* Arnoldi, 1928 y *Polyergus* Latreille, 1804. También STEINER *et al.* (2004), estudian la filogenia de la hormiga *Lasius austriacus* Schlick-Steiner, Steiner & Schoeld, 2003.

En el presente trabajo nos planteamos las relaciones filogenéticas de un grupo estudiado durante años por uno de nosotros, tanto en Africa como en la Península Ibérica: el grupo *albicans* del género *Cataglyphis* (Hym. Formicidae), así como el tiempo de divergencia genética entre sus especies.

Consideramos que la descripción de EMERY (1906) de *C. albicans*, se corresponde con la del tipo de la especie y los ejemplares de la Col. Emery de Kairouan (Túnez) (2 ♂♂ y 3 obreras, Santschi *leg.*) depositados en el Museo Cívico Di Storia Naturale de Génova (Italia) son los tipos y

la morfología de sus obreras coinciden con los ejemplares utilizados para este trabajo molecular. Consideramos la descripción de *Cataglyphis ibericus* (de HARO & COLLINGWOOD, 2003), como tipo de la especie y el material de obreras y sexados de Bellaterra-Cerdanyola (Barcelona), que han servido para su descripción, como los tipos, depositados en las colecciones del Laboratorio de Zoología del Departament de Biología Animal, Vegetal i Ecología de la Universitat Autònoma de Barcelona (25 obreras, 2 ♂♂ y 2 ♀♀ en alcohol de 70%, así como 1 ♂, 1 ♀ y 1 obrera, metalizadas para su estudio al microscopio electrónico de rastreo).

## ANTECEDENTES

Las hormigas del género *Cataglyphis* Foerster, 1850 forman un conjunto de insectos muy ágiles, básicamente insectívoros y de origen probablemente sahariano (BERNARD, 1968). Es este un género muy sensible a las diferentes barreras ambientales, lo que facilita su diferenciación morfológica y etológica. Se han descrito numerosas subespecies, variedades o razas, con 118 taxones para la fauna mundial, de los que sólo unos 31 han sido a nivel taxonómico de especie (TINAUT & PLAZA, 1989). Con toda probabilidad, después de estudios minuciosos, algunas de estas variedades podrán elevarse al rango específico.

La primera especie descrita del grupo que nos ocupa, ha sido *Cataglyphis albicans* (Roger, 1859), de color negro y de Africa del Norte, pero sin localidad concreta y de la que no se conservan los tipos. EMERY (1906) la redescubre y dice que la forma típica de la especie se encuentra en Argelia y Túnez. WEHNER (1983), vuelve a figurar la genitalia de los machos de Túnez, aunque con pequeñas diferencias con Emery en la placa subgenital. CAGNIANT (1973) la encuentra extendida por Argelia y COLLINGWOOD (1985), considera que las obreras de Arabia Saudí son las típicas de la especie.

Según datos biogeográficos, el grupo *albicans* se ha originado probablemente en el Norte de Africa y presenta amplia representación africana y asiática. Se ha diferenciado morfológicamente en el transcurso de su colonización de Africa del Norte, Oriente Medio, Arabia Saudí, Turquía, Irak, Pakistán, Etiopía y Sudán (AGOSTI, 1990). Este grupo, según CAGNIANT & ESPADALER (1993) está representado en Marruecos atlántico, desde el Océano hasta los Atlas, por tres especies: *C. albicans*, *C. ruber* (Forel, 1903) y *C. cubicus* (Forel, 1903). (Ver también de HARO & *al.*, 2005, en prensa). *C. albicans* es la forma negra ampliamente extendida, mientras que *C. ruber* y *C. cubicus* son formas bicoloreadas y más localizadas, de cabeza y tórax rojo y abdomen negro.

En España hay cuatro especies endémicas de este grupo *albicans*: *C. rosenhaueri* (Emery, 1906), forma bicoloreada que se extiende por el Valle del Guadalquivir; *C. douwesi* de Haro & Collingwood, 2000 de color negro, que se extiende por el litoral suratlántico ibérico; *C. gadeai* de Haro & Collingwood, 2003, de color negro, que se extiende por el litoral mediterráneo desde el Cabo de Gata (Almería), hasta Castellón y *C. ibericus* (Emery, 1906), de color negro, desde el litoral del delta del Ebro hasta Barcelona y Monegros (Zaragoza).

