



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**POSGRADO EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS**

Filogenia molecular de *Cestrum* L. sección
Habrothamnus (Endl.) Schltr. (Solanaceae):
un proceso de diversificación rápida

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

P R E S E N T A

Juan Carlos Montero Castro

DIRECTOR DE TESIS: DR. ALFONSO OCTAVIO DELGADO SALINAS

MÉXICO D.F.

Septiembre, 2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Mi agradecimiento, por la beca brindada, al pueblo de México y a las siguientes instituciones:

Dirección General de Estudios de Posgrado, UNAM

y

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (N° 158345).

COMITÉ TUTORAL

Dr. Alfonso O. Delgado Salinas

Dr. Efraín De Luna

Dr. Luis Eguiarte Fruns

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a las autoridades del Instituto de Biología de la UNAM el haberme permitido desarrollar en sus instalaciones las diferentes labores que se llevaron a cabo para concretar esta tesis. Fue muy importante para conservar el ánimo las sonrisas, saludos y demostraciones de aliento recibidos día tras día por el personal académico, administrativo y compañeros en general. También agradezco a los colaboradores del Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas por su ayuda en una infinidad de trámites y mi reconocimiento por el gran desempeño que demuestran diariamente.

De manera muy especial agradezco el apoyo incondicional del director de la tesis Dr. Alfonso O. Delgado Salinas.

Gracias al Dr. Mario Sousa Peña quien me asesoró en la fase inicial de este proyecto.

Agradezco la ayuda en conseguir las colecciones herborizadas a Mario Sousa Sánchez y María del Rosario García Peña. De igual forma agradezco a los directores de los siguientes herbarios: A, BIGU, C, CGE, CR, F, G, GH, HAL, INB, JBSD, M, MEXU, MICH, MO, NY, PMA, S, UC, US, USJ, XAL, Z, por los préstamos de sus colecciones y en su caso por la hospitalidad brindada.

El material para extraer ADN del género *Sessea* fue donado por la Ph.D. Lynn Bohs (University of Utah).

Gracias al Ph.D. Michael Nee (New York Botanical Garden) quien amablemente me ayudó a visitar varios herbarios de USA y recolectar en campo las especies de República Dominicana incluidas en este estudio.

En el trabajo de campo en México y Guatemala fui acompañado en diferentes ocasiones por: Esteban M. Martínez Salas, Jorge Calónico Soto, Mario Véliz, Rafael Torres Colín y Carlos Gómez Hinostrosa.

Gracias por la hospitalidad brindada en instituciones de diferentes países: Centro Científico Tropical (Reserva Biológica Bosque Nuboso Monteverde), Instituto Nacional de Biodiversidad and Museo Nacional de Costa Rica; Universidad de San Carlos, Guatemala; Universidad de Panamá and Smithsonian Tropical Research Institute, Panamá; Jardín Botánico Nacional, Dr. Rafael Ma. Moscoso, República Dominicana.

Gracias a la Dra. Blanca Estela Hernández Baños quien identificó un colibrí y a la M. en C. Isabel Vargas Fernández quien identificó una mariposa, ambas del Museo de Zoología "Alfonso L. Herrera" Facultad de Ciencias, UNAM.

Al personal de la Unidad de Cómputo: José Alfredo Wong León, Julio César Montero Rojas, Celina del Carmen Bernal Ramírez, Jorge Gerardo López Ibarra, Armando Luqueño Soto.

La secuenciación de ADN y varios reactivos fueron proveídos por el Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Biología, UNAM. También aprovecho para agradecer la asistencia técnica de: Laura Márquez Valdelamar, Solange Sotuyo, Pedro Mercado Ruaro y Gerardo Salazar Chávez.

Agradezco al comité editorial de la revista *Systematic Botany* por su ayuda en la revisión del artículo que constituyó el capítulo dos de esta tesis, en especial al Ph.D. Matt Lavin (Montana State University).

Por último y no por ello con menor énfasis agradezco a los miembros del sínodo: Dra. Susana A. Magallón Puebla, Dra. Mercedes Isolda Luna Vega, Dr. Juan Núñez Farfán, Dr. Sergio R. S. Cevallos Ferriz, Dr. Efraín De Luna, Dr. Luis Eguiarte Fruns, y Dr. Alfonso O. Delgado Salinas, por las observaciones y sugerencias vertidas en la revisión de la tesis.

En especial quiero agradecer a los doctores Efraín De Luna, Luis Eguiarte Fruns, Alfonso O. Delgado Salinas quienes fueron miembros de mi comité tutorial y padecieron varios años de mi terquedad y obstinación; mil gracias por su tiempo, consejos y paciencia.

CONTENIDO

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
PRESENTACIÓN GENERAL	5
CAPITULO I El grupo de estudio, <i>Cestrum</i> sección <i>Habrothamnus</i> (Solanaceae): taxonomía, distribución geográfica y biología floral	
Introducción	9
Taxonomía de <i>Cestrum</i>	10
Distribución Geográfica	13
Biología floral de <i>Cestrum</i>	15
Literatura Citada	18
Tablas y Figuras	23
CAPITULO II Phylogenetic analysis of <i>Cestrum</i> section <i>Habrothamnus</i> (Solanaceae) based on plastid and nuclear DNA sequences	
Abstract	29
Introduction	30
Materials and Methods	31
Results	34
Discussion	35
Literature Cited	39
Voucher specimens	44
Tables and Figures	47
CAPITULO III Fechando Solanaceae (asterides, eudicotiledóneas) con base en secuencias de ADN de cloroplasto y núcleo.	
Resumen	50

Introducción	51
Material y Método	53
Resultados	56
Discusión	58
Literatura Citada	61
Tablas y Figuras	66

CAPITULO IV Diversificación rápida de *Cestrum* sección *Habrothamnus* (Solanaceae) en montañas en la región Mesoamericana y del Caribe

Resumen	73
Introducción	74
Material y Método	77
Resultados	80
Discusión	82
Literatura Citada	87
Tablas y Figuras	93

CONCLUSIÓN GENERAL 97

ANEXO I

Cestrum sotonunezii, a New Species of *Cestrum* (Solanaceae) from Central Mexico

Abstract	101
Introduction	102
Key	103
Protologe	103
Distribution and Habitat	105
Discussion	105
Etymology	106
Paratypes	106
Literature Cited	107
Tables and Figures	109

Filogenia molecular de *Cestrum* L. sección *Habrothamnus* (Endl.) Schltld. (Solanaceae): un proceso de diversificación rápida

RESUMEN

Se estimó la filogenia de la sección *Habrothamnus* del género *Cestrum*, la cual se utilizó como marco de referencia para el estudio de los procesos histórico-evolutivos que originaron la diversidad de este grupo. El género *Cestrum* incluye 175 especies, de las cuales 28 se han considerado dentro de la sección *Habrothamnus*. Las especies de esta sección se distribuyen diferencialmente en varias regiones del Continente Americano como la cordillera de Costa Rica-Panamá, el macizo montañoso de Chiapas-Guatemala, las cordilleras de La Española y las montañas del Centro de México, todas ellas caracterizadas por su alta biodiversidad. El estudio parte de un trabajo de campo y gabinete, donde se exploran algunos aspectos generales de las especies de *Cestrum* sección *Habrothamnus*, como son su taxonomía, distribución y biología floral.

El trabajo molecular consistió en secuenciar las regiones *trnT-trnL*, *trnL-trnF* y *matK-trnK* del cloroplasto, además del ITS ribosomal nuclear. Cada región fue secuenciada para 32 especies que pertenecen a las tres secciones del género. Con estos datos se evaluó la monofilia de la sección *Habrothamnus* y sus relaciones con las otras secciones de *Cestrum*. Para ello se realizó un análisis filogenético bajo el criterio de parsimonia. La confiabilidad de las estimaciones se determinó por inferencia bayesiana y análisis bootstrap. Los clados encontrados en el análisis comprometen seriamente la clasificación infragenérica tradicional. La divergencia molecular entre las especies muestreadas fue muy baja; no obstante, los grupos monofiléticos hallados se estructuran geográficamente. En conjunto, ambas circunstancias sugieren que el proceso

evolutivo que condujo a la diversidad actual de estas plantas fue repentino y está conformado por varias radiaciones independientes en cada región geográfica.

Para poner en un contexto temporal este proceso de especiación, se estimaron las edades absolutas de los eventos más importantes en la cladogénesis en la familia Solanaceae, como la edad de origen de *Cestrum* y otros géneros afines. Para ello se analizaron las relaciones dentro de la familia con el criterio de Verosimilitud Máxima con datos del GenBank de las regiones *nadhF*, *rbcL*, *trnL-F* del cloroplasto y la secuencia de núcleo que codifica la Metil-transferasa del Ácido Salicílico (SAMT). Las edades de los clados fueron determinadas con Verosimilitud Penalizada, una metodología que no se restringe al supuesto de la constancia en las tasas de sustitución molecular. En la calibración se incorporó información cronológica absoluta de fuentes independientes como fósiles y fechación basada en información molecular de otros estudios.

Se determinó que el grupo de interés diversificó inicialmente hace 4 millones de años (MA), sufriendo una aceleración en la formación de linajes a los 3.125 MA, mientras que las radiaciones en cada región geográfica iniciaron entre los 2.5 a 2 MA. La diversificación se estimó con base a un modelo Yule. Después del primer cambio repentino en la tasa de diversificación, no se presentaron cambios abruptos subsecuentes hasta la última edad considerada hace 325,000 años, lo anterior sugiere un escenario donde el levantamiento del Istmo de Panamá fue el disparador inicial del proceso de diversificación y éste se mantuvo coadyuvado por los cambios climáticos que ocurrieron en el Plio-Pleistoceno. La tasa de diversificación de *Cestrum* (0.48 especies / MA) es del doble que la tasa en *Sessea* (0.31 especies / MA), su género hermano y superior a la encontrada en *Phyllica* (0.29 especies / MA) un género sudafricano cuya diversificación rápida ha sido exhaustivamente estudiada.

ABSTRACT

The phylogeny of *Cestrum* section *Habrothamnus* was assessed based in molecular markers. This phylogenetic framework was used for the study of the historical-evolutionary processes that gave rise to the diversity of this group. The genus *Cestrum* includes 175 species, of those 28 have been considered part of section *Habrothamnus*. The *Habrothamnus* species are distributed differentially in the mountains of Central Mexico, Chiapas-Guatemala, Costa Rica-Panama, and Hispaniola, all regions characterized by their high biodiversity. Field explorations and herbarium studies were achieved concerning some general aspects of the taxonomy, geographic distribution and floral biology of *Cestrum* section *Habrothamnus* species.

Thirty-two species of *Cestrum* including those of section *Habrothamnus* were sequenced of the *trnT-trnL*, *trnL-trnF* and *matK-trnK* chloroplast sequences, and the ITS nuclear ribosomal. Molecular divergence was very low among the sampled species, suggesting a recent diversification in *Cestrum*. Individual and combined analyses of these molecular data sets using maximum parsimony and Bayesian inference reject the monophyly of the traditionally recognized sections of *Cestrum*, including sect. *Habrothamnus*. Therefore, infrageneric classifications will require significant revision. Nevertheless, the resolved monophyletic clades in this molecular analysis are geographically structured.

The *Habrothamnus* speciation was put into a time frame in context of the most important events of the cladogenesis of the Solanaceae family. The relationships of Solanaceae were inferred with Maximum likelihood with GenBank data of the *nadhF*, *rbcL*, *trnL-F* chloroplast regions and the nuclear protein-coding gene salicylic acid methyl-transferase (SAMT). The clade ages were determined with Penalized likelihood, a methodology that relax the rate constancy of

molecular substitution. Absolute chronological information of independent sources as fossils and molecular dating of other studies were incorporated as calibration.

The diversification was estimated with the Yule model. The maximum lineages diversification was 3.125 MA ago, while the radiations in each geographical region began 2.5 to 2 MA ago. Subsequent abrupt changes were not presented after the first sudden change in the diversification rate. This suggests a scenario where the rising of the Isthmus of Panama was the initial trigger of the diversification process, thereafter aided by the climatic changes that happened in the Plio-Pleistocene. The rate of diversification of *Cestrum* (0.48 species / MA) is twice as much as the *Sessea* rate (0.31 species / MA), its sister genus, and higher than the *Phyllica* rate (0.29 species / MA), a southern Africa genus whose quick diversification has been studied well.

PRESENTACION GENERAL

La biodiversidad es la multiplicidad de genes, poblaciones, especies y comunidades, los cuales pueden concebirse como elementos funcionales de los ecosistemas de la Tierra. Hoy en día, la biodiversidad se ve amenazada por la crisis de extinción más grande desde el evento que marcó la transición del Cretácico a la era Terciaria (Ehrlich 2001). Mesoamérica y el Caribe son unas de las regiones con mayor diversidad de especies de plantas vasculares y vertebrados terrestres (Mittermeier y Goettsch-Mittermeier 1997; Myers et al. 2000). Asimismo, en México aproximadamente el 10% de los géneros y el 52% de las especies de la flora fanerogámica son endémicos para el país (Rzedowski 1996). El enorme grado de endemismo en la flora de México, asociado con su impresionante diversidad, hace suponer que el país ha sido el lugar de origen y desarrollo de un gran número de grupos de plantas (Rzedowski 1996).

Las extinciones masivas de taxones están ocurriendo de forma acelerada, pero el conocimiento de la biodiversidad aún es incompleto. México muestra una alta tasa de deforestación, que alcanza cerca del 5% anual (citado en Challenger 1998), lo cual aumenta el riesgo de una pérdida de diversidad biológica. Es necesario entender los procesos que han dado origen a la diversidad en México para establecer estrategias de conservación dirigidas a evitar o frenar la pérdida de la diversidad. Un paso a seguir para conservar esta riqueza biológica es conocer las especies que se distribuyen en el país; para ello, es de suma importancia las colecciones científicas como acervos y fuentes primarias para el conocimiento de la distribución de la diversidad. Así mismo, es incuestionable la importancia de desarrollar modelos predictivos de la distribución de especies (Sánchez-Cordero et al. 2001). Sin embargo, este acercamiento sólo nos proporciona una visión horizontal de la biodiversidad, la perspectiva que se encuentran en la dimensión plana del tiempo de la historia humana. Es preciso entender que la historia evolutiva

de las especies ha jugado un papel substancial en la formación de la diversidad regional y local (Hubbell 2001). Por lo tanto, es imprescindible reconocer que la estructura de la biodiversidad existente sólo se puede percibir con ayuda de la filogenia (Maddison y Pérez 2001), es decir, los procesos que estructuran los biomas son consecuencia de las causas históricas que los han mantenido a lo largo del tiempo geológico.

En vista de lo anterior, es necesario contar con una perspectiva vertical a través de los eventos evolutivos de las ramas de la filogenia para poder entender la biodiversidad de México e implementar estrategias para conservarla. Algunos investigadores han empezado a enfatizar la relevancia de la perspectiva filogenética en el entendimiento de los biomas (por ejemplo: Lavin 2004, Pennington et al. 2004, Richardson et al. 2001, Webb et al. 2002).

Aunque ha habido un gran avance en la filogenia en niveles filogenéticos superiores, no lo ha sido por abajo del nivel de género donde, comparadas con la diversidad existente, las filogenias son relativamente escasas. Por lo anterior, es apremiante realizar más filogenias a nivel de especies para tomar decisiones más acertadas si se pretende tener éxito en la conservación de la diversidad biológica.

Uno de los debates sobre el origen de la diversidad biológica se centra en preguntas como: ¿la diversidad de plantas en una región fue producto de especiación reciente o es el resultado de la acumulación de linajes antiguos? ¿A qué se debe que una región sea más rica en diversidad biológica que otra? ¿Cuáles son los factores que aceleran la especiación?

La sección *Habrothamnus* del género *Cestrum* es un buen modelo para evaluar estas preguntas, ya que las especies que se incluyen en esta sección se distribuyen diferencialmente en varias regiones del Continente Americano como la cordillera de Costa Rica-Panamá, la Cordillera de Chiapas-Guatemala, las Antillas y las montañas del Centro de México, todas ellas caracterizadas por su alta biodiversidad.

Este trabajo se inició estudiando algunas generalidades de las especies de *Cestrum* sección *Habrothamnus*, como son aspectos de su clasificación taxonómica, distribución y morfología floral (Capítulo 1). El componente cardinal de este proyecto fue la estimación de la hipótesis filogenética con base en caracteres moleculares (Capítulo 2), misma que es el marco de referencia histórico-evolutivo del resto de los temas de estudio. Tal contexto filogenético es el punto de apoyo donde se identifican grupos para establecer comparaciones, o poner a prueba otras hipótesis de interés. En el capítulo siguiente (Capítulo 3) se estiman las edades absolutas de los más importantes eventos de cladogénesis en la familia Solanaceae, para determinar la edad de origen de *Cestrum*. Esto se realizó con base en secuencias moleculares y con una metodología que no se restringe al supuesto de la constancia en la tasa de substitución molecular (Sanderson 2002). En el último capítulo (Capítulo 4) se integra la información antes generada para explicar los procesos de separación de los linajes entre las especies de *Cestrum* sección *Habrothamnus* y se infieren los posibles eventos geológicos o ambientales que pudieron intervenir en la distribución actual de las especies en estudio y la diversificación de este linaje.

LITERATURA CITADA

- CHALLENGER, A. 1998. Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México. Pasado, presente y futuro. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad; Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México; Agrupación Sierra Madre, S.C. México, D.F. 847 pp.
- EHRlich, P. R. 2001. La sistemática y la conservación de la biodiversidad. Pp. 201-220. In: *Enfoques contemporáneos para el estudio de la biodiversidad*. H. M. Hernández, A. García Aldrete, F. Álvarez y M. Ulloa (eds.). Instituto de Biología, UNAM, Mexico.
- HUBBELL, S. P. 2001. The unified neutral theory of biodiversity and biogeography. Princeton University Press.

- LAVIN, M., B. P. SCHRIRE, G. LEWIS, R. T. PENNINGTON, A. DELGADO-SALINAS, M. THULIN, C. E. HUGHES, A. B. MATOS y M. F. WOJCIECHOWSKI. 2004. Metacommunity process rather than continental tectonic history better explains geographically structured phylogenies in legumes. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 359: 1509-1522.
- MADDISON, W. y T.M. PÉREZ. 2001. Biodiversidad y lecciones de la historia. Pp. 201-220. In: *Enfoques contemporáneos para el estudio de la biodiversidad*. H. M. Hernández, A. García Aldrete, F. Álvarez y M. Ulloa (eds.). Instituto de Biología, UNAM, Mexico.
- MITTERMEIER, R. y C. GOETTSCH-MITTERMEIER. 1997. *Megadiversidad. Los países biológicamente más ricos del mundo*. CEMEX, México.
- MYERS, N., R. A. MITTERMEIER, C. G. MITTERMEIER, G. A. B. DA FONSECA y J. KENT. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858.
- PENNINGTON, R. T., M. LAVIN, D. E. PRADO, C. A. PENDRY, S. PELL y C. BUTTERWORTH. 2004. Historical climate change and speciation: Neotropical seasonally dry forest plants show patterns of both Tertiary and Quaternary diversification. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 359: 515-538.
- RICHARDSON, J. E., F. M. WEITZ, M. F. FAY, Q. C. B. CRONK, H. P. LINDER, G. REEVES y M. W. CHASE. 2001. Rapid and recent origin of species richness in the Cape flora of the South Africa. *Nature* 412: 181-183.
- RZEDOWSKI, J. 1991. Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. *Acta Botánica Mexicana* 14: 3-21.
- SÁNCHEZ-CORDERO, V., A. T. PETERSON y P. ESCALANTE-PLIEGO. 2001. El modelado de la distribución de especies y la conservación de la diversidad biológica. Pp. 359-379. In: *Enfoques contemporáneos para el estudio de la biodiversidad*. H. M. Hernández, A. García Aldrete, F. Álvarez y M. Ulloa (eds.). Instituto de Biología, UNAM, Mexico.
- SANDERSON, M. J. 2002. Estimating absolute rates of molecular evolution and divergence times: a penalized likelihood approach. *Molecular Biology and Evolution* 19:101-109.
- WEBB, C. O., D. D. ACKERLY, M. A. MCPEEK y M. J. DONOGHUE. 2002. Phylogenies and community ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics* 33: 475-505.

CAPÍTULO I

El grupo de estudio, *Cestrum* sección *Habrothamnus* (Solanaceae): taxonomía, distribución geográfica y biología floral.

La familia Solanaceae contiene muchos taxones de importancia agrícola (tomates, papas, chiles, etc.), y etnobotánica y farmacológica (tabaco, belladona, toloache, mandrágora, etc.). Algunas especies de la familia se han usado como modelos experimentales para responder preguntas fundamentales en biología celular o molecular y genética. La familia se distribuye en todos los continentes, pero la mayor diversidad se encuentra en el Neotrópico. D' Arcy (1991) acepta en la familia 96 géneros y cerca de 2300 especies, pero algunas estimaciones llegan a considerar 4000 especies (Knapp 2004). Villaseñor (2003) ubica a esta familia como una de las más importantes en México con 33 géneros y 430 especies, de las cuales el 47 % son endémicas a México. Estimaciones más conservadoras calculan la existencia de 29 géneros y 386 especies para el territorio nacional (Rodríguez 2004).

Uno de los géneros con mayor número de especies en esta familia es *Cestrum* L., del cual se conocen varias especies ornamentales (Beckett 1987), y de otras se explora su potencial químico y farmacéutico (e.g., Prema y Raghuramulu 1994; Backhouse et al. 1996; Haraguchi et al. 2000). En citogenética, las especies de *Cestrum* se han ocupado para el estudio de la estructura de los cromosomas (Sykorova et al. 2003).

Las especies de *Cestrum* son arbustos, árboles o bejucos, glabros o pubescentes con tricomas simples o dendríticos; tienen hojas de olor desagradable, simples, pecioladas, solitarias o acompañadas por hojas estipulares; las inflorescencias son axilares, paniculadas, racimosas o fasciculadas, con flores tubulares usualmente aromáticas; los frutos son bayas subglobosas con

semillas prismáticas. Las dos últimas características son determinantes para separar a *Cestrum* del género más afín, *Sessea* Ruiz & Pav., cuyas especies se caracterizan por la presencia de un fruto capsular y semillas aplanadas con alas.

En este capítulo se presentan algunos de los problemas que se han detectado en este grupo de plantas y algunas de las preguntas que motivaron inicialmente este trabajo de tesis.

Taxonomía de *Cestrum*

En la primera edición de *Species Plantarum* (1753), *Cestrum* fue erigido por Linnaeus con las especies *Cestrum nocturnum* L. y *C. diurnum* L. La división infragenérica en uso considera dos secciones: *Cestrum* Schltld. y *Habrothamnus* (Endl.) Schltld. Originalmente esta última fue nombrada como el género *Meyenia* por Schlechtendal (1833) y su diagnosis era la siguiente: “Cáliz subregular; corola clavada-tubulosa, limbo contracto-erecto, estivación conduplicada; genitalia inclusa, filamentos adnados hasta la mitad del tubo, antera dorsifija, ovario rodeado por un anillo caroso; arbustos mexicanos con pelos articulados; flores rojas, irregularmente cimosas”. Schlechtendal incluía solamente a *Meyenia fasciculata* Schltld. y *M. corymbosa* Schltld.

Posteriormente, Endlicher (1839) al notar la homonimia que constituía *Meyenia* Schltld. con *Meyenia* Nees (un nombre dado a un género de Acanthaceae), decidió asignarle el nombre de *Habrothamnus* a este grupo de especies, haciendo las siguientes observaciones. “Especies mexicanas de flores rojas, púrpuras y amarillas, tubo ligeramente hinchado, subconstricto antes de la boca, lóbulos pequeños ampliamente induplicados”.

Más tarde, Schlechtendal (1847) reubicó a *Habrothamnus* como sección de *Cestrum*. Sin hacer más aclaraciones sobre la caracterización de las secciones, incluyó a las siguientes especies en *Habrothamnus*: *Cestrum cyaneum* (Lindl.) Schltld., *C. benthami* Miers, *C. endlicheri* Miers,

C. elegans (Brongn.) Schltldl., *C. fasciculatum* (Schltldl.) Miers, *C. fasciculatum* var. *gracile* Schltldl., *C. paniculatum* (M. Martens et Galeotti) Schltldl. y *C. roseum* HBK.

Dunal (1852) reconoció las secciones que propuso Schlechtendal y las describió como sigue: sección *Habrothamnus* Schltldl., “cáliz subcampanulado, tubuloso-campanulado, subregular, semipentadividido, las láminas del limbo delgadas y reflejas después de la antesis. Parte inferior de la corola obcónica, parte superior inflada-clavada; limbo pentadividido, pequeñas láminas membráceas plegadas. Filamentos engrosados, frecuentemente sin apéndices, unidos por debajo o hasta la mitad del tubo de la corola. Flores rojas, púrpuras y amarillas”.

Este autor a su vez dividió a *Habrothamnus* en dos series: La **serie 1** incluyó a las especies con cáliz laxo y lóbulos definidos, como son: *Cestrum fasciculatum*, *C. hartwegi* Dunal, *C. endlicheri*, *C. elegans*, *C. roseum*, *C. benthami* Miers y *C. porphyreum* Dunal. En la **serie 2** incluyó a *C. sylvaticum* (M. Martens et Galeotti) Dunal y *C. aurantiacum* Lindl., las cuales presentan el cáliz subcampanulado o tubuloso con lóbulos filiformes.

Por otro lado, Urban (1908) en la flora de las Antillas Mayores titulada "Symbolae Antillanae" propuso la sección *Pseudocestrum* para incluir a *C. inclusum* Urb., que se distribuye en República Dominicana y Haití. Sólo describió esta sección con las siguientes características: “cáliz en el fruto más largo que éste y envolviéndolo notablemente”. Es de llamar la atención que autores subsecuentes que han trabajado con el género en trabajos regionales (e.g., Benítez y D’Arcy 1998) no han considerado el punto de vista de Urban.

En la última revisión de género, Francey (1935-1936) ignoró la sección propuesta por Urban y en cambio siguió a Schlechtendal y Dunal, al considerar que este género está constituido por la sección *Habrothamnus* y la sección *Cestrum*. Este autor considera que la sección *Habrothamnus* se puede delimitar con las siguientes características: “cáliz amplio con lóbulos

muy largos y reflexos; tubo de la corola ensanchando de forma creciente hasta llegar por debajo de la garganta, donde se empieza a cerrar lentamente; lóbulos triangulares, terminados en una punta muy aguda, o semielípticos, terminados en una punta mucronada, las dos mitades del lóbulo se repliegan hacia dentro cuando la flor está cerrada; pelos simples en la parte externa de la corola; flores rojas, púrpuras y naranjas”. Considera que la sección *Habrothamnus* está constituida por 28 especies y 8 entidades infraespecíficas.

En una sinopsis nomenclatural de *Cestrum*, Nee (en prep.) considera que muchas especies que reconoce Francey fueron basadas en diferencias menores, especímenes únicos y/o hortícolas (ver Tabla 1), y además considera que la clasificación infragenérica no es adecuada. Retoma el concepto de Urban y propone una clasificación tentativa considerando tres secciones: *Pseudocestrum*, *Cestrum* y *Habrothamnus*. En esta última sección, él considera que se pueden incluir a *C. elegans*, *C. endlicheri*, *C. fasciculatum*, *C. irazuense* Kuntze, *C. roseum*, *C. sphaerocarpum* O. E. Schulz, *C. virgaurea* Urb. & Ekman y *C. violaceum* Urb.

El concepto de *Habrothamnus* que se trata en este estudio considera a la mayoría de las especies incluidas por Francey (1935), conciliando con las sinonimias propuestas por Nee (en prep.). Aparte de las especies consideradas por estos dos autores, se incluyeron tentativamente dentro de *Habrothamnus* a *Cestrum dasyanthum* Donn. Sm., *C. milciomejiae* T. Zanoni y *Cestrum* sp. nov. ("*C. sotonunezii*" ver apéndice) porque reúnen las características diagnósticas de la sección.

El estatus nomenclatural de *C. schiedei* Francey y *C. uhdei* Dammer ex Francey no fue evaluado en el reciente estudio taxonómico de Nee (en prep), debido a que sus ejemplares "tipo" se encuentran extraviados o fueron destruidos. Para resolver esta carencia, se realizó un análisis de las descripciones originales de los epítetos mencionados y se compararon las medidas morfométricas que presenta Francey (1935-1936) contra la variación encontrada en los

ejemplares de herbarios de las diferentes especies de la sección. En la Tabla 2 se presentan algunas de las características que se consideraron, para decidir que son sinónimos de *C. fasciculatum* y *C. roseum* respectivamente. Un resumen de la sinonimia de las especies consideradas en este estudio se incluye en la Tabla 1.

Distribución geográfica

Aunque algunas especies de *Cestrum* se han cultivado en otros continentes (Beckett 1987) y unas cuantas son consideradas como malezas (ejem., Atkinson y James 1979), la distribución natural de este género es estrictamente americana. Las diferentes especies son originarias de América y se encuentran en los trópicos, desde los 28° latitud norte hasta los 37° de latitud sur (Francey 1935, 1936) en tierras bajas o zonas montañosas. La mayoría de las especies son de distribución restringida y sólo una docena de especies están ampliamente distribuidas (Nee 2001).

Cestrum es el segundo género más diverso en la familia Solanaceae después de *Solanum*. En la última revisión del género, Francey (1935, 1936) aceptó cerca de 250 especies. Otros autores consideran que el número de especies debe oscilar entre 150 (Benítez y D'Arcy 1998; Nee 2001; Nee, en prep.) y 175 especies (D'Arcy 2001). Francey (1935, 1936) reportó 44 especies en la región del Amazonas; 93 especies en la Cordillera de los Andes; 26 especies en Centroamérica; 42 especies en las Antillas y 36 especies en México. Otras estimaciones a nivel regional son las siguientes: Gentry y D'Arcy (1986) reportaron 36 especies endémicas de *Cestrum* para Mesoamérica; D'Arcy (1973) registró 20 especies para Panamá; Gentry y Standley (1974) reportaron 25 para Guatemala; D'Arcy (2001) reconoció 12 especies para Nicaragua; en Perú, Brako y Zarucchi (1993) estimaron 32 especies; Benítez y D'Arcy (1998) hicieron referencia de 31 especies para Venezuela; para Ecuador, Jorgensen y León-Yanés (1999) listan

28 especies; en Argentina, Zuloaga y Morrone (1999) reportan 11 especies; para Colombia, Mora y Orozco (2002) aceptan 44 especies, incluyendo las cultivadas.

Las estimaciones más recientes de especies de este género en México son restringidas a algunas regiones: para el Valle de México, Pérez-Hernández (2001) considera seis especies; Rodríguez (2004) reporta 18 especies en Oaxaca; Nee (1986) reporta 14 especies para Veracruz; Breedlove (1986) reporta para Chiapas 20 especies. En los listados florísticos de Durango, Quintana Roo y Tabasco sólo se han reportado una especie por estado. De cualquier forma se debe de tomar con cautela estos números, ya que el descubrimiento de nuevas especies prosigue (Zanoni 1995; Benítez y D'Arcy 1995; Benítez y Sawyer 1999; Montero, enviada), y especies de México y Costa Rica serán publicadas en un futuro. Un ejemplo de ello es Venezuela, donde se ha realizado el trabajo taxonómico más exhaustivo para este género; Benítez y D'Arcy (1999) reportan 12 nuevos registros para ese país, que considerando la sinonimia que estos autores proponen, representan 7 especies más que las reportadas para Venezuela en la revisión del género hecha por Francey (1935-1936).

Por lo que respecta a la distribución de la sección *Habrothamnus*, Nee (en prep.), considera que la sección incluye ocho especies: *C. elegans*, *C. endlicheri*, *C. fasciculatum* y *C. roseum*, todas ellas endémicas de México, y *C. sphaerocarpum*, *C. virgaurea* y *C. violaceum*, las cuales son endémicas a La Española (Haití y República Dominicana), y sólo se considera dentro de esta sección una especie de Centroamérica, *C. irazuense*. Por otra parte, Francey (1935-1936), además de considerar otras especies que se distribuyen en México, como *C. flavescens*, *C. miradorensis* y *C. oblongifolium*, sólo toma en cuenta a *C. virgaurea*, especie que se distribuye en La Española, pero en cambio incluye varias especies de Centroamérica, como *C. guatemalense*, *C. irazuense*, *C. pacayense*, *C. regelii* y *C. chiriquianum*; la inclusión de esta última especie amplía la distribución de *Habrothamnus* hasta Panamá, idea que coincide con la perspectiva de la

distribución de *Habrothamnus* de D`Arcy (1973). En resumen, Francey y Nee consideran dentro de la sección *Habrothamnus*, especies distribuidas en la Sierra Madre Oriental-Faja volcánica Transmexicana, las montañas de La Española, las montañas de Costa Rica-Panamá, y la diferencia principal entre estos autores es la ausencia de especies en el macizo montañoso de Guatemala-Chiapas en el concepto de Nee (en prep). En la Figura 1 se visualizan estos dos puntos de vista en distribución de *Habrothamnus*.

Biología floral de *Cestrum*

Cestrum, al igual que *Vestia* y *Sessea*, otros géneros incluidos en la tribu Cestreae, tiene flores tubulares arregladas en inflorescencias axilares. Las flores de *Vestia* se diferencian fácilmente de las de *Cestrum*, porque sus estambres y estigma sobrepasan considerablemente el largo del tubo de la corola. Las flores de las especies de *Sessea* y *Cestrum* son más difíciles de diferenciar entre sí, pero ésto se puede lograr al observar la posición de la superficie estigmática, la cual es oblicua en *Sessea* y apical en *Cestrum* (Benítez y D`Arcy 1998).

Las flores de las especies de *Cestrum* son hermafroditas, pentámeras, pediceladas y bracteoladas. Se presentan dispuestas en inflorescencias axilares, paniculadas, racimosas o fasciculadas y se distribuyen en el follaje a lo largo de las ramas (sección *Cestrum*) o son terminales en la rama (sección *Habrothamnus*). En la sección *Cestrum*, el cáliz se ajusta a la corola, la cual es hipocrateriforme, de colores discretos (crema, verde) y lóbulos estrechos. En la sección *Habrothamnus* el cáliz es inflado, la corola tiene forma de clava con boca constreñida, es de colores llamativos (rojo, púrpura, lila, amarillo) y lóbulos amplios. Entre las diferentes especies, los estambres están adnados a distintos niveles en el tubo de la corola. Cerca del punto de inserción de los filamentos de las anteras se pueden presentar abultamientos o dientes con o sin pubescencia. Las anteras son oblongas. El ovario es ovoide con tejido nectarial rodeando su

base, el número de óvulos por ovario oscila entre 8-32. El estilo es recto y papiloso cerca del ápice, el estigma es capitado o levemente lobulado. En el caso de las especies de la sección *Cestrum*, además de las características antes mencionadas, tienden a tener una apertura floral crepuscular o nocturna y en este lapso las flores suelen ser aromáticas. Las especies de *Habrothamnus* abren durante todo el día sin despedir aroma floral alguno. Con base en estas características se entiende la tendencia de dividir taxonómicamente a las especies de *Cestrum*, sin embargo, estos dos tipos básicos de estructura floral han sido interpretados como síndromes florales determinados por polinizadores (D'Arcy 1999).

La mayoría de los estudios que tienen que ver con la polinización de las especies de *Cestrum* se ha enfocado a especies de la sección *Cestrum*. El caso más conocido es la visita por insectos nocturnos atraídos por la fuerte fragancia en *C. nocturnum* (Overland 1960; Faegri y Van der Pijl 1979). Los mecanismos fisiológicos de la apertura y cierre de las flores en esta especie fueron estudiados en condiciones de laboratorio por Overland (1960), concluyendo que la producción de fragancia no es afectada por el fotoperíodo, pero que depende de las condiciones de temperatura. Se han llevado a cabo estudios con *C. parqui* (Percival 1961), *C. corymbosum* (Gottsberger et al. 1984) y *C. bracteatum* (Bernardello et al. 1994) caracterizando la composición del néctar. White et al. (1994) determinó que las longitudes de onda larga reflejadas por la corola de *C. fragile* son un atrayente efectivo para las polillas.

En el ámbito de observaciones de campo, Bawa et al. (1985) en Costa Rica, deducen que *C. megalophyllum* presenta características florales asociadas a la polinización por mariposas nocturnas. Otras observaciones en aquel país reportan la fenología de *C. alternifolium*, *C. scandens* y *C. nocturnum* (Haber y Frankie 1989) y contabilizan 14 especies diferentes de polillas que frecuentan estas especies. Las especies estudiadas tienen corolas de 16 mm de largo y las diferentes especies de polillas tienen longitudes de probosis que oscilan entre 12-126 mm.

Castro-Laportte y Ruíz-Zapata (2000) estudiaron la polinización de *C. bigibbosum*, *C. megalophyllum*, *C. microcalyx*, *C. potaliifolium* y *C. salicifolium* en Venezuela. Reportan apertura nocturna y producción de fragancia en las cinco especies, así como la visita de 19 especies de mariposas nocturnas de las familias Noctuidae, Crambidae y Artiiidae. En este estudio, a diferencia del estudio de Haber y Frankie (1989), los supuestos polinizadores presentan probosis de longitud similar a las corolas de las especies de *Cestrum*. Estos autores observaron que las polillas de la familia Sphingidae no frecuentan a estas especies de *Cestrum*. Por este motivo estos autores consideran que el tipo de polinización no debe ser nombrado esfingofilia sino falenofilia. Adicionalmente Castro-Laportte y Ruíz-Zapata reportan en *C. potaliifolium* la visita por la mañana de colibríes.

En cuanto a las especies de la sección *Habrothamnus* son contados los reportes de aspectos relacionados con la polinización. Percival (1961) ha estudiado la composición de néctar de *C. aurantiacum*, *C. elegans* y *C. newelli*, reportando ligeras diferencias en composición, pero todas con néctar compuesto básicamente de sucrosa. Este tipo de néctar es preferido tanto por colibríes como esfingidos (Stiles 1976; Procter et al. 1996). No es extraño, por lo tanto, que esta misma composición de néctar también se presente en especies de la sección *Cestrum* como *C. corymbosum* (Gottsberger et al. 1984) y *C. bracteatum* (Bernardello et al. 1994).

Se ha sugerido que la diversificación de *Habrothamnus* se debe a la interacción de estas plantas con sus polinizadores (Benítez y D'Arcy 1998; D'Arcy 1999); sin embargo, se ha recabado poca evidencia directa. D'Arcy (1999) especula sobre la adaptación de las flores en las especies de *Habrothamnus* como una respuesta a la presión ejercida por colibríes de Norte América, quienes migran estacionalmente a México. Observa que tanto las especies de *Cestrum* con flores rojas como las de flores amarillas hay una tendencia a presentar un cáliz grande y engrosado y considera que éste puede servir para evitar el robo de néctar. Especula que el cáliz

grande surgió ancestralmente y después las flores rojas evolucionaron, también supone que en especies que se distribuyen en áreas donde no llegan los colibríes de Norte América, el color rojo es el ancestral y posteriormente evolucionó a amarillo. Además considera que como la luz amarilla es vista por esfíngidos y colibríes, puede ser mantenida evolutivamente por los beneficios que posibilitan tener dos polinizadores.

El trabajo de campo desarrollado en esta tesis no fue diseñado para realizar observaciones de la biología reproductiva, pero ocasionalmente se confirmó la interacción de especies de la sección *Habrothamnus* y sus supuestos polinizadores. Se observó que especies de flores rojas (*C. elegans*, *C. endlicheri* y *C. fasciculatum*) fueron visitadas por colibríes, uno fue identificado como *Atthis ellioti* Ridgway, 1878 (identificado por la Dra. Blanca E. Hernández Baños). La especies de flores amarillas *C. aurantiacum* y *C. oblongifolium* fueron visitadas por especies de colibríes no identificados. La especie nueva de *Cestrum* de flor naranja (ver apéndice), la cual presenta una forma de corola característica de *Habrothamnus*, fue visitada por una especie de mariposa diurna identificada como *Pterourus pilumnus* Boisduval, 1836 (identificado por la M. en C. Isabel Vargas Fernández). También fue posible observar colibríes interactuando con *C. poasanum* (sección *Cestrum*), especie de flores moradas y aroma floral fuerte. A pesar de lo parco de las observaciones se repiten lo reportado por Castro-Laportte y Ruíz-Zapata (2000) de especies visitadas por polinizadores que no corresponden al síndrome que despliegan las flores. Sin embargo, en todos estos casos es necesario corroborar cuáles de estos organismos visitantes son polinizadores efectivos.