Dadas las relaciones morfológicas entre los componentes del grupo *albicans*, en el presente trabajo queremos determinar el parentesco genético y relaciones filogenéticas existentes entre las poblaciones de hormigas de este grupo de la fauna ibérica por un lado y las tres especies de la fauna marroquí por el otro.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Para realizar el estudio filogenético de las hormigas del género *Cataglyphis*, se seleccionó una región de 522 pb (*primers* incluidos) del gen mitocondrial citocromo oxidasa I. La extracción de DNA mitocondrial se realizó utilizando individuos enteros para aumentar su concentración. La Tabla 1 recoge los lugares de captura de los individuos estudiados y cómo fueron conservados hasta proceder a dicha extracción. El material conservado a  $-70^{\circ}\text{C}$ , fue introducido en el campo en un criostato portátil con nitrógeno líquido.

**Tabla 1.** Localidades y tipos de conservación de las especies estudiadas.

**Table 1.** Localities and mode of conservation of the species.

<i>Especie</i>	<i>Localidad</i>	<i>País/Zona</i>	<i>Año de captura</i>	<i>Tipo de conservación</i>
<i>Cataglyphis albicans</i>	Guercif	Marruecos	2002	ETOH 70%
<i>Cataglyphis cubicus</i>	Azrou	Marruecos	2004	ETOH 95%
<i>Cataglyphis douwesi</i>	Tarifa	Cádiz	1994	Congelado $-70^{\circ}\text{C}$
<i>Cataglyphis gadeai</i>	Cabo de Gata	Almería	2004	ETOH 95
<i>Cataglyphis ibericus</i>	Bellaterra	Barcelona	1994	Congelado $-70^{\circ}\text{C}$
<i>Cataglyphis rosenhaueri</i>	Rocío	Huelva	1994	Congelado $-70^{\circ}\text{C}$
<i>Cataglyphis ruber</i>	Missour	Marruecos	2004	ETOH 95%
<i>Formica rufibarbis</i>	Bellaterra	Barcelona	2004	Congelado $-20^{\circ}\text{C}$

Cada hormiga fue homogeneizada en un tubo de 1.5 mL con PBS, utilizando un micropistilo. A continuación, la extracción de DNA se realizó utilizando el kit *DNeasy Tissue Kit* (Qiagen, Crawley, U.K.), eluyendo el DNA en 100µL para aumentar su concentración final.

Las reacciones de amplificación mediante PCR fueron realizadas en un volumen final de 50µL, utilizando 2mM MgCl<sub>2</sub>, 1mM dNTP's, 0.3 mM de cada *primer* y una unidad de EcoTaq polimerasa. Los *primers* utilizados fueron **C1-J-1718**: 5' GGA GGA TTT GGA AAT TGA TTA GTT CC 3' y **C1-N-2191**: 5' CCC GGT AAA ATT AAA ATA TAA ACT TC 3' (SIMON *et al.*, 1994). Éstas se llevaron a cabo en un termociclador *GeneAmp® PCR System 9700* (Applied Biosystems, U.K.), con las condiciones siguientes: 94°C 3 minutos, seguido de 35 ciclos de 94°C 30 segundos, 54 °C 35 segundos, 72°C 40 segundos, y una extensión final de 72°C durante 7 minutos.

La comprobación de la amplificación se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5% (*1 x Tris-acetate* EDTA) y para visualizar el DNA se añadió *Sybr Green Nucleic Acid Gel Stain 1:100000* diluido en la muestra. La purificación de la reacción de PCR se realizó con el kit *QIAquick PCR Purification Kit* (Qiagen, Crawley, U.K.), y en el caso de formación de dímeros de *primer* o de obtener bandas inespecíficas en la PCR, se utilizó el kit *QIAquick Gel Extraction Kit* (Qiagen, Crawley, U.K.). Una nueva electroforesis en gel de agarosa fue realizada para verificar la purificación del amplicón de 522 pb a secuenciar.

La reacción de secuenciación del DNA purificado fué realizada en un secuenciador automático modelo *Abi Prism 3100 Avant Genetic Analyzer* (Applied Biosystems, U.K.), utilizando los *primers* originales (C1-J-1718/ C1-N-2191) y el *Big Dye Terminator V3.1. Cycle Sequencing Kit* (Applied Biosystems).

Las secuencias obtenidas fueron alineadas manualmente utilizando el programa *BioEdit Sequence Alignment Editor* version 5.0.9. (HALL, 1999). Posteriormente, con el programa MEGA 2.1 (KUMAR *et al.*, 2001), y el método de *neighbor-joining*, utilizando el *pairwise distance Tamura-3 parameter*, con un *bootstrap* de 1500, se elaboró un árbol filogenético con las diferentes especies estudiadas.

## RESULTADOS

En la Tabla 2 se ofrece las secuencias de nucleótidos de las 7 especies estudiadas de *Cataglyphis*, más *Formica rufibarbis* Fabricius, 1793. Las secuencias de *Cataglyphis* tienen una longitud de 472 nucleótidos, ya que se han utilizado los *primers* C1J1718 y C1N2191 diseñados en SIMON *et al.*

**Tabla 2.** Secuencias de 472 pares de bases de las especies analizadas, correspondientes a un fragmento del gen COI. Los nucleótidos invariables están sombreados de negro.

**Table 2.** Sequencing of 472 bp of the species studied, corresponding to a fragment of the gene COI. Invariable nucleotids are shaded in black.