LITERATURA CITADA

ATKINSON, G. C. y T. K. JAMES. 1979. Preliminary study on the control of red *Cestrum*.

Proceedings of the 32nd New Zealand Weed and Pest Control Conference: 289-291.

- BACKHOUSE, N., C. DELPORTE, R. NEGRETE, P. SALINAS, A. PINTO, S. ARAVENA, y B. K. CASSELS. 1996. Anti-inflammatory and antipyretic activities of *Cuscuta chilensis*, *Cestrum parqui* and *Psoralea glandulosa*. *International Journal of Pharmacognosy* 34: 53-57.
- BAWA, K., S. BULLOCK, D. PERRY, R. COVILLE y M. GRAYUM. 1985. Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. II. Pollination systems. *American Journal of Botany* 72: 346-356.
- BECKETT, K. A. 1987. *Cestrum* in cultivation. *The Plantsman* 9: 129-132.
- BENÍTEZ DE ROJAS, C. E. y W. G. D'ARCY. 1995. New species of *Cestrum* (Solanaceae) and synonymy under two widespread species. *Novon* 5: 311-317.
- BENÍTEZ DE ROJAS, C. E. y W. G. D'ARCY. 1998. The genera *Cestrum* and *Sessea* (Solanaceae: Cestreae) in Venezuela. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 85: 273-351.
- y —. 1999. Studies of Cestreae of Venezuela. Pp. 205-212. In: *Solanaceae IV: advances in biology and utilization*. M. Nee, D. E. Symon, R. N. Lester y J. P. Jessop (eds.). Kew: Royal Botanic Gardens.
- _____ y N. W. SAWYER. 1999. A new species of *Cestrum* (Solanaceae) from Cordillera de Mérida, Venezuela. *Brittonia* 51: 163-165.
- BREEDLOVE, D. E. 1986. Flora de Chiapas. Listados Florísticos de México IV. Instituto de Biología, UNAM pp. 246.
- BERNARDELLO, L. M., L. GALETTO, J. JARAMILLO y E. GRIJALBA. 1994. Floral nectar chemical composition of some species from Reserva Río Guajalito, Ecuador. *Biotropica* 26: 113-116.
- BRAKO, L. y J.L. ZARUCCHI. 1993. Catalogue of the flowering plants and gymnosperms of Peru. Monographs in Systemic Botany from the Missouri Botanical Garden 45: i-xl, A. Rudas y Ch. Taylor (eds.). 1098-1137 pp.
- CASTRO-LAPORTTE M. y RUÍZ-ZAPATA T. 2000. Biología floral y síndrome de polinización de cinco especies de *Cestrum* (Solanaceae). *Kurtiziana* 28: 205-210.
- D'ARCY, W. G. 1973. Solanaceae. In *Flora of Panama, Family 170*. R. E. Woodson y R.W. Schery (eds.). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 60: 573-780.
- D'ARCY, W. G. 1991. The Solanaceae since 1976, with a review of its biogeography. Pp. 75-137. In: *Solanaceae III: taxonomy, chemistry, evolution*. J. G. Hawkes, R.N. Lester, M. Nee, R. N. Estrada (eds.). Kew. Royal Botanical Gardens.

- D' ARCY, W. G. 1999. Red-flowered *Cestrum* and red-loving hummingbirds. Pp. 33-43. In: *Solanaceae IV: advances in biology and utilization*. M. Nee, D. E. Symon, R. N. Lester y J. P. Jessop (eds.). Kew: Royal Botanic Gardens.
- D' ARCY, W. G. 2001. Solanaceae. Pp. 2666. In: W. D. Stevens, C. Ulloa Ulloa, A. Pool, y O. M. Montiel. *Flora de Nicaragua*. Missouri Botanical Gardens Press. St. Louis Missouri, E. U. A.
- DUNAL, M. F. 1852. Solanaceae. In: A. de Candolle, *Prodromus* 13(1): 1-690. Paris.
- ENDLICHER, S. L. 1839. *Genera Plantarum* 1: 667 p. Viena.
- FAEGRI, K. y L. VAN DER PILJ. 1979. *The principles of pollination ecology*. Third edition. Pergamon Press, Oxford.
- FRANCEY, P. 1935. Monographie du genre *Cestrum* L. *Candollea* 6: 46-398.
- . 1936. Monographie du genre *Cestrum* L., partie II. *Candollea* 7: 1-132.
- GENTRY, J. L. y W. G. D' ARCY. 1986. Solanaceae of Mesoamerica. Pp 15-26. In: W. G. D' Arcy *Solanaceae: Biology and Systematics* (ed.). Columbia University Press. New York, E. U. A.
- GENTRY, J. L. JR. y P. STANDLEY. 1974. Solanaceae. In: Gentry, Jr., J. L. y P. C. Standley (eds.), *Flora of Guatemala - Part X, Numbers 1 and 2*. *Fieldiana, Botany*. 24(10/1--2): 1--151
- GOTTSBERGER, G., J. SCHRAUWEN y H. F. LINSKENS. 1984. Amino acids and sugars in nectar, and their putative evolutionary significance. *Plant Systematic and Evolution* 145: 55-77.
- HABER, W. A. y G. W. FRANKIE. 1989. A tropical hawkmoth community: Costa Rican dry forest *Sphingidae*. *Biotropica* 21: 156-172.
- HARAGUCHI, M., Y. MIMAKI, M. MOTIDOME, H. MORITA, K. TAKEYA, H. ITOKAWA, A. YOKOSUKA y Y. SASHIDA. 2000. Steroidal saponins from the leaves of *Cestrum sendtnerianum*. *Phytochemistry* 55: 715-720.
- JØRGENSEN, P. M. y S. León-Yáñez. 1999. *Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador*. Solanaceae. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden* 75: i-viii, ed. Jørgensen, P. M. y S. León-Yáñez). pp. 900-918.
- KNAPP, S., L. BOHS, M. NEE y D. M. SPOONER. 2004. Solanaceae — a model for linking genomics with biodiversity. *Comparative and Functional Genomics*. 5: 285–291.
- LINNAEUS, C. 1753. *Species Plantarum*. Stockholm.

- MORA, F. y C. I. OROZCO. 2002. Lista preliminar de las especies de *Cestrum* L. (Solanaceae) para Colombia. *Biota Colombiana*. 3 (1): 131-140.
- NEE, M. 1986. Solanaceae I. Flora de Veracruz 49: 1-191. INIREB, Xalapa, Mexico.
- NEE, M. 2001. An overview of *Cestrum*. Pp. 109-136. In: *Solanaceae V: advances in taxonomy and utilization*. R. G. van de Berg, G. W. M. Barendse, G. M. van der Weerden, y C. Mariano (eds.). Nijmegen University Press.
- NEE, M. en prep. Nomenclatural synopsis of genus *Cestrum*. Distribuido por el autor. New York, E. U. A. 73 p.
- OVERLAND, L. 1960. Endogenous rhythm in opening and odor of flowers of *Cestrum nocturnum*. *American Journal of Botany* 47: 378-382.
- PERCIVAL, M. 1965. Floral Biology. Pergamon Press, Oxford.
- PÉREZ-HERNÁNDEZ, S. 2001. Pp. 650-653. In: Rzedowsky, G. C. de y J. G. Rzedowsky (eds.). Flora fanerogámica del Valle de México. 2ª ed., Instituto de Ecología, A. C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y el Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán).
- PREMA, T. P. y N. RAGHURAMULU. 1994. Free vitamin D3 metabolites in *Cestrum diurnum* leaves. *Phytochemistry* 37: 677-681.
- PROCTER, M., P. YEO y A. LACK. 1996. The Natural History of Pollination. Timber Press, Portland, Oregon.
- RODRÍGUEZ, A. 2004. Solanáceas. Pp. 297-300. In: García-Mendoza, Abisaí J., María de Jesús Ordóñez y Miguel Briones-Salas (eds.). Biodiversidad de Oaxaca. Coedición con: Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza: World Wildlife Fund, UNAM, Instituto de Biología. México.
- SCHLECHTENDAL, F. D. L. 1833. Plantis Mexicanis. *Linnaea* 8: 251.
- . 1847. Plantae Leiboldianae (Dicotyleae). *Linnaea* 19: 269.
- STILES, F. G. 1976. Taste preferences and flower choice in hummingbirds. *Condor* 78: 10-26.
- SYKOROVA, E., Y. LIM-KAR, M. W. CHASE, S. KNAPP, I. J. LEITCH, A. R. LEITCH y J. FAJKUS. 2003. The absence of Arabidopsis-type telomeres in *Cestrum* and closely related genera *Vestia* and *Sessea* (Solanaceae): First evidence from eudicots. *The Plant Journal* 34: 283-291.
- URBAN, I. 1903. Nova genera et species II. *Symbolae Antillarum* 3: 370-371.

- VILLASEÑOR, J. L. 2003. Diversidad y distribución de las Magnoliophyta de México. *Interciencia*. 28: 160-167.
- WHITE, R. H., R. D. STEVENSON, R. R. BENNETT, D. E. CUTLER y W. A. HABER. 1994. Wavelength discrimination and the role of ultraviolet vision in the feeding behavior of hawkmoths. *Biotropica* 26: 427-435.
- ZANONI, T. 1995. *C. milciomejiae*. Pp. 263-265. In: T. Zanoni y R. García (eds.). Notes on the flora of Hispaniola. *Annals of the Carnegie Museum* 64: 255-265.
- ZULOAGA F. O. y O. MORRONE. 1999. Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina. Dicotyledoneae. *Monographs in Systematic Botany* 74. Missouri Botanical Garden Press.

Tablas y figuras

Tabla 1. Resumen de la sinonimia de los nombres incluidos en la sección *Habrothamnus* de acuerdo a diferentes autores.

Este Estudio	Según Schlechtendal (1833)	Según Schlechtendal (1847)	Según Dunal (1852)	Según Francey (1935)	Según Nee (2000)
<i>C. aurantiacum</i>			<i>C. aurantiacum</i>	<i>C. aurantiacum</i>	
				<i>C. aurantiacum</i> var. <i>macrocalyx</i>	
				<i>C. aurantiacum</i> var. <i>chaculanum</i>	
				<i>C. aurantiacum</i> fma. <i>flavum</i>	
				<i>C. aurantiacum</i> var. <i>warscewiczii</i>	
<i>C. chiriquianum</i>				<i>C. paucinervium</i>	
<i>C. X cultum</i>				<i>C. chiriquianum</i>	
<i>C. dasyanthum</i>				<i>C. X cultum</i>	
<i>C. elegans</i>		<i>C. elegans</i>	<i>C. elegans</i>	<i>C. elegans</i>	<i>C. elegans</i>
				<i>C. elegans</i> var. <i>longiflorum</i>	
				<i>C. elegans</i> var. <i>totula</i>	
				<i>C. newellii</i>	
			<i>C. sylvaticum</i>		
<i>C. paniculatum</i>		<i>C. paniculatum</i>			
<i>C. endlicheri</i>	<i>M. corymbosa</i>	<i>C. endlicheri</i>	<i>C. endlicheri</i>	<i>C. endlicheri</i>	<i>C. endlicheri</i>
<i>C. fasciculatum</i>	<i>Meyenia fasciculata</i>	<i>C. fasciculatum</i>	<i>C. fasciculatum</i>	<i>C. fasciculatum</i>	<i>C. fasciculatum</i>
		<i>C. fasciculatum</i> var. <i>gracile</i>			
			<i>C. hartwegii</i>	<i>C. hartwegii</i>	
				<i>C. hartwegii</i> var. <i>pedicellatum</i>	
<i>C. flavescens</i>			<i>C. schiedei</i>		
			<i>C. flavescens</i>		

Tabla 1 continuación.

Este Estudio	Según Schlechtendal (1833)	Según Schlechtendal (1847)	Según Dunal (1852)	Según Francey (1935)	Según Nee (2000)
<i>C. guatemalense</i>				<i>C. guatemalense</i>	
<i>C. irazuense</i>				<i>C. irazuense</i>	<i>C. irazuense</i>
<i>C. milciomejiae</i>					
<i>C. miradoreense</i>				<i>C. miradoreense</i>	
<i>C. oblongifolium</i>				<i>C. decurrens</i>	
				<i>C. galeottianum</i>	
<i>C. pacayense</i>				<i>C. pacayense</i>	
				<i>C. kellermanii</i>	
<i>C. regelii</i>				<i>C. regelii</i>	
				<i>C. chiapense</i>	
				<i>C. jacaltenanginum</i>	
<i>C. roseum</i>		<i>C. roseum</i>	<i>C. roseum</i>	<i>C. roseum</i>	<i>C. roseum</i>
		<i>C. benthamii</i>	<i>C. benthamii</i>	<i>C. benthamii</i>	
			<i>C. porphyreum</i>	<i>C. porphyreum</i>	
			<i>C. uhdei</i>		
<i>C. sphaerocarpum</i>					<i>C. sphaerocarpum</i>
<i>C. valerioi</i>				<i>C. valerioi</i>	
<i>C. violaceum</i>					<i>C. violaceum</i>
<i>C. virgaurea</i>				<i>C. virgaurea</i>	<i>C. virgaurea</i>
<i>C. sotonunezii</i> sp. nov.					
No evaluado				<i>C. jacaltenanginum</i> var. <i>tomentosum</i>	
No <i>Habrothamnus</i>				<i>C. psittacinum</i>	
No Solanaceae		<i>C. cyaneum</i>			

Tabla 2. Características que fundamentan la propuesta de sinonimizar *Cestrum schiedei* Francey y *C. uhdei* Dammer ex Francey con *C. fasciculatum* (Schltdl.) Miers y *C. roseum* HBK, respectivamente.

<i>C. fasciculatum</i> (Schltdl.) Miers	<i>C. schiedei</i> Francey
Ramas densamente víscido-pubescentes, purpúreas.	Ramas hirsuto, pardo-rojizo.
Hojas ovadas o lanceolado-ovadas, 45-130 mm de largo, 20-60 mm de ancho.	Hojas ovado-lanceolada, angosta; 33-63 mm de largo, 8-11 mm de ancho.
Ápice agudo a acuminado, base aguda, cuneada o redondeada.	Ápice atenuado, aguda o acuminada; base aguda.
Hoja membranácea.	Hoja membranácea.
Pecíolo 3.5-23 mm largo x 0.7-1.2 mm grosor.	Pecíolo 3-5 mm largo x 0.7mm grosor.
Fascículos de 3-15 flores.	Fascículos de 2-4 flores.
Flor de 23-30 mm de largo.	Flor de 29.5 mm de largo.
Brácteas ovadas-lanceoladas, 5-20 mm largo x 1.5-12 mm ancho.	Brácteas ovado-lanceoladas, 5 mm largo x 1.5 mm ancho.
Cáliz obcónico, 6-19 mm largo x 3-6 mm ancho.	Cáliz obcónico, 6.5 mm largo x 4.5 mm grueso.
Cáliz purpuráceo, glabro o pubescente.	Cáliz verdoso, piloso.
Lóbulos de cáliz triangulo-lanceolados, de 1.7- 5 mm. largo, 1.5-2 mm. Ancho.	Lóbulos angostamente triangulares, de 3 mm de largo x 1.2 mm de ancho.
Corola coccínea.	Corola coccínea.
Exterior del tubo de la corola pubérula.	Exterior del tubo de la corola piloso.
Lóbulos triangulares de 2-2.5 mm de largo, 2-2,5 mm de ancho.	Lóbulos triangulares, acuminados 1.5-2 mm de largo x 1 mm de ancho.
Parte ventral de los lóbulos de la corola puberulo-tomentosa.	Parte ventral de los lóbulos de la corola pilosa.
Filamentos insertos al tubo de 6.5-9 mm.	Filamentos insertos al tubo de 9 mm.
Filamentos libres de 9.5-13 mm.	Filamentos libres de 11.5-13 mm.
Base de los filamentos dilatados, glandulosa, apenas sulcada, glabra o con tricomas.	Base de los filamentos dilatados, glandulosa, sin dientes.

Tabla 2. Continuación.

<i>Cestrum roseum</i> Kunth	<i>C. uhdei</i> Dammer ex Francey
Ramas densamente víscido-pubescentes purpúreas.	Ramas puberulentas-puberulentas, purpúreas pardas.
Hojas ovado u oblongo lanceolada. 40-178 mm de largo, 13-100 mm de ancho.	Hoja oblonga u ovado lanceolada. 40-60 mm de largo x 16-25 mm de ancho.
Ápice obtuso, agudo o atenuado; base redondeada, acuminada, asimétrica.	Ápice acuminado; base aguda.
Menbranácea.	Menbranácea.
Pecíolo de 6 a 29 mm de largo x 1.2-2.5 mm de grosor.	Pecíolo de 7-11 mm de largo x 1 mm de ancho.
Fascículos 4-12 flores.	fascículo de 3-6 flores.
Flor de 25-30 mm de largo.	Flor de 24 mm de largo.
Brácteas lanceoladas, de 8 a 31 mm de largo x 1.5-7 mm de ancho.	Bractea ovado-lanceolada de 8-12 mm de largo x 3-5 mm de ancho.
Cáliz obcónico, anguloso de 7.5-15 mm de largo x 4-4.5 mm de ancho.	Caliz obcónico, anguloso de 7mm de largo x 3 mm de ancho.
Cáliz verde purpuráceo, piloso.	Cáliz verde purpuráceo, piloso.
Cáliz con costillas prominentes.	Cáliz anguloso.
lóbulos largamente triangulares de 2-8 mm de largo x 1.1-2.6 de ancho.	lóbulos triangulares, acuminados de 2-2.5 mm de largo x 1.5 mm de ancho.
Corola de color rojo vino (guinda o morado oscuro).	No se menciona el color de la corola en la descripción original.
Exterior del tubo de la corola piloso o glabra.	Exterior del tubo de la corola glabro.
Lóbulos triangulares o lanceolados, 4.5 a 7, 9 mm largo x 2-4 de ancho.	Lóbulos triangular acuminados de 6 mm de largo x 2 mm de ancho.
Parte ventral de los lóbulos de la corola puberula.	Parte ventral de los lóbulos de la corola puberulo-tomentosa.
Filamentos insertos al tubo 9 a 13 mm.	Filamentos insertos al tubo 6.5.
Filamentos libres de 7 a 11 mm.	Filamentos libres de 8.5 mm.
Base de los filamentos geniculada, bi-dentada o edentada, pilosa.	Base de los filamentos engrosada, villosa-capilácea.