C. douwesi	1	TTTAATAC TAGGTTCC	CCAGATATAGCTTATCCA	CGAATAAA	CAATATAAGATTTTGATT
C. rosenhaueri	1	TTTAATAC TAGGTTCC	CCAGATATAGCTTATCCA	CGAATAAA	CAATATAAGATTTTGATT
C. gadeai	1	TTTAATAC TAGGTTCC	CCAGATATAGCTTATCCA	CGAATAAA	CAATATAAGATTTTGATT
C. ibericus	1	TTTAATAC TAGGTTCC	CCAGATATAGCTTATCCA	CGAATAAA	CAATATAAGATTTTGATT
C. ruber	1	TTTAATAT TAGGCTAC	CCAGATATAGCTTATCCA	CGAATAAA	CAATATAAGATTTTGACT
C. albicans	1	TTTAATAT TAGGCTCT	CCAGATATAGCTTATCCA	CGAATAAA	CAATATAAGATTTTGATT
C. cubicus	1	CCTAATAC TTGGCGCT	CCAGATATAGCTTATCCA	CGAATAAA	CAATATAAGATTTTGATT
F. rufibarbis	1	TTTAATAC TTGGCTCT	CCAGATATAGCTTATCCA	CGAATAAA	CAATATAAGATTTTGACT
C. douwesi	61	ACTACC	CCCTTCATTACCTTACTAATTTT	TAAGAAATTTTATTAATGATGGAAC	AGGAAC
C. rosenhaueri	61	ACTACC	CCCTTCATTACCTTACTAATTTT	TAAGAAATTTTATTAATGATGGAAC	AGGAAC
C. gadeai	61	ACTACC	CCCTTCATTACCTTACTAATTTT	TAAGAAATTTTATTAATGATGGAAC	AGGAAC
C. ibericus	61	ACTACC	CCCTTCATTACCTTACTAATTTT	TAAGAAATTTTATTAATGATGGAAC	AGGAAC
C. ruber	61	ATTACCT	CCCTCAATTACTTTAATTTT	TAAGAAATTTTATTAATGATGGAAC	AGGAAC
C. albicans	61	ATTACCT	CCCTCAATTACTTTAATTTT	TAAGAAATTTTATTAATGATGGAAC	AGGAAC
C. cubicus	61	GTTACCT	CCCTCAATTACTTTAATTTT	TAAGAAATTTTATTAATGATGGAAC	AGGAAC
F. rufibarbis	61	CTTACCT	CCCTCAATTACTTTAATTTT	TAAGAAATTTTATTAATGATGGAAC	AGGAAC
C. douwesi	121	AGGATGAAC TGTTTATCC	CCCTTAGCACTAATATTTTT	CATAATGG	CCCTTCTGTGA
C. rosenhaueri	121	AGGATGAAC TGTTTATCC	CCCTTAGCACTAATATTTTT	CATAATGG	CCCTTCTGTGA
C. gadeai	121	AGGATGAAC TGTTTATCC	CCCTTAGCACTAATATTTTT	CATAATGG	CCCTTCTGTGA
C. ibericus	121	AGGATGAAC TGTTTATCC	CCCTTAGCACTAATATTTTT	CATAATGG	CCCTTCTGTGA
C. ruber	121	AGGATGAAC TGTTTATCC	CCCTTAGCACTAATATTTTT	CATAATGG	CCCTTCTGTGA
C. albicans	121	AGGATGAAC TGTTTATCC	CCCTTAGCACTAATATTTTT	CATAATGG	CCCTTCTGTGA
C. cubicus	121	AGGATGAAC TGTTTATCC	CCCTTAGCACTAATATTTTT	CATAATGG	CCCTTCTGTGA
F. rufibarbis	121	AGGATGAAC TATTTACC	CCCTTAGCACTAATATTTTT	CATAATGG	CCCTTCTGTGA
C. douwesi	181	TCTTACTATTTTTCTCT	CCATTTGCAGGAATATCTCAATTTT	TAGGAGCAATCAATTT	
C. rosenhaueri	181	TCTTACTATTTTTCTCT	CCATTTGCAGGAATATCTCAATTTT	TAGGAGCAATCAATTT	
C. gadeai	181	TCTTACTATTTTTCTCT	CCATTTGCAGGAATATCTCAATTTT	TAGGAGCAATCAATTT	
C. ibericus	181	TCTTACTATTTTTCTCT	CCATTTGCAGGAATATCTCAATTTT	TAGGAGCAATCAATTT	
C. ruber	181	TCTTACTATTTTTCTCT	CCATTTGCAGGAATATCTCAATTTT	TAGGAGCAATCAATTT	
C. albicans	181	TCTTACTATTTTTCTCT	CCATTTGCAGGAATATCTCAATTTT	TAGGAGCAATCAATTT	
C. cubicus	181	TCTTACTATTTTTCTCT	CCATTTGCAGGAATATCTCAATTTT	TAGGAGCAATCAATTT	
F. rufibarbis	181	CTTACCATTTTTCTCT	CCATTTGCAGGAATATCTCAATTTT	TAGGAGCAATCAATTT	
C. douwesi	241	TATTTCTACAATTTTAAATATACA	CCATAAATAATATTTCTATAGATAAA	ATTCCCTCTTCT	
C. rosenhaueri	241	TATTTCTACAATTTTAAATATACA	CCATAAATAATATTTCTATAGATAAA	ATTCCCTCTTCT	
C. gadeai	241	TATTTCTACAATTTTAAATATACA	CCATAAATAATATTTCTATAGATAAA	ATTCCCTCTTCT	
C. ibericus	241	TATTTCTACAATTTTAAATATACA	CCATAAATAATATTTCTATAGATAAA	ATTCCCTCTTCT	
C. ruber	241	TATTTCTACAATTTTAAATATACA	CCATAAATAATATTTCTATAGATAAA	ATTCCCTCTTCT	
C. albicans	241	TATTTCTACAATTTTAAATATACA	CCATAAATAATATTTCTATAGATAAA	ATTCCCTCTTCT	
C. cubicus	241	TATTTCTACAATTTTAAATATACA	CCATAAATAATATTTCTATAGATAAA	ATTCCCTCTTCT	
F. rufibarbis	241	TATTTCAACAATTTTAAATATACA	CCATAAATAATATTTCTATAGATAAA	ATTCCCTCTTCT	
C. douwesi	301	TGTTTGATCAATTTTAAATACAGC	CATTCTTCTTCTCCTATCCCTT	CCAGTTT	TAGCAGG
C. rosenhaueri	301	TGTTTGATCAATTTTAAATACAGC	CATTCTTCTTCTCCTATCCCTT	CCAGTTT	TAGCAGG
C. gadeai	301	TGTTTGATCAATTTTAAATACAGC	CATTCTTCTTCTCCTATCCCTT	CCAGTTT	TAGCAGG
C. ibericus	301	TGTTTGATCAATTTTAAATACAGC	CATTCTTCTTCTCCTATCCCTT	CCAGTTT	TAGCAGG
C. ruber	301	TGTTTGATCAATTTTAAATACAGC	CATTCTTCTTCTCCTATCCCTT	CCAGTTT	TAGCAGG
C. albicans	301	TGTTTGATCAATTTTAAATACAGC	CATTCTTCTTCTCCTATCCCTT	CCAGTTT	TAGCAGG
C. cubicus	301	TGTTTGATCAATTTTAAATACAGC	CATTCTTCTTCTCCTATCCCTT	CCAGTTT	TAGCAGG
F. rufibarbis	301	TGTTTGATCAATTTTAAATACAGC	CATTCTTCTTCTCCTATCCCTT	CCAGTTT	TAGCAGG