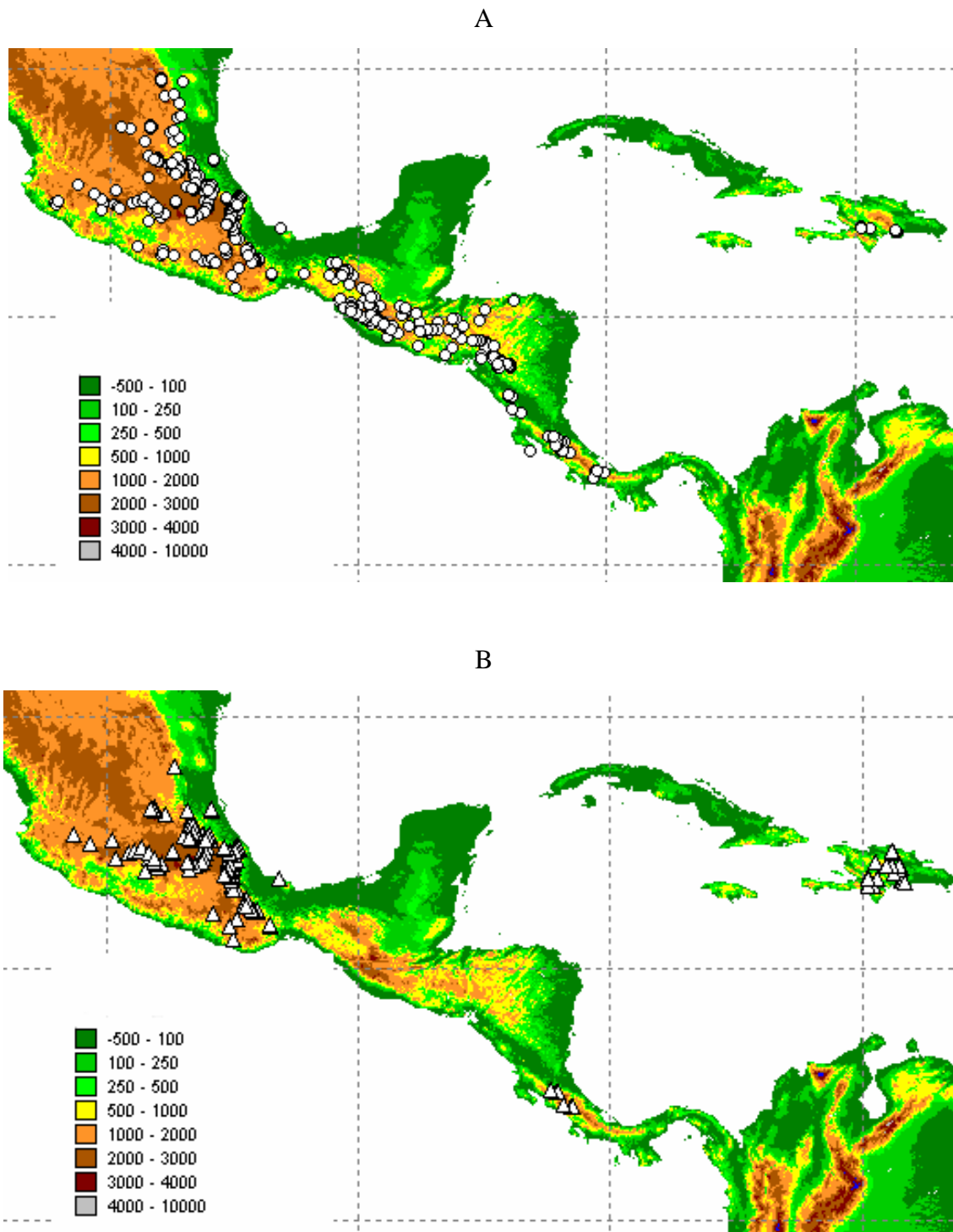


Figura 1. Distribución de las especies incluidas en la sección *Habrothamnus* . A.- de acuerdo con Francey (1935-1936). B.- de acuerdo con Nee (en prep.). La ausencia de especies en el macizo montañoso de Guatemala-Chiapas en el concepto de Nee es la discrepancia entre estos conceptos.

CAPÍTULO II

Phylogenetic Analysis of *Cestrum* section *Habrothamnus* (Solanaceae) Based on Plastid and Nuclear DNA sequences

MONTERO-CASTRO, J. C., A. DELGADO-SALINAS, E. DE LUNA y L. E. EGUIARTE

Systematic Botany 34(4): 00-00. Aceptada

ABSTRACT. Phylogenetic analysis from chloroplast regions and nuclear ribosomal ITS sequences was conducted to evaluate the monophyly of *Cestrum* sect. *Habrothamnus* and investigate its relationships with other sections of *Cestrum*. Molecular divergence was very low among the sampled species, suggesting a rapid diversification in *Cestrum*. Individual and combined analyses of these molecular data sets using maximum parsimony and Bayesian inference reject the monophyly of the traditionally recognized sections of *Cestrum*, including sect. *Habrothamnus*. Infrageneric classifications will require significant revision. Nevertheless, the resolved monophyletic clades in this molecular analysis are geographically structured.

INTRODUCTION

The genus *Cestrum* is distributed from southern Florida and northern Mexico to Chile, including the Antilles. However, a few species (e.g., *C. nocturnum*, *C. elegans*, and *C. parqui*) have become naturalized in several regions of the world. Species of *Cestrum* range from trees, and shrubs, to vines with sympodial, polyaxial, and monochasial branching (Bell and Dines 1995). Species of *Cestrum* are well-known for their ornamental (Beckett 1987), chemical and pharmacological potential (e.g., Prema and Raghuramulu 1994; Backhouse et al. 1996; Haraguchi-Mitsue et al. 2000). Attention has recently been brought to *Cestrum* because of its chromosomal structural novelties that imply systems of chromosome maintenance unknown in the eudicots (Sykorova et al. 2003). *Cestrum* is easily confused morphologically with the Andean genus *Sessea*. *Cestrum* has berries with angular seeds, whereas *Sessea* has capsular fruits with winged seeds (Benítez and D’Arcy 1998; Benítez and D’Arcy 1999; Benítez and Nee 2001; Nee 2001). Nevertheless, Macbride (1962) and Carvalho and Schnoor (1997) have united the two genera. Also *Cestrum* and *Sessea* share distinctive chromosomes (Sykorova et al. 2003), and in a phylogenetic analysis of the Antillean subfamily Goetzeoideae (Santiago-Valentín and Olmstead 2003) *Cestrum* and *Sessea* were resolved as well-supported sister taxa.

The genus *Habrothamnus* (Schlechtendal 1833; Endlicher 1839) was reduced to a section of *Cestrum* (Schlechtendal 1847), which has since been followed by other botanists (e.g., Dunal 1852; Francey 1935, 1936; D’Arcy 1973). Urban (1903) proposed sect. *Pseudocestrum* to include the Hispaniolan endemic, *C. inclusum*. According to Nee’s nomenclatural synopsis (Nee, in prep.) three sections are recognized in *Cestrum*: sections *Cestrum*, *Habrothamnus*, and *Pseudocestrum*. Section *Habrothamnus* includes eight species, which contrasts with Francey’s classification (1935, 1936) where 28 species and eight varieties are included. All species of section

Habrothamnus are confined to the mountains of Central Mexico, Chiapas-Guatemala, Costa Rica-Panama, and Hispaniola, and are morphologically distinguished by inflorescences mostly terminal, club-shaped, bright-red or yellow corolla tube, diurnal flowering, and hummingbird pollination (D'Arcy 1999; Nee 2001; Nee, in prep.).

Although, species of *Cestrum* have been included in phylogenetic studies of the family Solanaceae (Olmstead and Palmer 1992; Olmstead et al. 1999; Santiago-Valentín and Olmstead 2003; Marshall 1999; Chase et al. 2003; Clarkson et al., 2004) the monophyly of *Cestrum* or the inter-relationships of its constituent species have never been addressed. The aim of this paper is to address these issues, with emphasis in the monophyly of *Habrothamnus*, using nuclear ribosomal 5.8S and ITS DNA sequences and chloroplast DNA sequences from the regions *trnT-trnL*, *trnL-trnF*, and *matK-trnK*. Likewise, we explore the utility of these sequence data for resolving a species-level phylogeny for subsequent studies that will include all species of *Cestrum*.

MATERIALS AND METHODS

Taxon Sampling. Species that have been considered as part of sect. *Habrothamnus* (18 accessions, Appendix 1) were primarily targeted for analysis. *Cestrum dasyanthum*, the recently described *C. milciomejiae* (Zanoni 1995), and *Cestrum* sp. nov. were also included because they have the diagnostic characteristics of sect. *Habrothamnus*. Representative species of the other two *Cestrum* sections were sampled using morphology as guide to capture maximum diversity, including eight species of sect. *Cestrum* and five species of sect. *Pseudocestrum* (sensu Nee, in prep.). Thus, a total of 32 *Cestrum* species sampled across the three sections of *Cestrum* (Appendix 1) were analyzed. Twenty five species from Mexico, Guatemala, Dominican

Republic, Costa Rica, and Panama were freshly collected and preserved in silica gel (Chase and Hills 1991). Voucher specimens are deposited at the National Herbarium of Mexico (MEXU) unless noted otherwise in Appendix 1. Collections of the following herbaria were consulted: A, BIGU, C, CGE, CR, F, G, GH, HAL, INB, JBSD, M, MEXU, MICH, MO, NY, PMA, S, UC, US, USJ, XAL, Z. Species of *Sessea*, *Salpiglossis*, and *Vestia* are known to be closely related to *Cestrum* (Olmstead et al. 1999) and thus serve as the outgroups. Samples of *Sessea* were donated by Michael Nee (New York Botanical Garden) and Lynn Bohs (University of Utah). Some sequences of *C. elegans*, *C. nocturnum*, *Vestia foetida*, and *Salpiglossis sinuata* were obtained from the GenBank (Appendix 1).

DNA Extraction, Amplification and Sequencing. Total genomic DNA was extracted using the DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Inc.). The ITS region were amplified with the oligos 18 and 26 used by Käss and Wink (1997). The *trnT-trnL* region was amplified with primers designed by Taberlet et al. (1991) and new internal primers designed for this study: A3 (5'-TCATTTTCAATTTGAATGG-3') and B4 (5'-GAATACTTGAACGGTCG-3'). For the *matK-trnK* region we used the oligo *r2* developed by Steele and Vilgalys (1994) and the oligo *I309F* designed by Paul Kores (unpublished, Jodrell Laboratory, Royal Botanic Gardens, Kew, UK). Amplification reactions were performed according to the manufacturer's instructions (Qiagen Inc.). PCR programs differ for each region; for the ITS region the thermocycler was programmed using the Käss and Wink (1997) profile, but annealing at 48°C. For the *trnL-trnF* region, a PCR cycling profiling from Taberlet's protocol (1991) was carried out. In the case of the *trnT-trnL* region, the previous routine was modified given the annealing temperature to 48°C. PCR cycling conditions for *matK-trnK* region were used following the protocol of Salazar et al. (2003). All PCR reactions were performed in a 9700 (PE Applied Biosystems) thermal cycler. PCR products were cleaned with the QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen Inc.). DNA sequencing was

performed with the ABI Prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit, v. 3.0, polymerase (Applied Biosystems). Both forward and reverse sequences were obtained in an ABI Prism 3100 (Applied Biosystems Inc.) automated sequencer. All DNA sequences obtained in this study have been deposited in GenBank. Sequences alignments were obtained initially with ClustalW (Thompson et al. 1994), and subsequently refined manually following the guidelines of Kelchner (2000) with BIOEDIT (Hall 1997-2001). Aligned data sets are available on TreeBASE (SN0000).

Phylogenetic Analyses. Each of the ITS and plastid regions was analyzed separately and in combination, and all phylogenetic analyses were performed with PAUP* version 4.0b (Swofford 1998). All characters and character-state changes were weighted equally. All character transformations were treated as unordered (Fitch 1971). Phylogenetically informative indels were coded as separate presence-absence characters according to the simple indel coding scheme of Simmons and Ochoterena (2000). Maximum parsimony analysis was carried out with three thousand random addition replicates using the heuristic search option with TBR branch-swapping, and 50 trees were held at each step. Clade stability was assessed by bootstrap (BP; Felsenstein 1985), with 500 replicates using the heuristic search option with TBR branch swapping. Partition homogeneity tests (ILD Test; Farris *et al.* 1995) were carried out with 500 replicates using heuristic settings as in the bootstrap analysis. PAUP and ModelTest version 3.7 (Posada and Crandall 1998) were employed to select among alternative models of evolution using Akaike Information Criterion (AIC, Akaike 1974) as outlined by Posada and Crandall (1998). Bayesian phylogenetic analysis was performed with MrBayes 3.0b4 (Huelsenbeck and Ronquist 2001). Monte Carlo Markov chains starting with a random tree were run for seven million generations. The majority consensus tree was computed after "burn in" and sampling every 5,000 generations.

RESULTS

Data set of individual molecular markers show extremely low sequence divergence among *Cestrum* taxa and only some phylogenetic information (Table 1). The molecular divergence found in *Cestrum* species is below that found in other Solanaceae genera (Table 2). The best fit models were GTR+G for ITS data, F81 for *trnT-trnL* data, and TVM+G for *trnL-trnF* and *matK-trnK* data. The ILD test reveals no conflict between the ITS and chloroplast data sets ($P = 0.1914$). The combined data set included 2,944 sites and 19 indel characters. The parsimony analysis of the combined data set produced 129,250 most-parsimonious trees. Despite this large number, the strict consensus was well resolved (Fig. 1).

All *Cestrum* species were resolved as a monophyletic group sister to *Sessea vestita* (Fig. 1). In contrast, *Sessea* was resolved as paraphyletic with *S. stipulata* placed as sister to *Vestia foetida*. *Habrothamnus* sensu lato was not resolved as monophyletic and neither were the other two sections of *Cestrum* (Fig. 1). Although some clades had low bootstrap support, they showed geographical structure (Fig. 1). The *Central-Mex* clade contains species distributed in mountains of Central Mexico, and includes six species of sect. *Habrothamnus* and two of sect. *Cestrum*. The *Talamanca* clade contains species distributed throughout Costa Rica and Panama, and comprises two species of sect. *Habrothamnus* and one of sect. *Cestrum*. The *Guatemala* clade includes species inhabiting the mountains of Chiapas and adjacent Guatemala, and comprises two species of sect. *Cestrum* as basal grade and a subclade with six taxa of sect. *Habrothamnus*. The *Central Mex*, *Talamanca*, and *Guatemala* clades are part of a polytomy that also contains the unresolved *C. poasanum*, *C. fulvescens*, and *Cestrum* sp. nov. Although this large clade has bootstrap support < 50 %, all 22 constituent species are continental. The *Hispaniola* clade is resolved with some support and comprises species restricted to Haiti and Dominican Republic, including four species

of sect. *Habrothamnus* and three of sect. *Pseudocestrum*. The sister clade of the *Hispaniola* clade contains one species of sect. *Cestrum*, and two of sect. *Pseudocestrum*.

DISCUSSION

The molecular divergence in Solanaceae is low in comparison to other lineages of plants (Shaw et al. 2005). The nuclear ITS region was the most informative in this study, providing more clades with greater support and more parsimony informative characters than any of the chloroplast partitions (Table 1). Even though *Cestrum* is well resolved as monophyletic, the molecular divergence among the *Cestrum* subgroups is the lowest reported for any of the Solanaceae genera (Table 2), even as low as *Ceratozamia* (González and Vovides 2002). These low levels of molecular divergence among the sampled species of *Cestrum* resulted in clades with low bootstrap supports. In contrast to the low molecular divergence, there is a remarkable morphological diversity in the genus, both suggests a recent and rapid diversification in *Cestrum*. Regardless, the limited sampling in this analysis suggests that *Sessea* is distinct from *Cestrum* (Fig. 1), thus supporting the traditional circumscription of *Cestrum*. The paraphyly of *Sessea* needs to be validated with additional sampling of this and related genera.

In all of the analyses, *Habrothamnus* (sensu Schlechtendal 1847; Dunal 1852; Francey 1935, 1936; Nee, in prep.) was never resolved as monophyletic. The infrageneric classifications of *Cestrum* have relied primarily on floral structures related to pollination syndromes, which according to the evidence presented here, have evolved convergently. Schlechtendal (1847) included in *Habrothamnus* the species *Cestrum elegans*, *C. endlicheri*, *C. fasciculatum*, and *C. roseum*. These species grouped within of Central-Mex clade, as did others such as *C. laxum* and *C. miradoreense*. These newly resolved clades are inconsistent with the diagnosis of

Schlechtendal. Similarly, all other circumscriptions of *Habrothamnus* (Dunal 1852; Francey 1935; Nee, in prep.) are inconsistent with Schlechtendal's classification and also with the clades resolved in this study.

With regard to the validity of sect. *Pseudocestrum*, our results show that the Hispaniola clade includes species of sections *Habrothamnus* and *Pseudocestrum*, all occurring in Haiti and Dominican Republic. Included among these is *C. inclusum*, the type species of sect. *Pseudocestrum* (Urban 1903; Nee, in prep.). This assemblage may be monophyletic given its geographic distinction, and thus probably should be referred to as sect. *Pseudocestrum*. More Antillean species need to be sampled, however, to validate this.

Otherwise, the combined analysis resolved four clades each of which has a moderately narrow geographical distribution. The *Central-Mex* clade is confined almost entirely to Mexico and comprises three subclades each with their own distinctive geographic localization. One of these includes two narrow endemics, *C. miradorensis* and *C. endlicheri*, along with *C. fasciculatum* and *C. elegans* that all occur along mainly in the Sierra Madre Oriental (SMO). Another subclade includes *C. roseum* from the Transmexican Volcanic Belt (TVB) and *C. oblongifolium* distributed along SMO, from Tamaulipas to Hidalgo. Both of these species overlap in Hidalgo. The third clade includes *C. laxum* and *C. thyrsoides*, both distributed along TVB. *Cestrum laxum* is also found in Guatemala.

The Talamanca clade includes three species that all occur in the Talamanca Cordillera. The narrow endemic *C. irazuense* is localized in the northwest portion of this mountain range, and *C. chiriquianum* is restricted to Panama in the southeast portion of this Cordillera. *Cestrum fragile* occurs throughout this range.

The species of the *Guatemala* clade converge in the highlands of Chiapas-Guatemala. The narrow endemic *C. dasyanthum* is restricted to Cuchumatanes Mountains, where it co-occurs

with *C. regelii*, which also can be found in other Chiapas localities. The geographically restricted *C. pacayense* occurs on the volcanoes near Guatemala City. With wider ranges, *C. guatemalense* and *C. luteovirescens* extend their distributions from Chiapas to Honduras and El Salvador. *Cestrum aurantiacum* occurs in the mountains from western Mexico to Costa Rica, but *C. aurantiacum* var. *macrocalyx* is distributed in Guatemala and in the northwest portion of Talamanca Cordillera. The species with the broadest distribution in this clade is *C. nocturnum*, which has been collected from northern South America to Mexico and several islands of Greater and Lesser Antilles. However, Nee (2001) considers that this species has escaped from cultivation and its original distribution is more restricted in the region of Veracruz, Mexico, south to Nicaragua. The detection of the Guatemala clade somewhat supports this idea.

The species of the *Hispaniola* clade also are a combination of widely distributed and narrow endemics. *Cestrum acutifolium*, *C. milciomejiae*, and *C. tuerckheimii* are distributed in different locations along the Central Cordillera. *Cestrum violceum* is localized in the southern Sierra de Bahoruco-Massif de la Selle, whereas *C. virgaurea* is known only from the Sierra de Neiba-Chaîne des Matheux. *Cestrum inclusum* and *C. sphaerocarpum* are distributed throughout all of these same mountain ranges. The sister group of the *Hispaniola* clade is weakly resolved as such (Fig. 1), and includes three continental species. One of these is a Guatemalan endemic, *C. mortonianum*, and two are more broadly distributed, *C. tomentosum* and *C. glanduliferum*. The *Hispaniola* clade and its sister clade are separated by an oceanic barrier, thus forming a transcontinental crown clade (sensu Lavin et al. 2004) that could be of recent origin via dispersal given the lack of nucleotide sequence variation among these island endemics and their mainland relatives (cf. Lavin et al. 2004).

Each geographically confined clade includes both narrow endemics and more broadly distributed species. Geographical proximity predicts phylogenetic relationships in *Cestrum*.

Although this could be explained by vicariance events, long distance dispersal is thought to be equally explanatory if not more (Lavin et al. 2004). Similar patterns have been observed in Annonaceae, Rhamnaceae (Richardson et al. 2004), Melastomataceae (Renner 2004), and Leguminosae (Lavin et al. 2004; Schrire et al. 2004). The limited molecular divergence among the sampled species of *Cestrum* together with the geographical phylogenetic structure suggests that this pattern could be recently evolved, thus implicating dispersal over vicariance. But to test this hypothesis will require an evolutionary rates analysis (e.g., Lavin et al. 2004), for which fossils of *Cestrum* (or closely related genera) will be needed as time constraints. Such analysis will also require a broader sampling of South American and Antilles species to validate that geographical integrity of the clades resolved in this study.

ACKNOWLEDGEMENTS. We gratefully acknowledge the material and intellectual help of Michael Nee. Assistance to obtaining the studied collections was provided by Mario Sousa Sánchez and María del Rosario García Peña. We also thank the curators of the following herbaria for help in loans and hospitality: A, BIGU, C, CGE, CR, F, G, GH, HAL, INB, JBSD, M, MEXU, MICH, MO, NY, PMA, S, UC, US, USJ, XAL, Z. Lynn Bohs donated material of *Sessea* to obtain DNA. Thanks to the following institutions for courtesies extended during field work: Centro Científico Tropical (Reserva Biológica Bosque Nuboso Monteverde), Instituto Nacional de Biodiversidad and Museo Nacional de Costa Rica; Universidad de San Carlos, Guatemala; Universidad de Panamá and Smithsonian Tropical Research Institute; Jardín Botánico Nacional, Dr. Rafael Ma. Moscoso, Dominican Republic. DNA sequencing and to reagents were provided by Laboratory of Molecular Biology, Instituto de Biología, UNAM. Thanks for technical assistance to Laura Márquez Valdelamar, Solange Sotuyo, Pedro Mercado Ruaro and Gerardo Salazar Chávez. Matt Lavin and anonymous reviewers provided valuable

comments and ideas to an earlier draft of the manuscript. This research was partially supported by a scholarship granted by Dirección General de Estudios de Posgrado, UNAM and Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (N° 158345).