Tabla 2. (Continuación).

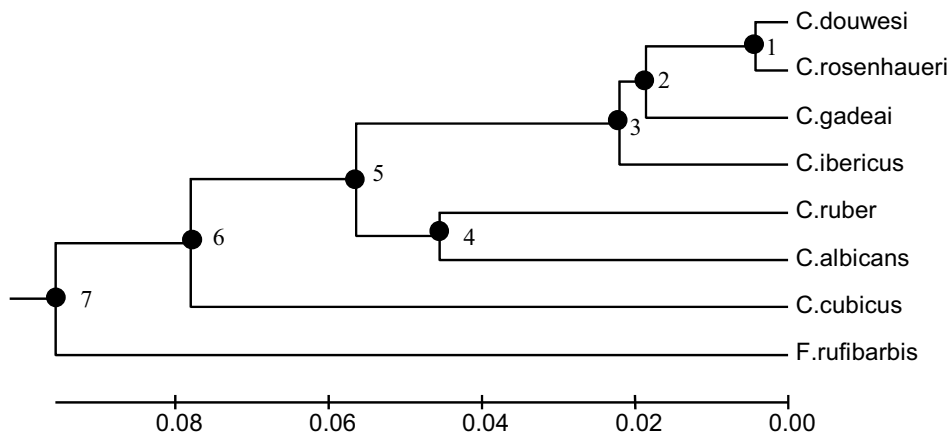
Table 2. (Continuation).

C. douwesi	361	AGCTATTACCATATTACTTACGGACCGAAATCTTAACTTCATTCTTTGACCCTTCAGG
C. rosenhaueri	361	AGCAATTACCATATTACTTACAGACCGAAATCTTAACTTCATTCTTTGACCCTTCAGG
C. gadeai	361	AGCTATTACCATATTACTTACAGACCGAAATCTTAACTTCATTCTTTGATCCTTCAGG
C. ibericus	361	AGCTATTACCATATTACTTACAGACCGAAATCTTAACTTCATTCTTTGATCCTTCAGG
C. ruber	361	AGCATTACTATATTACTTACAGATCGAAATCTTAACTTCATTCTTTGATCCTTCAGG
C. albicans	361	AGCTATTACCATATTACTTACAGATCGAAACCTTAACTTCATTCTTTGACCCTTCAGG
C. cubicus	361	AGCTATTACTATATTACTTACAGATCGAAATCTTAACTTCATTCTTTGATCCTTCAGG
F. rufibarbis	361	AGCTATTACTATATTACTTACGATCGAAACTTAACTTCATTCTTTGATCCTTCAGG
C. douwesi	421	AGGAGGAGACCCCTATTCTTTACCAACATCTATTCTGATTCTTTGGCCATCCT
C. rosenhaueri	421	AGGAGGAGACCCCTATTCTTTACCAACATCTATTCTGATTCTTTGGCCATCCT
C. gadeai	421	GGGAGGGGACCCCTATTCTTTACCAACATCTATTCTGATTCTTTGGCCATCCT
C. ibericus	421	GGGAGGAGATCCCTATTCTTTACCAACATCTATTCTGATTCTTTGGCCATCCT
C. ruber	421	AGGCCGAGACCCCTATTCTTTACCAACATCTATTCTGATTCTTTGGCCATCCT
C. albicans	421	AGGCCGAGATCCCTATTCTTTATCAACACTTATTCTGATTCTTTGGCCATCCT
C. cubicus	421	GGGAGGGGATCCCTATTCTTTATCAACATCTATTCTGATTCTTTGGCCATCCT
F. rufibarbis	421	CGGGGCTGACCCCAATTCTTTATCAACATCTATTCTGATTCTTTGGCCATCCA