LITERATURE CITED

- AKAIKE, H. 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control* 19: 716-723.
- BACKHOUSE, N., C. DELPORTE, R. NEGRETE, P. SALINAS, A. PINTO, S. ARAVENA, and B. K. CASSELS. 1996. Anti-inflammatory and antipyretic activities of *Cuscuta chilensis*, *Cestrum parqui* and *Psoralea glandulosa*. *International Journal of Pharmacognosy* 34: 53-57.
- BECKETT, K. A. 1987. *Cestrum* in cultivation. *The Plantsman* 9: 129-132.
- BELL, A. D. and T. D. DINES. 1995. Branching patterns in the Solanaceae. Pp. 157-171 in *Experimental and molecular approaches to plant biosystematics. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden* 53, eds. P. C. Hoch and A. G. Stephenson. St. Louis: Missouri Botanical Garden Press.
- BENÍTEZ DE ROJAS, C. E. and W. G. D'ARCY. 1998. The genera *Cestrum* and *Sessea* (Solanaceae: Cestreae) in Venezuela. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 85: 273-351.
- and —. 1999. Studies of Cestreae of Venezuela. Pp. 205-212 in *Solanaceae IV: advances in biology and utilization*, eds. M. Nee, D. E. Symon, R. N. Lester and J. P. Jessop. Kew: Royal Botanic Gardens.
- and M. NEE. 2001. The neotropical genus *Sessea* (Solanaceae): a preliminary survey. Pp. 153-159 in *Solanaceae V: advances in taxonomy and utilization*, eds. R. G. van de Berg, G. W. M. Barendse, G. M. van der Weerden, and C. Mariani. Nijmegen University Press.
- BOHS, L. 2004. A chloroplast DNA phylogeny of *Solanum* section *Lasiocarpa*. *Systematic Botany* 29: 177-187.
- CARVALHO, L. and A. SCHNNOOR. 1997. *Sessea* Carv. et Schnoor, uma nova seção para o gênero *Cestrum*. *Rodriguésia* (Rio de Janeiro) 45: 15-24.

- CHASE, M. W. and H. G. HILLS. 1991. Silica gel: an ideal material for field preservation of leaf samples for DNA studies. *Taxon* 40: 215-220.
- , S. KNAPP, A. V. COX, J. J. CLARKSON, Y. BUTSKO, J. JOSEPH, V. SAVOLAINEN, and A. S. PAROKONNY. 2003. Molecular systematics, GISH and the origin of hybrid taxa in *Nicotiana* (Solanaceae). *Annals of Botany* 92: 107-127.
- CLARKSON, J. J., S. KNAPP, V. F. GARCÍA, R. G. OLMSTEAD, A. R. LEITCH, and M. W. CHASE. 2004. Phylogenetic relationships in *Nicotiana* (Solanaceae) inferred from multiple plastid regions. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 33: 75-90.
- D'ARCY, W. G. 1973. Solanaceae. In *Flora of Panama, Family 170*, eds. R. E. Woodson and R.W. Schery. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 60: 573-780.
- D'ARCY, W. G. 1999. Red-flowered *Cestrum* and red-loving hummingbirds. Pp. 33-43 in *Solanaceae IV: advances in biology and utilization*, eds. M. Nee, D. E. Symon, R. N. Lester and J. P. Jessop. Kew: Royal Botanic Gardens.
- DUNAL, M. F. 1852. Solanaceae. In: A. de Candolle, *Prodromus* 13(1): 1-690. Paris.
- ENDLICHER, S. L. 1839. *Genera Plantarum* 1: 667 p. Viena.
- FARRIS, J. S., M. KÄLLERSJÖ, A. G. KLUGE, and C. BULT. 1995. Testing significance of incongruence. *Cladistics* 10: 315-319.
- FELSENSTEIN, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- FITCH, W. M. 1971. Toward defining the course of evolution: minimum change for a specific tree topology. *Systematic Zoology* 20: 406-416.
- FRANCEY, P. 1935. Monographie du genre *Cestrum* L. *Candollea* 6: 46-398.
- . 1936. Monographie du genre *Cestrum* L., partie II. *Candollea* 7: 1-132.
- FUKUDA, T., J. YOKOYAMA, and H. OHASHI. 2001. Phylogeny and biogeography of the genus *Lycium* (Solanaceae): inferences from chloroplast DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 19: 246-258.
- GONZÁLES, D. and A. P. VOVIDES. 2002. Low intralinear divergence in *Ceratozamia* (Zamiaceae) detected with nuclear ribosomal DNA ITS and chloroplast DNA *trnL-F* non-coding region. *Systematic Botany* 27: 654-661.

- HALL, T. 1997-2001. BioEdit. Biological sequence alignment editor for Windows 95/98/NT (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>). Department of Microbiology. North Carolina State University.
- HARAGUCHI, M., Y. MIMAKI, M. MOTIDOME, H. MORITA, K. TAKEYA, H. ITOKAWA, A. YOKOSUKA, and Y. SASHIDA. 2000. Steroidal saponins from the leaves of *Cestrum sendtnerianum*. *Phytochemistry* 55: 715-720.
- HUELSENBECK, J. P. and F. RONQUIST. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* 17: 754-755.
- KÄSS, E. and M. WINK. 1997. Phylogenetic relationships in the Papilionoideae (family Leguminosae) based on nucleotide sequences of cpDNA (*rbcL*) and ncDNA (ITS 1 and 2). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 8: 65-88.
- KELCHNER, S. A. 2000. The evolution of non-coding chloroplast DNA and its application in plant systematics. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 87: 482-498.
- LAVIN, M., B. P. SCHRIRE, G. LEWIS, R. T. PENNINGTON, A. DELGADO-SALINAS, M. THULIN, C. E. HUGHES, A. B. MATOS, and M. F. WOJCIECHOWSKI. 2004. Metacommunity process rather than continental tectonic history better explains geographically structured phylogenies in legumes. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 359: 1509-1522.
- MACBRIDE, J. F. 1962. Solanaceae, Flora of Peru. *Publications of the Field Museum of Natural History. Botanical series* 13(V-B,1): 3-267.
- MARSHALL, J. A. 1999. Molecular systematics of *Solanum* section *Lycopersicum* (*Lycopersicon*): nuclear ITS rDNA sequences. Thesis of Ph. D. Department of School of Biosciences, Nottingham University, University Park, Nottingham, U.K.
- MILLER, J. S. 2002. Phylogenetic relationships and the evolution of gender dimorphism in *Lycium* (Solanaceae). *Systematic Botany* 27: 416-428.
- NEE, M. 2001. An overview of *Cestrum*. Pp. 109-136 in *Solanaceae V: advances in taxonomy and utilization*, eds. R. G. van de Berg, G. W. M. Barendse, G. M. van der Weerden, and C. Mariani. Nijmegen University Press.
- OLMSTEAD, R. G. and J. D. PALMER. 1992. A chloroplast DNA phylogeny of the Solanaceae: subfamilial relationships and character evolution. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 79: 346-360.

- , J. A. SWEERE, R. E. SPANGLER, L. BOHS, and J. D. PALMER. 1999. Phylogeny and provisional classification of the Solanaceae based on chloroplast DNA. Pp. 111-137 in *Solanaceae IV: advances in biology and utilization*, eds. M. Nee, D. E. Symon, R. N. Lester, and J. P. Jessop. Kew: Royal Botanic Gardens.
- POSADA, D. and K. A. CRANDALL. 1998. ModelTest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817-818.
- PREMA, T. P. and N. RAGHURAMULU. 1994. Free vitamin D3 metabolites in *Cestrum diurnum* leaves. *Phytochemistry* 37: 677-681.
- RENNER, S. S. 2004. Multiple Miocene Melastomataceae dispersal between Madagascar, Africa and India. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 359: 1485-1494.
- RICHARDSON, J. E., L. W. CHATROU, J. B. MOLS, R. H. J. ERKENS, and M. D. PIRIE. 2004. Historical biogeography of two cosmopolitan families of flowering plants: Annonaceae and Rhamnaceae. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 359: 1495-1508.
- SALAZAR, G. A., M. W. CHASE, M. A. SOTO-ARENAS, and M. INGROUILLE. 2003. Phylogenetics of Cranichideae with emphasis on Spiranthinae (Orchidaceae, Orchidoideae): evidence from plastid and nuclear DNA Sequences. *American Journal of Botany* 90: 777-795.
- SANTAGO-VALENTÍN, E. and R. G. OLMSTEAD. 2003. Phylogenetics of the Antillean Goetzeoideae (Solanaceae) and their relationships within the Solanaceae based on chloroplast and ITS DNA sequence data. *Systematic Botany* 28: 452-460.
- SCHLECHTENDAL, F. D. L. 1833. Plantis Mexicanis. *Linnaea* 8: 251.
- . 1847. Plantae Leiboldianae (Dicotyleae). *Linnaea* 19: 269.
- SCHRIRE, B. D., LAVIN, M., and G. P. LEWIS. 2004. Global distribution patterns of the Leguminosae: insights from recent phylogenies. In *Plant diversity and complexity patterns: local, regional and global dimensions*, eds. I. Friis & H. Balslev. Biologiske Skrifter 55: 375-422.
- SHAW, J., E. B. LICKEY, J. T. BECK, S. B. FARMER, W. LIU, J. MILLER, K. C. SIRIPUN, C. T. WINDER, E. E. SCHILLING, and R. L. SMALL. 2005. The tortoise and the hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *American Journal of Botany* 92: 142-166.

- SIMMONS, M. P. and H. OCHOTERENA. 2000. Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analysis. *Systematic Biology* 49: 369-381.
- STEELE, K. P. and R. VILGALYS. 1994. Phylogenetic analysis of Polemoniaceae using nucleotide sequences of the plastid gene *matK*. *Systematic Botany* 19: 126-142.
- SWOFFORD, D. L. 1998. PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). v. 4.0 beta 10. Sunderland: Sinaur Associates.
- SYKOROVA, E., Y. LIM-KAR, M. W. CHASE, S. KNAPP, I. J. LEITCH, A. R. LEITCH, and J. FAJKUS. 2003. The absence of Arabidopsis-type telomeres in *Cestrum* and closely related genera *Vestia* and *Sessea* (Solanaceae): First evidence from eudicots. *The Plant Journal* 34: 283-291.
- TABERLET, P., L. GEILLY, G. PAUTOU, and J. BOUVET. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology* 17: 1105-1109.
- THOMPSON, J. D., D. G. HIGGINS, and T. J. GIBSON. 1994. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673-4680.
- URBAN, I. 1903. Nova genera et species II. *Symbolae Antillarum* 3: 370-371.
- WHITSON, M. and P. S. MANOS. 2005. Untangling *Physalis* (Solanaceae) from the Physaloids: a two-gene phylogeny of the Physalinae. *Systematic Botany* 30: 216-230.
- ZANONI, T. 1995. *C. milciomejiae*. Pp. 263-265 in T. Zanoni and R. García. Notes on the Flora of Hispaniola. *Annals of the Carnegie Museum* 64: 255-265.

Voucher specimens associated with GenBank accession numbers of all sequences analyzed in this study. The infrageneric classification of *Cestrum* was modified from Nee (in prep.). All vouchers are deposited at MEXU unless otherwise noted. The first author identified all species. *Sessea stipulata* was identified by Michael Nee.

Sect. *Habrothamnus* (Endl.) Schltld.: *C. aurantiacum* Lindl., Montero 247, Acatenango, Guatemala, ITS DQ508656, *trnT-L* DQ508588, *trnL-F* DQ508622, *matK-trnK* DQ508552; *C. aurantiacum* var. *macrocalyx* Francey ex Cuf., Montero 252, Huehuetenango, Guatemala, ITS DQ508657, *trnT-L* DQ508589, *trnL-F* DQ508623, *matK-trnK* DQ508553; *C. chiriquianum* Francey, Dressler 4002, Boquete, Panama, ITS DQ508658, *trnT-L* DQ508590, *trnL-F* DQ508624, *matK-trnK* DQ508554; *C. dasyanthum* Donn. Sm., Montero 260, Huehuetenango, Guatemala, ITS DQ508659, *trnT-L* DQ508591, *trnL-F* DQ508625, *matK-trnK* DQ508555; *C. elegans* (Brongn.) Schltld., Chase 12217, K, ITS AJ492459, *trnL-F* AJ577458, *C. elegans* (Brongn.) Schltld., Montero 197, Oaxaca, Mexico, *trnT-L* DQ508592, *matK-trnK* DQ508556; *C. endlicheri* (Schltld.) Miers, Montero 480, Veracruz, México, ITS DQ508660, *trnT-L* DQ508593, *trnL-F* DQ508626, *matK-trnK* DQ508557; *C. fasciculatum* (Schltld.) Miers, Montero 167, Hidalgo, Mexico, ITS DQ508661, *trnT-L* DQ508594, *trnL-F* DQ508627, *matK-trnK* DQ508558; *C. guatemalense* Francey, Montero 248, Chimaltenango, Guatemala, ITS DQ508665, *trnT-L* DQ508598, *trnL-F* DQ508631, *matK-trnK* DQ508562; *C. irazuense* Kuntze, Montero 466, Chirripó, Costa Rica, ITS DQ508667, *trnT-L* DQ508600, *trnL-F* DQ508633, *matK-trnK* DQ508564; *C. milciomejiae* T. Zanoni, Montero 291, Peravia, Dominican Republic, ITS DQ508670, *trnT-L* DQ508603, *trnL-F* DQ508636, *matK-trnK* DQ508567; *C. miradoreense* Francey, Montero 220, Veracruz, Mexico, ITS DQ508671, *trnT-L* DQ508604, *trnL-F* DQ508637, *matK-trnK* DQ508568; *C. oblongifolium* Schltld., Montero 192, Hidalgo, Mexico, ITS DQ508674, *trnT-L* DQ508607, *trnL-F* DQ508639, *matK-trnK* DQ508571; *C. pacayense* Francey, Montero 445, Volcán Pacaya, Guatemala, ITS DQ508675, *trnT-L* DQ508608, *trnL-F* DQ508640, *matK-trnK* DQ508572; *C. regelii* Planch., Montero 441, Chiapas, Mexico, ITS DQ508677, *trnT-L* DQ508610, *trnL-F* DQ508642, *matK-trnK* DQ508574; *C. roseum* HBK, Montero 205, Estado de México, Mexico, ITS DQ508678, *trnT-L* DQ508611, *trnL-F* DQ508643, *matK-trnK* DQ508575; *Cestrum* sp. nov., Montero 213, Guerrero, Mexico, ITS DQ508680, *trnT-L* DQ508614, *trnL-F* DQ508645, *matK-trnK* DQ508578; *C. sphaerocarpum* O. E. Schulz, Montero 293, Peravia, Dominican Republic, ITS DQ508679, *trnT-L* DQ508612, *trnL-F*

DQ508644, *matK-trnK* DQ508576; *C. violaceum* Urb., Montero 297, Pedernales, Dominican Republic, ITS DQ508684, *trnT-L* DQ508617, *trnL-F* DQ508649, *matK-trnK* DQ508581; *C. virgaurea* Urb. et Ekman, Montero 302, Independecia, Dominican Republic, ITS DQ508685, *trnT-L* DQ508618, *trnL-F* DQ508650, *matK-trnK* DQ508582. Sect. *Cestrum* Schltldl.: *C. fragile* Francey, Montero 464, Chirripó, Costa Rica, ITS DQ508662, *trnT-L* DQ508595, *trnL-F* DQ508628, *matK-trnK* DQ508559; *C. fulvescens* Fernald, Montero 234, Oaxaca, Mexico, ITS DQ508663, *trnT-L* DQ508596, *trnL-F* DQ508629, *matK-trnK* DQ508560; *C. glanduliferum* Kerber ex Francey, Sanders 10332, Colima, Mexico, ITS DQ508664, *trnT-L* DQ508597, *trnL-F* DQ508630, *matK-trnK* DQ508561; *C. laxum* Benth., Montero 310, Distrito Federal, Mexico, ITS DQ508668, *trnT-L* DQ508601, *trnL-F* DQ508634, *matK-trnK* DQ508565; *C. luteovirescens* Francey, Montero 242, Volcán Acatenango, Guatemala, ITS DQ508669, *trnT-L* DQ508602, *trnL-F* DQ508635, *matK-trnK* DQ508566; *C. mortonianum* J. L. Gentry, Montero 263, San Miguel Dueñas, Guatemala, ITS DQ508672, *trnT-L* DQ508605, *trnL-F* DQ508638, *matK-trnK* DQ508569; *C. nocturnum* L., Matthaei Botanical Garden #21314 (Not voucher), *trnL-F* AY206723, *C. nocturnum* L., Montero 249, Quezaltenango, Guatemala, ITS DQ508673, *trnT-L* DQ508606, *matK-trnK* DQ508570; *C. poasanum* Donn. Sm., Montero 450, Heredia, Costa Rica, ITS DQ508676, *trnT-L* DQ508609, *trnL-F* DQ508641, *matK-trnK* DQ508573; *C. thyrsoides* HBK., Torres 7734, Michoacán, Mexico, ITS DQ508681, *trnT-L* DQ508613, *trnL-F* DQ508646, *matK-trnK* DQ508577. Sect. *Pseudocestrum* Urb.: *C. acutifolium* Alain, Montero 308, Peravia, Dominican Republic, ITS DQ508655, *trnT-L* DQ508587, *trnL-F* DQ508621, *matK-trnK* DQ508551; *C. inclusum* Urb., Montero 290, Peravia, Dominican Republic, ITS DQ508666, *trnT-L* DQ508599, *trnL-F* DQ508632, *matK-trnK* DQ508563; *C. tomentosum* L. f., Linares 6502, Francisco Morazán, Honduras, ITS DQ508682, *trnT-L* DQ508615, *trnL-F* DQ508647, *matK-trnK* DQ508579; *C. tuerckheimii* O. E. Schulz, Montero 309, Peravia, Dominican Republic, ITS DQ508683, *trnT-L* DQ508616, *trnL-F* DQ508648, *matK-trnK* DQ508580. Sister Genus, *Sessea* Ruiz & Pav.: *Sessea stipulata* Ruiz & Pav., Nee 51820 NY, Bolivia, ITS DQ508653, *trnT-L* DQ508585, *trnL-F* DQ508619, *matK-trnK* DQ508549; *S. vestita* (Hook.) Miers, Bohs 3144, Ecuador, ITS DQ508654, *trnT-L* DQ508586, *trnL-F* DQ508620, *matK-trnK* DQ508550. Outer outgroup: *Vestia foetida* (Ruiz & Pav.) Hoffmannseg, Lewis 509, cultivate Kew, ITS DQ508652, *trnT-L* DQ508584, *matK-trnK* DQ508548; *Vestia foetida* (Ruiz & Pav.) Hoffmannseg BIRM S.0105, *trnL-F* AY206769; *Salpiglossis erecta* (Dunal) D' Arcy, Hinton 18467, Nuevo León,

México, ITS DQ508651, *trnT-L* DQ508583, *matK-trnK* DQ508547; *Salpiglossis sinuata* Ruiz & Pav. BIRM S.0181 (R. Olmstead S-71 WTU) *trnL-F* AY206730.

TABLE 1. Nucleotide sequence statistics for ITS and chloroplast regions *trnL-trnF*, *trnT-trnL*, and *matK-trnK*. Information is given for separate and combined analyses. The consistency index (CI) was computed excluding parsimony uninformative characters. Simple indel indicates gaps that have similar 5' and 3' termini. Compound indel indicates gaps that have different 5' or 3' termini.