(1994), el producto de los cuales nos da una secuencia de 522 pb (*primers* incluidos). El nucleótido 1 de la secuencia obtenida se corresponde con el nucleótido 250 del COI y el último nucleótido de la secuencia con el 722 del COI. En la Figura 1 se muestra el árbol filogenético realizado a partir de estas secuencias, obtenido por el método *neighbor-joining* (SAITOU & NEI, 1987) aplicando la distancia de Tamura 3-parámetros. En los nudos del árbol se han puesto ordenadamente números que envían al pie de figura, para indicar el tiempo estimado de divergencia genética de las distintas especies. Cuando se estima el tiempo de divergencia entre especies, no se espera que los fenómenos de mutación y de especiación ocurran al mismo tiempo, por ejemplo, la mutación suele preceder a la especiación. Por este motivo, si se utiliza la hipótesis del reloj molecular para datar la divergencia genética (mutación) entre las especies, no se puede asumir que el tiempo de divergencia genética coincida con el del fenómeno de especiación. La diferencia entre ambos tiempos de divergencia es mayor cuando las especies analizadas han divergido recientemente (BROWN, 2002).

### Consideraciones filogenéticas

De acuerdo con las estimaciones realizadas por BROWER (1994), la divergencia observada en el DNA mitocondrial entre especies de artrópodos recientemente separadas, suele ser constante, con una tasa de divergencia



**Figura 1.** Arbol filogenético obtenido a partir de las secuencias de nucleótidos. La escala indica la divergencia observada entre las secuencias del DNA mitocondrial de 472 pares de bases. Estimación del tiempo de divergencia del gen COI de las especies, en años: 1) 185.000. 2) 815.000. 3) 960.000. 4) 2.000.000. 5) 2.482.000. 6) 3.430.000. 7) 4.208.000.

**Figure 1.** Phylogenetic tree after sequencing of nucleotids. Scale shows divergence between the 472 bp. Time estimated in years: 1) 185.000. 2) 815.000. 3) 960.000. 4) 2.000.000. 5) 2.482.000. 6) 3.430.000. 7) 4.208.000.

del 2,3% por cada millón de años. De acuerdo con ello, hemos calculado el tiempo de divergencia entre las distintas especies de *Cataglyphis*, con *Formica* como grupo externo.

En la Figura 1 vemos las relaciones estrechas existentes entre la fauna ibérica. De ellas, *C. rosenhaueri* y *C.douwesi*, colonizadoras de la parte suroccidental ibérica, son especies hermanas, pero con un tiempo estimado de 185.000 años de divergencia. Ambas están estrechamente relacionadas con *C.gadeai*, que se extiende por el litoral Este mediterráneo hasta Castellón, con 815.000 años estimados de divergencia. Estas tres especies meridionales forman un conjunto filogenético de origen más reciente. De ellas se aleja filogenéticamente *C.ibericus*, especie más antigua que las anteriores y colonizadora de la parte nororiental ibérica, desde el delta del Ebro (Tarragona) a Barcelona y Monegros (Zaragoza). Es especie hermana de un antecesor que originó las tres especies meridionales ibéricas, con 960.000 años de divergencia.