	ITS	<i>trnT-trnL</i> spacer	<i>trnL-trnF</i> spacer	<i>matK-trnK</i> spacer	Combined plastid	All combined
Length range (bp)	626-669	669-855	374-407	424-463	1,479-1,660	2,050-2,327
Aligned length including gaps (bp)	679	1,306	427	501	2,234	2,913
Simple / Compound indels	21 / 2	11 / 8	6 / 3	5 / 2	22 / 13	43 / 28
Missing data	27 (0.01 %)	34 (0.01 %)	11 (0.007 %)	6 (0.003 %)	51 (0.009 %)	78 (0.01%)
Variable characters among all taxa	128 (18.85 %)	113 (8.6 %)	54 (12.6 %)	46 (9.2 %)	213 (9.53 %)	341 (11.7 %)
Variable characters among <i>Cestrum</i> species	42 (6.2 %)	59 (4.5 %)	8 (1.9 %)	14 (2.8 %)	81 (3.6 %)	123 (4.2 %)
Informative characters among all taxa	39 (5.7 %)	23 (1.8 %)	10 (2.3 %)	9 (1.8 %)	42 (1.9 %)	81 (2.8 %)
Informative characters among <i>Cestrum</i> species	15 (2.2 %)	9 (0.7 %)	4 (0.9 %)	5 (1.0 %)	18 (0.8 %)	33 (1.1 %)
Most parsimonious trees / Tree length	149800 / 159	48920 / 105	49800 / 42	149850 / 51	47150 / 142	129250 / 354
Nodes with bootstrap support > 50 %	9	4	4	5	8	14
CI (RC); RI	0.72 (0.82); 0.73	0.72 (0.82); 0.76	0.86 (0.93); 0.88	0.86 (0.93); 0.89	0.72 (0.83); 0.76	0.65 (0.76); 0.65

TABLE 2. Sequence statistics of ITS and chloroplast regions *trnL-trnF*, *trnT-trnL*, and *matK-trnK* for various genera of Solanaceae. The number of species analyzed in each study is reported in parentheses after the genus. Values derived from Miller (2002) and Whitson and Manos (2005) involved species of *Grabowskia* and *Margaranthus* because these genera were resolved as nested within *Lycium* and *Physalis*, respectively.

	<i>Lycium</i> (32 sp.) Miller (2002)	<i>Nicotiana</i> (71 sp.) Chase et al. (2003)	<i>Physalis</i> (59 sp.) Whitson and Manos (2005)	<i>Solanum</i> (38 sp.) Bohs (2004)		<i>Lycium</i> (27 sp.) Fukuda et al. (2001)	
Partition	ITS	ITS	ITS	<i>trnT-trnL</i>	<i>trnL-trnF</i>	<i>trnT-trnL</i>	<i>trnL-trnF</i>
Aligned length	653	694	709	910	833	622	386
Variable characters	190 (29 %)	261 (38 %)	184 (26 %)	77 (8 %)	94 (11.3%)	13 (2.1 %)	3 (0.78 %)
Informative characters	104 (16 %)	159 (23 %)	134 (19 %)	25 (2.7 %)	39 (4.7 %)	7 (1.1 %)	2 (0.52 %)

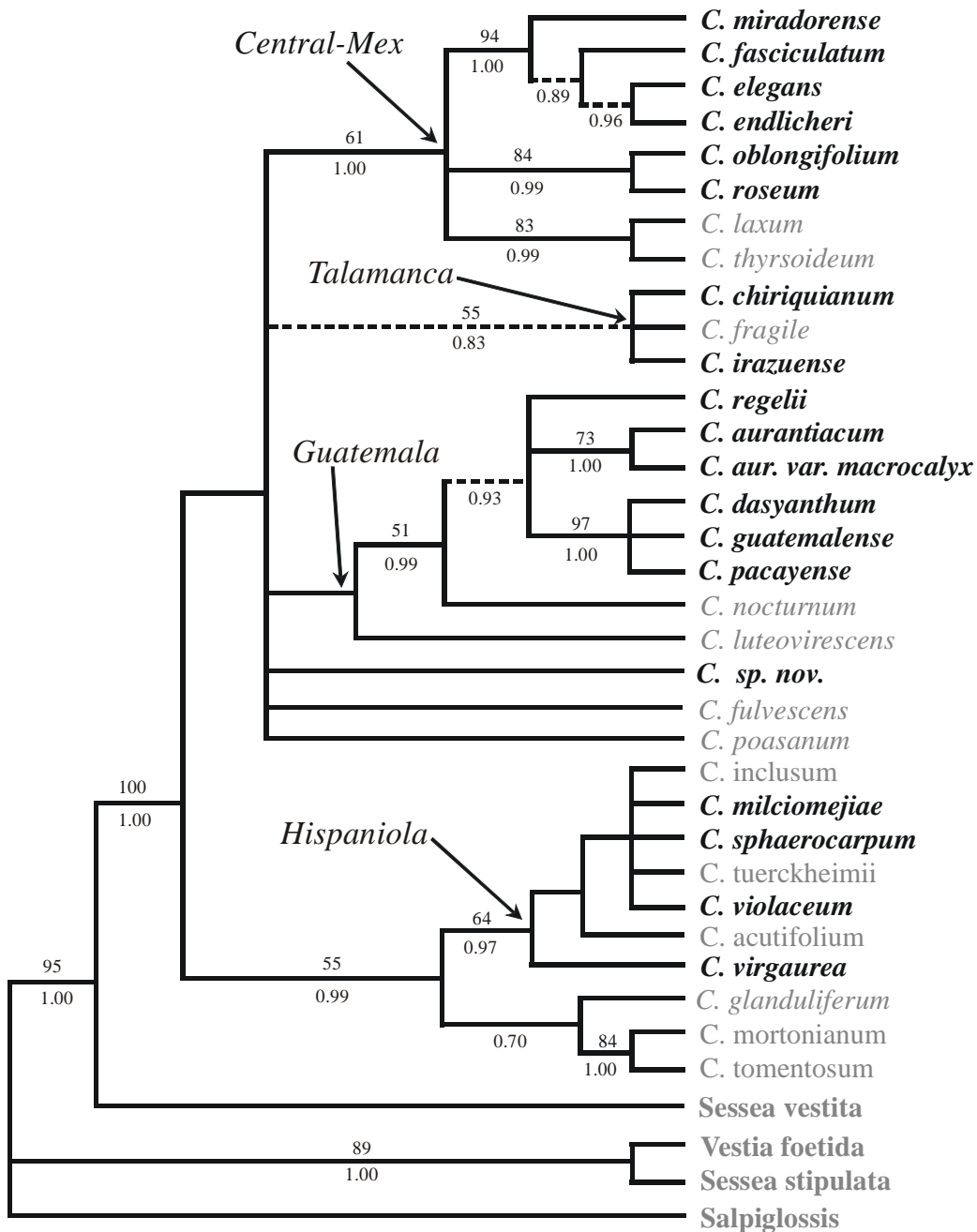


FIG. 1. Strict consensus tree of 129,250 most parsimonious trees derived from analysis of combined plastid and nuclear data set. Parsimony bootstrap supports are reported above and Bayesian posterior probabilities below the corresponding branches. Dashed lines indicate clades unresolved in the strict consensus tree. See Table 1 for tree statistics. Species of sect. *Habrothamnus* are in boldface italics, those of sect. *Cestrum* in italics, those of sect. *Pseudocestrum* species in normal setting, and those of the outgroups in boldface. Informal names assigned to clades (see text) are indicated with arrows.

CAPÍTULO III

Fecha de Solanaceae (asterides, eudicotiledóneas) con base en secuencias de ADN de cloroplasto y núcleo

RESUMEN

En este estudio se proporcionan estimaciones preliminares de la edad para los principales clados de la familia Solanaceae. Entre las diferentes especies de la familia se encuentran árboles, arbustos y hierbas, perennes o anuales, algunas de ellas de gran importancia económica y cultural. Con datos de ADN de tres regiones de cloroplasto y una de núcleo en forma separada o en diferentes combinaciones de los mismos, se reanalizan las relaciones dentro de la familia con el criterio de Verosimilitud Máxima. Nuestras estimaciones de la filogenia resultan congruentes con las estimaciones filogenéticas aceptadas en la actualidad. Ninguna de las filogenias obtenidas a partir de las diferentes particiones pasa la prueba de reloj molecular. Para cada una de ellas se estima las edades de sus clados con Verosimilitud Penalizada. Se incorpora información cronológica absoluta de fuentes independientes como fósiles y fechación basada en información molecular de otros estudios. Las edades estimadas para la cladogénesis en Solanaceae variaron discretamente entre las diferentes particiones y los diferentes esquemas de calibración. Esto confiere confianza en las estimaciones de las edades inferidas para los episodios más importantes en la evolución de la familia. La diversificación basal de las subfamilias ocurrió entre el Paleoceno y Eoceno (54 millones de años en promedio). Por último, los resultados obtenidos se comparan con estimaciones obtenidas en otros estudios y se discuten sus implicaciones.

INTRODUCCIÓN

La familia Solanaceae consta de 96 géneros y 3000 especies (D'Arcy 1986). Entre las diferentes especies hay algunas con gran importancia económica y cultural (jitomate, tomate, chile, tabaco, toloache, mandrágora, etc.). Estudios con datos ADN de cloroplasto y núcleo (Olmstead y Palmer 1992, Olmstead y Sweere 1994, Fay et al. 1998, Olmstead et al., 1999, Santiago-Valentín y Olmstead 2003, Clarkson, et al. 2004, Martins y Barkman 2005) han proporcionado una nueva visión de las relaciones intrafamiliares, redefiniendo las subfamilias y descubriendo la controversial monofilia entre la subfamilia Solanoideae y la subfamilia Nicotianoideae en el clado "X=12", nombrado así por Olmstead y Sweere (1994) por la sinapomorfia del número cromosómico $n=12$. Olmstead y Palmer (1992) consideran que la diversificación temprana de la familia Solanaceae es de una edad cercana a 50 MA. El registro fósil de la familia es escaso y relativamente reciente (e.g., Collinson et al. 1993) como para hacer estimaciones confiables de la edad de ésta. Por ejemplo, Magallón et al. (1999) estimaron con base en datos fósiles la edad mínima del orden Solanales en 53 millones de años (MA), mientras que Magallón y Sanderson (2001) consideraron la edad para el mismo orden en 44 MA. Fechaciones con datos moleculares obtienen edades entre 64 MA (Wikstrom et al. 2001) y 87 MA (Bremer et al. 2004) para la divergencia entre Solanaceae y Convolvulaceae. En estos trabajos los grupos tratados fueron las angiospermas y asterides respectivamente, por lo tanto el muestreo dentro de la familia Solanaceae fue pobre como para determinar confiablemente la edad del grupo corona (definido como los linajes que divergieron después del origen del ancestro común de los taxones que existen en la actualidad). Por otro lado, a nivel de género se ha estimado la edad del género *Nolana* (Tago 1999; Tago y Dillon 1999) en 11 millones de años y la edad de *Petunia* en 25 millones de años (Kulcheski et al. 2006). En el primer estudio se usó el supuesto de reloj

molecular para realizar la estimación. En cambio, para la estimación de la edad de *Petunia* no se restringió al supuesto de constancia de tasas utilizando un método Bayesiano y ocho puntos de calibración de otras familias.

La hipótesis de reloj molecular asume que los cambios en el material genético se acumulan a tasa constante sobre el tiempo (Zuckerlandl y Pauling 1965). En contraste la mayoría de los linajes de los cuales se ha obtenido su filograma presentan violaciones al reloj molecular (Soltis et al. 2002). Para explicar estas desviaciones se ha argumentado que, entre linajes, diferencias en tiempo generacional (Mooers y Harvey 1994; Bromham et al. 1996) y diferencias en riqueza de especies (Barracough y Savolainen, 2001; Webster et al. 2003) interfieren en la estimación de la tasa de cambio molecular. Incluso se ha observado que dentro de un mismo linaje la tasa de divergencia molecular es heterogénea entre genes y/o posiciones del codón (Magallón y Sanderson 2005). Por otro lado, las edades asignadas a los puntos de calibración influyen en las edades estimadas a través del árbol (Sanderson y Doyle 2001; Soltis et al. 2002; Near et al. 2005). Además se ha observado que los errores en las estimaciones filogenéticas aumentan la incertidumbre en la estimación de las edades (Sanderson y Doyle 2001). Con todos los problemas que se presentan en la estimación de edades, el error es inherente dificultando la estimación de los tiempos de divergencia. En vista de lo anterior es recomendable usar estrategias de muestreo de taxones y una combinación de varios genes para acotar la magnitud del error (Sanderson y Doyle 2001).

La familia Solanaceae es muy diversa en diferentes aspectos como la morfología de sus hojas, flores y frutos (Knapp 2002, Knapp 2002a). Esta compuesta por árboles, arbustos y hierbas, perennes o anuales, incluso dentro de un mismo género. Existen géneros con una o pocas especies hasta otros con un número de especies muy elevado (e.g. *Solanum* con ca. 1500 especies). La gran variabilidad de formas de vida y la diferencia en el número de especies entre

los diferentes géneros anticipa que la tasa de cambio molecular en la familia no se comporta de manera constante, y por consecuencia la estimación de las edades de los eventos de cladogénesis en la familia no será tarea fácil.

Para hacer frente a los problemas mencionados, se han desarrollado métodos que no se restringen al supuesto de reloj molecular (e.g., Sanderson 1997, Thorne et al. 1998; Yoder y Yang 2000; Aris-Brosou y Yang 2002; Britton et al. 2002; Sanderson 2002; Thorne y Kishino 2002). Uno de los más utilizados es el método desarrollado por Sanderson (2002) conocido como Verosimilitud Penalizada, el cual es un método semiparamétrico que combina un modelo que estima la tasa de sustitución en cada rama de una filogenia con una penalización numérica que impide cambios súbitos en las tasas de sustitución en las ramas de la filogenia, con base en el principio de autocorrelación temporal (Gillespie, 1991). Este método tiene la ventaja de permitir la calibración del reloj con información cronológica independiente.

En este estudio se hace uso de este método con diferentes filogenias de la familia estimadas con Verosimilitud Máxima, mismas que se obtuvieron a partir de diferentes combinaciones de datos moleculares de núcleo y cloroplasto, utilizando para ello diferentes niveles de muestreo. Se evaluaron los resultados de las diferentes particiones para explorar los efectos de muestreo y topologías alternativas en la estimación de las edades. Con lo anterior es posible ofrecer una hipótesis inicial de los tiempos de diversificación de la familia Solanaceae y brindar puntos de calibración para subsecuentes estudios a nivel de género.

MATERIAL y MÉTODO

Datos moleculares

Se utilizaron 143 secuencias de 71 especies disponibles en el GenBank (<http://www.gl.iit.edu/frame/genbank.htm>) y TreeBase (<http://www.treebase.org/treebase/>): del núcleo se

ocupó la secuencia que codifica la Metil-transferasa del Ácido Salicílico (SAMT; Martins y Barkman 2005); de cloroplasto fueron usadas tres secuencias *nadhF*, *rbcL*, *trnL-F* (para accesiones de GenBank ver Tabla 1). La muestra de taxones incluye los representantes de los linajes más importantes dentro de Solanaceae. Las especies *Alstonia boonei*, *Stephanotis floribunda* (Apocynaceae) *Ipomoea alba* e *Ipomoea coccinea* (Convolvulaceae) constituyeron el grupo externo. Algunas secuencias no están disponibles para algunos taxones, así que la inferencia filogenética se realizó tanto con las particiones por separado como con combinaciones de las mismas (Tabla 2); de esta manera se hace uso de todos los datos y al mismo tiempo se pone a prueba el efecto del muestreo en la estimación. Las secuencias fueron alineadas con el programa Clustal W (Thompson et al. 1994), refinando manualmente el alineamiento con el programa BIOEDIT (Hall 1997-2001).

Análisis filogenético

El modelo de evolución molecular que mejor ajusta a las diferentes particiones fue determinado con el criterio de información de Akaike (Akaike 1973), con ayuda del programa ModelTest v3.04 (Posada y Crandall 1998). Para estimar las topologías y largo de ramas óptimo, se utilizó el criterio de Verosimilitud Máxima con 100 réplicas al azar implementando el modelo de sustitución con mejor ajuste a los datos combinados. La robustez de las topologías fue asignada con Bootstrap no paramétrico (BP; Felsenstein 1985) con 500 réplicas. En ambos casos se utilizó la opción de búsqueda heurística con TBR con ayuda del programa PAUP*4.0 (Swofford 1998).

Calibración Fósil y Molecular

El fósil más reciente de esta familia fue encontrado en el límite entre el Mioceno y el Plioceno, formado por semillas del género actual *Physalis* (Szafer 1961). En el límite entre el Mioceno Medio y Superior se han encontrado fósiles de semillas atribuidas a *Solanum nigrum*, una especie actual (Van der Burgh 1987). De este mismo género se reporta polen fósil del Mioceno en México (Ramírez y Cevallos-Ferriz 2000). El fósil más antiguo de Solanaceae es *Cantisolanum daturoides* (Reid y Chandler 1926), un fósil del Eoceno, mismo que ha sido evaluado por Knapp (2002), especialista de la familia, quien lo considera relacionado al clado de especies con frutos tipo baya (subfamilia Solanoideae). Por esta razón, su edad fue asignada al clado del grupo corona representante de la subfamilia Solanoideae (clado-6, Fig. 1). Un resumen de las diferentes edades asignadas a cada fósil se resume en la Tabla 3. Otros puntos de calibración fueron las edades calculadas con datos moleculares para la divergencia entre Solanaceae y Convolvulaceae (raíz), la cual se le asignó alternativamente las edades estimadas por Wikström et al. (2001) de 64 MA o por Bremer et al. (2004) de 87 MA. Con estos datos se realizaron varios análisis de fechación alternando la posición del punto de calibración fija entre el clado-6 y la raíz (ver Tabla 4 y Fig. 1), es decir, cuando la raíz no funcionaba como punto fijo, su edad se consideraba como restricción de edad máxima, o cuando el clado-6 no funcionaba como punto fijo su edad se consideraba como restricción de edad mínima. Los nodos *Solanum* (clado-13) y *Physalis* (nodo terminal) siempre funcionaron como restricción de edad mínima.

Fechación

Primero se realizó una prueba de constancia de tasa de cambio molecular sobre cada árbol obtenido mediante el método de Langley-Fitch (1974), implementado en el programa r8s (Sanderson 2002a). Esta prueba compara la longitud de las ramas del árbol filogenético con las

longitudes obtenidas al forzar la constancia de tasas. Si la diferencia entre ambas es significativa, se rechaza la hipótesis nula de la constancia de tasas. A partir de cada uno de los árboles obtenidos de las diferentes particiones moleculares y cada uno de los diferentes esquemas de calibración (Tabla 4) se emprendió la siguiente rutina: se realizó una validación cruzada para determinar el parámetro de heterogeneidad que establece la transición entre la tasa de sustitución del antecesor y la del descendiente. Una vez obtenido este parámetro, se yuxtapone junto a los diferentes esquemas de calibración descritos en la sección anterior en un análisis de Verosimilitud Penalizada con el algoritmo TN (Sanderson 2002). Para cada clado se estimó su edad promedio, tasa de sustitución y sus desviaciones estándar.

Se realizaron análisis adicionales para estimar libremente la edad del clado-6, mismo que hasta este momento actuó como calibración. Para ello se eligió como punto de calibración la edad promedio del clado con especies con número cromosómico=12 (clado-5, Figura 1), estimada en el procedimiento anterior. Este clado fue seleccionado porque en estudios anteriores se ha demostrado su robustez y por su papel trascendental en la evolución de la familia.

RESULTADOS

Análisis filogenético

En todos los casos, el análisis de Verosimilitud Máxima encontró un solo árbol. Los árboles obtenidos con las particiones *rbcL* y *trnL-F* mostraron varias relaciones disímiles con la hipótesis filogenética aceptada para la familia (Olmstead y Palmer 1992, Olmstead y Sweere 1994, Olmstead et al. 1999, Martins y Barkman 2005) y por lo tanto fueron excluidas del estudio. En la Figura 1 se muestran los cinco árboles utilizados en los análisis subsecuentes. En estos casos se observa que se recuperan los clados coherentes con las principales subfamilias propuestas por Olmstead et al. (1999) como el clado “X=12” (clado-5 en este estudio). Las

principales discrepancias entre las diversas estimaciones filogenéticas se encuentran en las relaciones dentro de la subfamilia Solanoideae y el orden de ramificación en las partes bajas del árbol, en particular la relación de *Schwenckia* con los clados Cestroideae y Petunioideae.