En cuanto a las relaciones del grupo ibérico con la fauna marroquí, *C.albicans* extendida por todo el Norte de Africa, se muestra como especie



hermana de *C.ruber*, aunque ya alejada genéticamente de ella, con 2 millones de años de divergencia. El antecesor común de estas dos especies ha originado probablemente toda la fauna ibérica de este grupo, con 2.482.000 años de divergencia. *C.cubicus* la hemos encontrado extendida por el litoral mediterráneo y atlántico marroquí, desde Martil y Cabo Negro hasta Tánger y Asilah. Es la más primitiva, y especie hermana de la que originó al resto del grupo *albicans* ibero-marroquí, con una divergencia de 3.430.000 años. Está alejada del resto, tanto genéticamente como por la morfología de la volsella de los machos, en forma de yunque, mientras que en el resto del grupo considerado es de forma falciforme (Ver de HARO & COLLINGWOOD, 2000,2003). (Ver esquemas de WEHNER,1983,1986).

La penetración de este grupo en la Península Ibérica se ha realizado probablemente a partir de un antecesor común de *C.albicans*-*C.ruber*, que ha podido evolucionar aislado del Continente africano por el estrecho de Gibraltar, como mínimo durante 5 millones de años. La penetración magrebí se origina posiblemente al final del Mioceno, en el Messiniense, en que por desecación del Mediterráneo debido al cierre de los brazos bético-rifeños de comunicación atlántica, se estableció una vía de comunicación terrestre ibero-mauritánica, hace unos 6 millones de años. Esta comunicación se rompió por el hundimiento gibraltareño del Plioceno y nueva penetración de las aguas atlánticas en la cuenca del Mediterráneo (RUGGIERI, 1967; HSÜ, 1974).

## CONCLUSIONES

La secuenciación de una región parcial del COI pone de manifiesto las profundas relaciones filogenéticas entre el grupo *albicans* ibérico de *Cataglyphis*. *C.douwesi* es especie hermana de *C.rosenhaueri* y ambas están estrechamente relacionadas con *C.gadeai*, siendo las tres especies las más recientes. *C.ibericus* es la más antigua y especie hermana de la que originó el resto de la fauna ibérica. *C.albicans* –*C.ruber* son especies hermanas, pero ya alejadas genéticamente. Un antecesor común de ambas es el que probablemente ha penetrado en la Península Ibérica, originando su fauna. En cuanto a la fauna africana, *C.cubicus* es la más antigua y hermana de la que ha originado al grupo *albicans* ibero-marroquí. Es la más alejada, tanto genéticamente como por la morfología de la volsella de los machos en forma de yunque, mientras que el resto del grupo considerado la tiene falciforme.

## AGRADECIMIENTOS

Damos las gracias al Prof. Lluís Ferrer, Rector de la Universitat Autònoma de Barcelona por su interés, empuje y facilidades proporcionadas para la realización de este trabajo. También agradecemos al Prof. Mariano Domingo, Director del Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA), las facilidades concedidas para la secuenciación molecular. También agradecemos a los Profesores Henri Cagniant, Alberto Tinaut y Xavier Espadaler, la proporción de material de Marruecos, de Cabo de Gata y ejemplares de Formica, respectivamente y al Dr. Juan-José de Haro, sus comentarios críticos sobre el árbol filogenético. Asimismo agradecemos al Dr. Roberto Poggi, del Museo Cívico Di Storia Naturale “Giacomo Doria” de Genova (Italia), el envío de material de *C.albicans* de la Col. Emery.