Fechaición

Ninguno de los árboles pasó la prueba de constancia de tasas de Langley-Fitch (*nadhF*: $\chi^2=260.19$, $df=46$, $p=1.11 \times 10^{-31}$; SAMT: $\chi^2=193.53$, $df=23$, $p=6.31 \times 10^{-29}$; *nadhF-rbcL*: $\chi^2=186.27$, $df=26$, $p=3.64 \times 10^{-26}$; *nadhF-trnL-F*: $\chi^2=961.77$, $df=37$, $p=8.52 \times 10^{-178}$ *nadhF-trnL-F*-SAMT: $\chi^2=165.27$, $df=17$, $p=2.43 \times 10^{-26}$), lo que indica que las tasas de cambio varían ampliamente entre las diferentes ramas. Los valores del parámetro de heterogeneidad de acuerdo a los diferentes esquemas de calibración se presentan en la tabla 4. En la Tabla 5 se resumen las tasas de sustitución molecular y las edades obtenidos con las diferentes calibraciones. La tasa de sustitución en los datos de núcleo (SAMT) es en promedio casi cinco veces más rápida que la presente en cualquiera de las particiones de cloroplasto, aunque su desviación estándar es 2.5 veces mayor a la encontrada en los datos de cloroplasto. Por otro lado, la mayoría de los clados fechados con la partición de núcleo tuvieron edades más antiguas que las edades encontradas con las particiones de cloroplasto. Sólo el clado-17 (*Cestrum-Vestia*) y el clado-6 (subfamilia Solanoideae) tienen edades más antiguas con los datos de cloroplasto. Entre las diferentes particiones y esquemas de calibración, en promedio, el error inferior fue cercano a dos desviaciones estándar.

DISCUSIÓN

En las cinco filogenias datadas, *Schizanthus* es el grupo hermano del resto de Solanaceae (clado-1). Esta relación es encontrada también en otros estudios (e.g. Olmstead et al., 1999; Martins y Barkman 2005). Por estas razones aquí se considera a este nodo como el grupo corona de Solanaceae y, por definición, de aquí parte el grupo troncal de la subfamilia Schizanthoideae. La edad promedio estimada para este nodo es de 54 MA. Esta edad difiere de la estimada en Wikström et al. (2001) que es cercana a 40 MA. Sin embargo, hay que considerar que para estimar esta edad, este autor tomó en consideración un número limitado de especies de la familia.

En dos de las tres particiones de cloroplasto, fue reconocida la monofilia de la subfamilia Goetzeoideae (sensu Santiago-Valentín y Olmstead 2003), de la cual se obtuvo una edad de casi 49 MA (clado-2). Aunque la inclusión de las especies de esta subfamilia en Solanaceae ha sido polémica (Fay et al. 1998), el patrón que sugiere tiene importancia biogeográfica, ya que incluye géneros endémicos de América del Sur y las Antillas Mayores. Las especies de Las Antillas constituyen un grupo monofilético, cuya edad estimada como grupo corona es de 6.5 MA, aunque la divergencia entre éstas y las especies de América del Sur fue hace 22.5 MA. Lo anterior sugiere que su arribo a Las Antillas se produjera en el Mioceno Temprano, pero al parecer la diversificación peninsular de este linaje es considerablemente más reciente.

Uno de los problemas que persisten dentro de las relaciones de la familia es la posición de *Schwenckia*. A diferencia de otros estudios con cloroplasto donde *Schwenckia* es el grupo hermano de toda la familia (e.g. Santiago-Valentín y Olmstead 2003), en los análisis que aquí se realizaron con particiones de cloroplasto *Schwenckia*, constituye el grupo hermano de la subfamilia Petunioideae (clado-4). En cambio, en la partición de núcleo y en el análisis combinado, *Schwenckia* se ubica como el grupo hermano de la subfamilia Cestroideae (clado-3),

como sucede en el estudio de Martins y Barkman (2005). A pesar de lo anterior, la fechación de las dos alternativas arroja edades similares: 48 MA cuando se agrupa con Cestroideae y 46 MA cuando *Schwenckia* se agrupa con Petunioideae. La edad del grupo corona de Cestroideae (clado-11) es cercana a 40 MA, mientras que el grupo corona de Petunioideae (clado-10) tiene una edad de 37 MA. Esta edad es coherente con respecto a la fechación de Kulcheski et al. (2006) para la divergencia entre *Petunia* y *Calibrachoa* en 25 MA.

Dentro de Cestroideae, el clado que agrupa a *Cestrum* y *Sessea* (clado-19) también involucra una relación entre especies de América del Sur y las Antillas Mayores, ya que *Sessea* es un género de distribución sudamericana y *Cestrum* incluye un grupo de especies endémicas a las Antillas que al parecer es monofilético (Montero et al. 2006). Aunque las especies de *Cestrum* que se incluyeron en este estudio no son precisamente las especies distribuidas en Las Antillas, es de esperarse que si se hubieran incluido éstas, las edades estimadas serían similares. El clado *Cestrum-Sessea* (clado-18) tiene una edad de 9.5 MA mientras que el clado con especies de *Cestrum* (clado-19) presenta una edad de 2.5 MA. Estas edades son mucho más recientes a las inferidas para esta misma disyunción a partir de las especies de la subfamilia Goetzeoideae. Esto indica que la migración de la familia hacia las Antillas no es un evento aislado, sino que seguramente ocurrió mediante varias oleadas en el pasado.

Un descubrimiento desconcertante fue en su momento la monofilia de las subfamilias Solanoideae y Nicotianoideae en el clado “X=12” (Olmstead y Palmer 1992), ya que se carecía de caracteres morfológicos que sugirieran tal agrupamiento. Otros estudios han ratificado esta relación (Olmstead y Sweere 1994, Olmstead et al., 1999, Santiago-Valentín y Olmstead 2003, Martins y Barkman 2005) y el análisis que aquí se realizó no es la excepción. Para este clado la edad estimada es de 46 MA, mientras que la edad de sus clados anidados son: 40.5 MA para el grupo corona de la subfamilia Solanoideae (clado-6) y 38 MA para el grupo corona de la

subfamilia Nicotianoideae (clado-8). Contrario a la idea que tenía Olmstead y Palmer (1992) la diversificación de Nicotianoideae es más joven que la de Solanoideae. Sin embargo, el lapso de tiempo entre estas dos subfamilias y su antecesor es relativamente corto. Entonces, para poder explicar su divergencia morfológica es necesario suponer que al menos uno de estos linajes debió sufrir un evento evolutivo vertiginoso.

La subfamilia Nicotianoideae incluye un grupo importante de géneros distribuidos en Australia, y se ha sugerido que la incursión de especies de esta subfamilia en Australia se produjo cuando este continente y América del Sur se encontraban unidos con la Antártica (Raven y Axelrod 1974; Olmstead y Palmer 1992), pero la edad estimada aquí para la subfamilia no apoyaría tal evento vicariante, ya que Australia y la Antártica se separaron de Sudamérica hace 100 millones de años. Entonces, la única posibilidad para explicar esta disyunción es un evento de dispersión a larga distancia. En el mismo sentido para poder explicar la distribución actual de *Nicotiana* se ha argumentado con varios eventos más recientes de dispersión hacia Australia, África y Norte América (Clarkson et al. 2004). El clado-9 proporciona un estimado 21 MA para el desarrollo del proceso de diversificación en *Nicotiana*.

La subfamilia Solanoideae presenta varios géneros endémicos distribuidos en el Viejo Mundo como *Atropa* y *Mandragora*. Las afinidades de este último género no se pudieron establecer, ya que en cada filogenia se relaciona de forma diferente. Por su parte, *Atropa* recurrentemente se congrega en el clado *Nolana-Lycium* (clado-11), como sucede en otros estudios (Olmstead y Palmer 1992, Olmstead y Sweere 1994, Olmstead et al., 1999, Martins y Barkman 2005). Este agrupamiento es fechado aquí en 39 MA, e indica que Solanoideae tuvo procesos de dispersión muy antiguos hacia el Viejo Mundo. En cuanto a la edad de *Nolana-Lycium* (clado-12) se estimó en 28.5 MA, la cual contrasta con lo estimado por Tago (1999) y Tago y Dillon (1999) quienes, suponiendo constancia en la tasa de evolución molecular, estiman

con ITS y *matK* la divergencia de *Nolana* y su grupo hermano en 11 MA. Este es un claro ejemplo de las desviaciones que se presentan cuando se supone que los datos se comportan como un reloj molecular sin poner a prueba esta premisa.

Aparte del clado antes descrito, la subfamilia Solanoideae presenta un gran clado donde se agrupan varios géneros de importancia económica. Sin embargo, las relaciones en éste no son claras, por ejemplo, entre los árboles obtenidos en este estudio se observa que la posición de *Solanum* se establece en diferentes posiciones. Como en tres particiones se incluyeron más de una especie de este género, fue viable un aproximado de su edad, siempre con las reservas del caso; la edad del grupo corona de *Solanum* resultó en 23 M. El clado *Physalis-Witheringia* se consideró confiable porque también fue encontrado en los estudios de Olmstead et al. (1999) y Martins y Barkman (2005), con lo cual, esta divergencia pudo haber ocurrido hace 19 MA.

A pesar de que los datos utilizados en este estudio distan mucho de comportarse como un reloj molecular y dada la gran diferencia en la tasa de sustitución molecular entre los datos de núcleo y cloroplasto, el método utilizado en este estudio permite estimar, entre las diferentes particiones, edades razonablemente congruentes como para considerarlas confiables. Hasta que se encuentren otros fósiles más confiables de la familia, los resultados obtenidos aquí se pueden considerar como una buena aproximación al tiempo de diversificación de Solanaceae y sus principales linajes, brindando puntos de calibración para subsecuentes estudios a nivel de género.

LITERATURA CITADA

AKAIKE, H. 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control* 19: 716-723.

- ARIS-BROSOU S. Y Z. YANG. 2002. Effects of models of rate evolution on estimation of divergence dates with special reference to the metazoan 18S ribosomal RNA phylogeny. *Systematic Biology* 51: 703-714.
- BARRACLOUGH, T. G., Y V. SAVOLAINEN. 2001. Evolutionary rates and species diversity in flowering plants. *Evolution* 55: 677-683.
- BREMER, K., E. M. FRIIS, Y B. BREMER. 2004. Molecular phylogenetic dating of asterid flowering plants shows Early Cretaceous diversification. *Systematic Biology* 53: 496-505.
- BRITTON T., B. OXELMAN, A. VINNERSTEN, Y K. BREMER. 2002. Phylogenetic dating with confidence intervals using mean path lengths. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 24: 58-65.
- BROMHAM, L., A. RAMBAUT, Y P. H. HARVEY. 1996. Determinants of rate variation in mammalian DNA sequence evolution. *Journal of Molecular Evolution* 43: 610-621.
- CLARKSON, J. J., S. KNAPP, V. F. GARCÍA, R. G. OLMSTEAD, A. R. LEITCH, y M. W. CHASE. 2004. Phylogenetic relationships in *Nicotiana* (Solanaceae) inferred from multiple plastid regions. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 33: 75-90.
- COLLINSON, M. E., M. C. BOULTER y P. L. HOLMES. 1993. Magnoliophyta (Angiospermae). Pp. 809-841 in M. J. Benton, ed. The fossil record. Vol. 2. Chapman and Hall, London.
- D'ARCY, W. G. 1986. Solanaceae: Biology and Systematics. Columbia Univ. Press, New York.
- FAY, M. F., R. G. OLMSTEAD, J. E. RICHARDSON, J. E. SANTIAGO, G. T. PRANCE, Y M. W. CHASE. 1997. Molecular data support the inclusion of *Duckeodendron cestroides* in Solanaceae. *Kew Bull.* 53: 203-212.
- FELSENSTEIN, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- GILLESPIE, J. H. 1991. The causes of molecular evolution. Oxford Univ. Press, Oxford, U.K.
- HALL, T. 1997-2001. BioEdit. Biological sequence alignment editor for Windows 95/98/NT (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>). Department of Microbiology. North Carolina State University.
- KNAPP, S. 2002. Tobacco to tomatoes: a phylogenetic perspective on fruit diversity in the Solanaceae. *Journal of Experimental Botany* 53(377): 2001-2022.

- KNAPP, S. 2002a. Floral diversity and evolution in the Solanaceae. Pp. 267-297. In: Cronk Q. C. B., Bateman R. M., Hawkins J.A. (eds). *Developmental Genetics and Plant Evolution*. Taylor & Francis: London.
- KULCHESKI, F. R., V. C. MUSCHNER, A. P. LORENZ-LEMKE, J. R. STEHMANN, S. L. BONATTO, F. M. SALZANO Y L. B. FREITAS. 2006. Molecular phylogenetic analysis of *Petunia* Juss. (Solanaceae). *Genetica* 126: 3-14.
- LANGLEY, C. H. Y W. FITCH. 1974. An estimation of the constancy of the rate of molecular evolution. *Journal of Molecular Evolution* 3: 161-177.
- MAGALLÓN, S., P. R. CRANE Y P. S. HEREDEN. 1999. Phylogenetic pattern, diversity, and diversification of eudicots. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 86: 297-372.
- MAGALLÓN, S. Y M. J. SANDERSON. 2001. Absolute diversification rates in angiosperm clades. *Evolution* 55: 1762-1780.
- MAGALLÓN, S., Y M. J. SANDERSON. 2005. Angiosperm divergence times: the effect of genes, codon positions, and time constraints. *Evolution* 59: 1653–1670.
- MARTINS, T. R. Y T. J. BARKMAN 2005. Reconstruction of Solanaceae phylogeny using the nuclear gene SAMT. *Systematic Botany* 30: 435-447.
- MONTERO-CASTRO, J. C., A. DELGADO-SALINAS, E. DE LUNA Y L. E. EGUIARTE 2006. Phylogenetic analysis of *Cestrum* section *Habrothamnus* (Solanaceae) based on plastid and nuclear DNA sequences. *Systematic Botany* 34(4): 00-00. Aceptada
- MOOERS, A. Ø. Y P. H. HARVEY. 1994. Metabolic rate, generation time and the rate of molecular evolution in birds. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 3: 344-350.
- NEAR, T. J., P. A. MEYLAN, Y H. B. SCHAFFER. 2005. Assessing concordance of fossil calibration points in molecular clock studies: an example using turtles. *American Naturalist* 165:137-146.
- OLMSTEAD, R. G. Y J. D. PALMER. 1992. A chloroplast DNA phylogeny of the Solanaceae: subfamilial relationships and character evolution. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 79: 346-360.
- OLMSTEAD, R. G. Y J. A. SWEERE. 1994. Combining data in phylogenetic systematics: an empirical approach using three molecular data sets in the Solanaceae. *Systematic Biology* 43: 467-481.

- , J. A. SWEERE, R. E. SPANGLER, L. BOHS y J. D. PALMER. 1999. Phylogeny and provisional classification of the Solanaceae based on chloroplast DNA. Pp. 111-137. In: M. Nee, D. E. Symon, R. N. Lester, y J. P. Jessop (eds.). *Solanaceae IV: advances in biology and utilization*. Kew: Royal Botanic Gardens.
- POSADA, D. y K. A. CRANDALL. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817-818.
- RAMÍREZ, J. L. Y S. CEVALLOS-FERRIZ. 2000. Consideraciones sobre las angiospermas (plantas con flor) fósiles en México. Unión Geofísica Mexicana, A. C.
- RAVEN, P. H. Y D. I. AXELROD. 1974. Angiosperm biogeography and past continental movements. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 61: 539-673.
- REID, E. M. Y M. E. J. CHANDLER. 1926. The Bembridge Flora (Catalogue of Cainozoic Plants in the Department of Geology: Vol. 1), British Museum (Natural History), London, 206 pp.
- SANDERSON, M. J. 1997. A nonparametric approach to estimating divergence times in the absence of rate constancy. *Molecular Biology and Evolution* 14: 1218-1232.
- SANDERSON, M. J. 2002. Estimating absolute rates of molecular evolution and divergence times: a penalized likelihood approach. *Molecular Biology and Evolution* 19: 101-109.
- SANDERSON, M. J. 2002a. r8s 1.70. User's Manual. Computer program and documentation available from <http://phylo.ucdavis.edu/r8s/r8s.html>.
- SANDERSON, M. J., Y J. A. DOYLE. 2001. Sources of error and confidence intervals in estimating the age of angiosperms from *rbcL* and 18S rDNA data. *American Journal of Botany* 88:1499-1516.
- SANTIAGO-VALENTÍN, E. y R. G. OLMSTEAD. 2003. Phylogenetics of the Antillean Goetzeoideae (Solanaceae) and their relationships within the Solanaceae based on chloroplast and ITS DNA sequence data. *Systematic Botany* 28: 452-460.
- SOLTIS, P. S., D. E. SOLTIS, V. SAVOLAINEN, P. R. CRANE Y T. G. BARRACLOUGH. 2002. Rate heterogeneity among lineages of tracheophytes: integration of molecular and fossil data and evidence from molecular living fossils. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99: 4430-4435.
- SWOFFORD, D. L. 1998. PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). v. 4.0 beta 10. Sunderland: Sinaur Associates.

- SZAFER, W. 1961. Miocene Flora from Stare in Upper Gliwice Silcsia. Instytut Geologiczny Prage, XXXIII, Wydawnictwa Geologiczne, Warsaw, 205 pp.
- TAGO, M. 1999. The evolution of *Nolana* L. (Solanaceae) at Lomas in South America. PhD. dissertation. Tokyo Metropolitan University.
- TAGO, M. Y M.O. DILLON 1999. Biogeografía y evolución en el clado *Nolana* (Nolaneae–Solanaceae). *Arnaldoa* 6: 81-116.
- THOMPSON, J. D., D. G. HIGGINS y T. J. GIBSON. 1994. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673-4680.
- THORNE, J. L., H. KISHINO, Y I. S. PAINTER. 1998. Estimating the rate of evolution of the rate of molecular evolution. *Molecular Biology and Evolution* 15: 1647-1657.
- THORNE, J. L. Y H. KISHINO. 2002. Divergence time and evolutionary rate estimation with multilocus data. *Systematic Biology* 51: 689-702.
- VAN DER BURGH, J. 1987. Miocene floras in the Lower Rhenish Basin and their ecological interpretation. *Review of Palaeobotany and Palynology* 52: 299-366.
- WEBSTER, A. J., R. J. H. PAYNE, Y M. PAGEL. 2003. Molecular phylogenies link rates of evolution and speciation. *Science* 301: 478.
- WIKSTRÖM, N., V. SAVOLAINEN Y M. W. CHASE. 2001. Evolution of the angiosperms: calibrating the family tree. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 268: 2211-2220.
- YODER, A. D., Y Z. YANG. 2000. Estimation of primate speciation dates using local molecular clocks. *Molecular Biology and Evolution* 17: 1081-1090.
- ZUCKERKANDL E. Y L. PAULING. 1965. Evolutionary divergence and convergence in proteins. En: Bryson, V. and H.J. Vogel (eds.) *Evolving genes and proteins*. Pp.77-166. Academic, New York.

Tabla 1. Particiones utilizadas, especies, y accesiones de GenBank. De núcleo se ocupó la secuencia que codifica la metil-transferasa del ácido salicílico (SAMT); de cloroplasto se utilizaron las secuencias *nadhF*, *rbcL*, y *trnL-F*.