## BIBLIOGRAFÍA

- AGOSTI, D., 1990. Review and reclassification of *Cataglyphis* (Hym. Formicidae) *Journal Natural History*, 24:1457-1505.
- BERNARD, F., 1968. *Les Fourmis d'Europe occidentale et septentrionale*. 411pp. Masson. Paris
- BROWER, A. V. Z., 1994. Rapid morphological radiation and convergence among races of the butterfly *Heliconius erato* inferred from patterns of mitochondrial DNA evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 91 (14):6491-6495.
- BROWN, J.A., 2002. *Genomes 2*. 520pp. Wiley-Liss, Oxford.
- CAGNIANT, H., 1973. *Les peuplements de fourmis des forêts algériennes*. Ecologie, Biocénose, Essai biologique. 464 pp. Thèse d'Etat. Université Paul Sabatier. Toulouse.
- CAGNIANT, H. & X. Espadaler, 1993. Liste des espèces de fourmis du Maroc *Actes Coll. Insectes Sociaux*, 8: 89-93.
- COLLINGWOOD, C.A., 1985. Hymenoptera: Fam. Formicidae of Saudi Arabia. *Fauna of Saudi Arabia* 7: 230-302.
- DE HARO, A. & CEDRIC A. COLLINGWOOD, 2000. *Cataglyphis douwesi* sp.nov. del grupo *albicans* de color negro de Cádiz, en la costa suratlántica de la Península Ibérica (Hym. Formicidae). *Orsis* 15: 57-67.
- DE HARO, A. & CEDRIC A. COLLINGWOOD, 2003. *Cataglyphis gadeai* sp.nov. (Hym. Formicidae), del grupo *albicans* de color negro del Cabo de Gata (Almería), SE de España. *Orsis*, 18, 19-27.
- DE HARO, A., CEDRIC A. COLLINGWOOD, J.-J. de HARO, 2005. *Cataglyphis cubicus* (Forel, 1903) stat.nov. (Hym. Formicidae) y ♂ nov., grupo *albicans* de Asilah, costa atlántica de Marruecos. (*Orsis*, 20, en prensa).
- EMERY, C., 1906. Rissenga critica della specie paleartiche del genere *Myrmecocystus*. Fische *Memoria della Reale Accademia delle Scienze dell'Istituto di Biologia. Classe di Scienze*, Bologna 3(6): 47-61
- FOREL, A., 1903. Mélanges entomologiques, biologiques et autres. *Annales de la Société Entomologique de France* 47: 249-268.
- Boln. Asoc. esp. Ent.*, 29 (1-2): 99-109, 2005

- HASEGAWA, E., J. A. TINAUT & F. RUANO, 2002. Molecular phylogeny of two slave-making ants: *Rossomyrmex* and *Polyergus* (Hymenoptera, Formicidae). *Annales Zoologici Fennici*, 39:267-271.
- HALL, T. A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41:95-98
- HSÚ, K. J., 1974. The Miocene Desiccation of the Mediterranean and its Climatological and Zoogeographical Implications. *Nature*, 61:137-142.
- KUMAR, S., K. TAMURA, I. B. JACOBSEN & M. NEI, 2001. MEGA2: molecular evolutionary genetics analysis software. *Bioinformatics*, 17 (12):1244-1245.
- ROGER, J., 1859. Beiträge zur Kenntnis der Ameisenfauna der Mittelmeerländer. Erstes Stüch. *Berliner Entomologische Zeitschrift*, 3: 225-259.
- RUGGIERI, G., 1967. The Miocene and later evolution of the Mediterranean Sea. Aspects of tethyan Biogeography. C. G. Adamas & D. V. Ager (eds). *Systematics Association Publication 7*:283-290.
- SAITOU, N. & M. NEI, 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4:406-425.
- SIMON, C., F. FRATI, A. BECKENBACH, B. CRESPI, H. LUI & P. FLOOK, 1994. Evolution, weighing and phylogenetic unity of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*, 87:651-701.
- STEINER, F. M., B. C. SCHLICK-STEINER, S. SCHÖDL, X. ESPADALER, SEIFERT, B., E. CHRISTIAN & C. STAUFFER, 2004. Phylogeny and bionomics of *Lasius austriacus* (Hymenoptera, Formicidae) *Insectes Sociaux*, 51:24-29.
- TINAUT, J. A. & J. L. PLAZA, 1989. Situación taxonómica del género *Cataglyphis* Förster, 1850 en la Península Ibérica I. Las especies del subgénero *Cataglyphis* Förster (Hym. Formicidae). *Eos* 65(1): 189-199.
- WEHNER, R., 1983. Taxonomie, Funktionsmorphologie und Zoogeographie der saharischen Wüstenameise *Cataglyphis fortis* (Forel, 1902) stat.nov.. *Senckerbergiana Biologica* 64 (1-3): 89-132.
- WEHNER, R., 1986. Artcharakterisierung von *Cataglyphis diehlii* und *C. ruber*. *Jahrbuch der Akademie der Wissenschaften und der Literatur*. Mainz, 86: 108-113.