<i>nadh</i>		<i>rbcL</i>		<i>trnL-F</i>		SAMT	
<i>Stephanotis floribunda</i>	AJ235826	<i>Stephanotis floribunda</i>	AJ419762	<i>Alstonia boonei</i>	AF102374, AF214151	<i>Stephanotis floribunda</i>	AJ308570
<i>Ipomoea coccinea</i>	U08918	<i>Ipomoea alba</i>	AY100963	<i>Ipomoea alba</i>	AY101072	<i>Ipomoea alba</i>	AY741492
<i>Anthocercis viscosa</i>	U08914	<i>Anthocercis viscosa</i>	U08608	<i>Anthocercis viscosa</i>	AY098677	<i>Anthocercis littorea</i>	AY741502
<i>Anthotroche pannosa</i>	AY098712			<i>Anthotroche pannosa</i>	AY098680		
<i>Atropa belladonna</i>	NC_004561	<i>Atropa belladonna</i>	U08609	<i>Atropa belladonna</i>	AJ577449	<i>Atropa belladonna</i>	AB049752
<i>Browallia speciosa</i>	AY206739	<i>Browallia speciosa</i>	AY206719	<i>Browallia speciosa</i>	AY206753	<i>Browallia americana</i>	AY741494
						<i>Brugmansia sp.</i>	AY741484
<i>Brunfelsia americana</i>	AY206740	<i>Brunfelsia americana</i>	AY206720	<i>Brunfelsia americana</i>	AY206754	<i>Brunfelsia americana</i>	AY741490
<i>Capsicum baccatum</i>	U08916	<i>Capsicum baccatum</i>	U08610	<i>Capsicum baccatum</i>	AY348968,AY348979	<i>Capsicum annuum</i>	AY741493
<i>Capsicum chacoense</i>	AF500809						
<i>Cestrum elegans</i>	AJ585952			<i>Cestrum elegans</i>	AJ577458	<i>Cestrum elegans</i>	AY741481
<i>Cestrum nocturnum</i>	AY206741	<i>Cestrum nocturnum</i>	AY206721	<i>Cestrum nocturnum</i>	AY206723	<i>Cestrum nocturnum</i>	AY741483
<i>Coeloneurum ferrugineum</i>	AY206742			<i>Coeloneurum ferrugineum</i>	AY206756,AY206724		
<i>Crenidium spinescens</i>	AY098714			<i>Crenidium spinescens</i>	AY098682		
<i>Cyphanthera albicans</i>	AY098715			<i>Cyphanthera anthocercidea</i>	AY098684		
<i>Datura stramonium</i>	U08917	<i>Datura stramonium</i>	U08611			<i>Datura stramonium</i>	AY741480
<i>Duboisia leichhardtii</i>	AY098719			<i>Duboisia leichhardtii</i>	AY098689		
<i>Duckeodendron cestroides</i>	AY206743	<i>Duckeodendron cestroides</i>	AF206763	<i>Duckeodendron cestroides</i>	AY206725,AY206757		
<i>Espadaea amoena</i>	AY206744	<i>Espadaea amoena</i>	AY206722	<i>Espadaea amoena</i>	AY206758,AY206726		
						<i>Exodeconus miersii</i>	AY741486
<i>Goetzea ekmanii</i>	AY206745			<i>Goetzea ekmanii</i>	AY206727,AY206759		
<i>Goetzea elegans</i>	AY206746	<i>Goetzea elegans</i>	AF035738	<i>Goetzea elegans</i>	AY206760		
<i>Grammosolen dixonii</i>	AY098721			<i>Grammosolen dixonii</i>	AY098691		
<i>Henoonia myrtifolia</i>	AY206747			<i>Henoonia myrtifolia</i>	AY206761,AY206728		
						<i>Hyoscyamus albus</i>	AY741485

Tabla 1. Continuación.

<i>nadh</i>		<i>rbcl</i>		<i>trnL-F</i>		SAMT	
<i>Jaltomata procumbens</i>	U47429			<i>Jaltomata procumbens</i>	AY098695		
<i>Jaltomata sinuosa</i>	AF500835						
<i>Juanulloa aurantiaca</i>	U08919	<i>Juanulloa aurantiaca</i>	U08612			<i>Juanulloa aurantiaca</i>	AY741496
<i>Lycianthes heteroclita</i>	U72756						
<i>Lycianthes rantonnei</i>	AF500840						
<i>Lycium cestroides</i>	U08920	<i>Lycium cestroides</i>	U08613	<i>Lycium cestroides</i>	AB036578,AB036607	<i>Lycium ferocissimum</i>	AY741491
<i>Mandragora officinalis</i>	U08922	<i>Mandragora officinalis</i>	U08614	<i>Mandragora officinalis</i>	AJ577450		
<i>Metternichia principis</i>	AY206748	<i>Metternichia princeps</i>	AF022182	<i>Metternichia principis</i>	AY206763,AY206729		
<i>Nicandra physalodes</i>	U08924	<i>Nicandra physalodes</i>	U08615	<i>Nicandra physalodes</i>	AJ492268	<i>Nicandra physalodes</i>	AY741501
<i>Nicotiana acuminata</i>	U08923	<i>Nicotiana acuminata</i>	M16896	<i>Nicotiana acuminata</i>	AY098696		
<i>Nicotiana tabacum</i>	NC_001879	<i>Nicotiana tabacum</i>	NC_001879	<i>Nicotiana tabacum</i>	NC_001879	<i>Nicotiana tabacum</i>	AY741503
<i>Nolana spathulata</i>	U08925	<i>Nolana spathulata</i>	U08616	<i>Nolana rostrata</i>	AB036589,AB036619	<i>Nolana hybrida</i>	AY741497
<i>Petunia axillaris</i>	U08926	<i>Petunia hybrida</i>	X04976	<i>Petunia axillaris</i>	AJ577447	<i>Petunia nyctaginiflora</i>	AY741487
<i>Physalis alkekengi</i>	U08927	<i>Physalis alkekengi</i>	U08617	<i>Physalis peruviana</i>	AF212020	<i>Physalis virginiana</i>	AY741499
<i>Salpiglossis sinuata</i>	U08928	<i>Salpiglossis sinuata</i>	U08618	<i>Salpiglossis sinuata</i>	AY206765,AY206730		
<i>Schizanthus pinnatus</i>	U08929	<i>Schizanthus pinnatus</i>	AY101063	<i>Schizanthus pinnatus</i>	AY101172	<i>Schizanthus pinnatus</i>	AY741488
<i>Schwenckia lateriflora</i>	AY206749	<i>Schwenckia lateriflora</i>	AF035739	<i>Schwenckia glabrata</i>	AY206767	<i>Schwenckia americana</i>	AY741482
<i>Sessea corymbiflora</i>	AY206750			<i>Sessea corymbiflora</i>	AY206768		
<i>Solandra grandiflora</i>	U08930	<i>Solandra grandiflora</i>	U08620			<i>Solandra maxima</i>	AY741500
<i>Solanum candidum</i>	AF224072						
<i>Solanum dulcamara</i>	U47419			<i>Solanum dulcamara</i>	AY266231	<i>Solanum dulcamara</i>	AY741489
<i>Solanum lycopersicum</i>	U08921	<i>Solanum lycopersicum</i>	L14403	<i>Solanum lycopersicum</i>	AY098703		
<i>Solanum melongena</i>	AF224069						
<i>Solanum torvum</i>	L76286						
<i>Solanum tuberosum</i>	L76287	<i>Solanum tuberosum</i>	M76402				
						<i>Streptosolen jamesonii</i>	AY741495
<i>Symonanthus bancroftii</i>	AY098724			<i>Symonanthus bancroftii</i>	AY098694		
<i>Vestia lycioides</i>	AY206751			<i>Vestia lycioides</i>	AY206769	<i>Vestia lycioides</i>	AY741498
<i>Witheringia solanacea</i>	U72755			<i>Witheringia solanacea</i>	AF212025		

Tabla 2. Grupos de datos ocupados en el análisis. Cuatro matrices simples: SAMT de núcleo y *nadhF*, *rbcL*, *trnL-F* de cloroplasto y tres diferentes concatenaciones de los mismos. También se presenta el modelo de evolución molecular usado en los análisis para cada partición.

	Particiones	N° Caracteres	Taxones	Modelo
Cloroplasto	<i>nadhF</i>	2143	50	GTR+I+G
	<i>rbcL</i>	1069	28	TVM+I+G
	<i>trnL-F</i>	1151	39	GTR+G
Núcleo	SAMT	1009	26	HKY+I+G
Combinados	<i>nadhF-rbcL</i>	3212	28	TVM+I+G
	<i>nadhF-trnL-F</i>	3294	39	TVM+G
	<i>nadhF-trnL-F-SAMT</i>	4320	19	TVM+I+G

Tabla 3. Puntos de calibración utilizados. Cuatro de ellos derivados del registro fósil y dos obtenidos de estudios moleculares. Para cada punto se especifica la edad asignada en este estudio y el tipo de calibración en los diferentes análisis.

Calibración Fósil	Referencia	Estrato	MA	Tipo de calibración
<i>Cantisolanum daturoides</i> (Semillas)	Reid y Chandler (1926)	Eoceno	44.25	Fija y edad mínima
<i>Solanum</i> (Semillas y polen)	Van der Burgh (1987) Ramírez y Cevallos (2000)	Mioceno Medio y Superior	17	Edad mínima
<i>Physalis</i> (Semillas)	Szafer (1961)	Mioceno al Plioceno	9	Edad mínima

Calibración Molecular	Referencia	MA	Tipo de calibración
Solanaceae y Convolvulaceae	Wikström et al. (2001)	64.15	Fija y Edad máxima
	Bremer et al. (2004)	87.75	Fija y Edad máxima

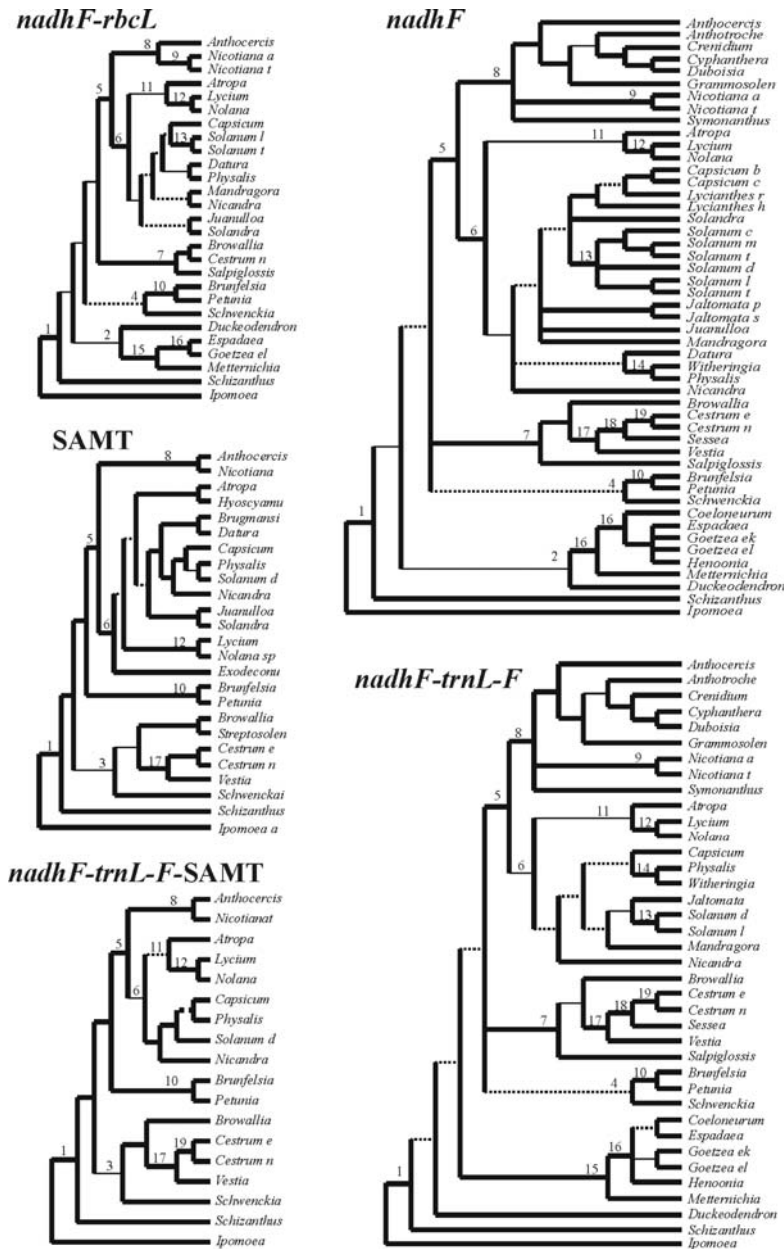


Figura 1. Árboles obtenidos en el análisis de Verosimilitud Máxima a partir de las diferentes particiones. Dos simples, *nadhF* ($-lnL=11015.22640$); SAMT ($-lnL= 8915.34623$) y tres combinadas, *nadhF-rbcL* ($-lnL= 12808.99058$), *nadhF-trnL-F* ($-lnL= 15294.50098$); *nadhF-trnL-F-SAMT* ($-lnL=19278.96365$). Con líneas punteadas ramas con bootstrap inferior a 50%; líneas delgadas representan ramas con bootstrap de 50-74 %; líneas gruesas representan ramas con bootstrap con valor del 75% o superior. El número sobre los nodos identifica los nodos que se discuten en el texto: 1) Familia (Grupo Corona); 2) Duckeodendron-Goetzeoideae; 3) Schwenckia-Cestroideae; 4) Schwenckia-Petunioideae; 5) Clado “X=12”; 6) Solanoideae; 7) Cestroideae; 8) Nicotianoideae; 9) Nicotiana; 10) Petunioideae; 11) Europa-Sudamérica; 12) Nolana-Lycium; 13) Solanum; 14) Witheringia-Physalis; 15) Goetzeoideae-Sudamérica; 16) Goetzeoideae-Antillas; 17) Cestrum-Vestia; 18) Cestrum-Sessea; 19) Cestrum.

Tabla 4. Diferentes esquemas de calibración alternando la posición del punto de calibración y restricciones de edades mínimas y máximas entre el grupo corona de Solanaceae (Clado 1), Solanoideae (clado-6) y el clado X-12 (clado 5). Los nodos *Solanum* (clado-13) y *Physalis* (nodo terminal) siempre funcionaron como restricción de edad mínima.

Partición	Clado fijado y edad asignada	Clado de edad restringida por edades mínimas o máximas	Heterogeneidad
NADH	Raiz (Clado 1) edad=64.15	X-12 (Clado 5) edad mínima=46.15	32
NADH	Raiz (Clado 1) edad=64.15	Solanoideae (Clado 6) edad mínima=44.25	10
NADH	Raiz (Clado 1) edad=87.75	X-12 (Clado 5) edad mínima=46.15	1
NADH	Raiz (Clado 1) edad=87.75	Solanoideae (Clado 6) edad mínima=44.25	1
NADH	Solanoideae (Clado 6) edad=44.25	Raiz (Clado 1) edad máxima=87.75	63
NADH	Solanoideae (Clado 6) edad=44.25	Raiz (Clado 1) edad máxima=64.15	32
NADH	X-12 (Clado 5) edad=46.15	Raiz (Clado 1) edad máxima=64.15	32
NADH	X-12 (Clado 5) edad=46.15	Raiz (Clado 1) edad máxima=87.75	32
NADH-Rbcl	Raiz (Clado 1) edad=64.15	X-12 (Clado 5) edad mínima=46.15	10
NADH-Rbcl	Raiz (Clado 1) edad=64.15	Solanoideae (Clado 6) edad mínima=44.25	3.2
NADH-Rbcl	Raiz (Clado 1) edad=87.75	X-12 (Clado 5) edad mínima=46.15	32
NADH-Rbcl	Raiz (Clado 1) edad=87.75	Solanoideae (Clado 6) edad mínima=44.25	32
NADH-Rbcl	Solanoideae (Clado 6) edad=44.25	Raiz (Clado 1) edad máxima=64.15	10
NADH-Rbcl	Solanoideae (Clado 6) edad=44.25	Raiz (Clado 1) edad máxima=87.75	32
NADH-Rbcl	X-12 (Clado 5) edad=46.15	Raiz (Clado 1) edad máxima=87.75	10
NADH-Rbcl	X-12 (Clado 5) edad=46.15	Raiz (Clado 1) edad máxima=64.15	10
NADH -TrnLF	Raiz (Clado 1) edad=64.15	X-12 (Clado 5) edad mínima=46.15	32
NADH -TrnLF	Raiz (Clado 1) edad=64.15	Solanoideae (Clado 6) edad mínima=44.25	32
NADH -TrnLF	Raiz (Clado 1) edad=87.75	X-12 (Clado 5) edad mínima=46.15	320
NADH -TrnLF	Raiz (Clado 1) edad=87.75	Solanoideae (Clado 6) edad mínima=44.25	32
NADH -TrnLF	Solanoideae (Clado 6) edad=44.25	Raiz (Clado 1) edad máxima=64.15	32
NADH -TrnLF	Solanoideae (Clado 6) edad=44.25	Raiz (Clado 1) edad máxima=87.75	1000
NADH -TrnLF	X-12 (Clado 5) edad=46.15	Raiz (Clado 1) edad máxima=87.75	320
NADH -TrnLF	X-12 (Clado 5) edad=46.15	Raiz (Clado 1) edad máxima=64.15	32
SAMT	Raiz (Clado 1) edad=64.15	X-12 (Clado 5) edad mínima=46.15	10
SAMT	Raiz (Clado 1) edad=64.15	Solanoideae (Clado 6) edad mínima=44.25	100
SAMT	Raiz (Clado 1) edad=87.75	X-12 (Clado 5) edad mínima=46.15	100
SAMT	Raiz (Clado 1) edad=87.75	Solanoideae (Clado 6) edad mínima=44.25	10
SAMT	Solanoideae (Clado 6) edad=44.25	Raiz (Clado 1) edad máxima=87.75	100
SAMT	Solanoideae (Clado 6) edad=44.25	Raiz (Clado 1) edad máxima=64.15	32
SAMT	X-12 (Clado 5) edad=46.15	Raiz (Clado 1) edad máxima=87.75	100
SAMT	X-12 (Clado 5) edad=46.15	Raiz (Clado 1) edad máxima=64.15	10
NADH-TrnLF-SAMT	Raiz (Clado 1) edad=64.15	X-12 (Clado 5) edad mínima=46.15	10
NADH-TrnLF-SAMT	Raiz (Clado 1) edad=64.15	Solanoideae (Clado 6) edad mínima=44.25	32
NADH-TrnLF-SAMT	Raiz (Clado 1) edad=87.75	X-12 (Clado 5) edad mínima=46.15	10
NADH-TrnLF-SAMT	Raiz (Clado 1) edad=87.75	Solanoideae (Clado 6) edad mínima=44.25	1
NADH-TrnLF-SAMT	Solanoideae (Clado 6) edad=44.25	Raiz (Clado 1) edad máxima=87.75	1
NADH-TrnLF-SAMT	Solanoideae (Clado 6) edad=44.25	Raiz (Clado 1) edad máxima=64.15	32
NADH-TrnLF-SAMT	X-12 (Clado 5) edad=46.15	Raiz (Clado 1) edad máxima=87.75	10
NADH-TrnLF-SAMT	X-12 (Clado 5) edad=46.15	Raiz (Clado 1) edad máxima=64.15	10

Tabla 5. Resumen de los resultados del análisis para los principales clados. MA= promedio de las edades inferidas para cada clado entre los diferentes sistemas de calibración; SA-MA= desviación estándar de las edades inferidas; s/s= sustituciones por sitio; SD-s/s= desviación estándar de las sustituciones por sitio. La columna final da el promedio general de todas las estimaciones de edad por clado.

NODO	<i>nadhF</i> (Cloroplasto)				<i>nadhF-rbcl</i> (Cloroplasto)				<i>nadhF-trnL-F</i> (Cloroplasto)			
	MA	SD-MA	s/s	SD-s/s	MA	SD-MA	s/s	SD-s/s	MA	SD-MA	s/s	SD-s/s
1) Familia (Grupo Corona)	51.92	4.34568	0.00119	0.00027	51.22	2.83473	0.00087	0.00027	50.68	2.92832	0.00089	0.00019
2) Duceodendron-Goetzeoideae	49.41	3.50929	0.00065	0.00004	48.13	2.07470	0.00052	0.00005				
3) Schwentkia-Cestroideae												
4) Schwentkia-Petunioideae	45.79	2.33599	0.00061	0.00005	46.11	1.39357	0.00057	0.00007	45.41	1.39837	0.00057	0.00003
5) Clado X12	45.00	0.52861	0.00049	0.00010	44.69	0.18228	0.00039	0.00009	44.97	0.35827	0.00047	0.00008
6) Solanoideae	44.01	0.20199	0.00040	0.00010	44.06	0.10392	0.00029	0.00001	39.34	4.57261	0.00044	0.00009
7) Cestroideae	40.69	2.27791	0.00057	0.00003	38.65	1.12162	0.00046	0.00003	41.72	1.43035	0.00060	0.00003
8) Nicotianoideae	38.97	1.97883	0.00031	0.00001	40.31	0.72853	0.00027	0.00002	31.53	7.57385	0.00038	0.00013
9) Nicotiana	21.61	3.45243	0.00021	0.00003	23.50	2.12095	0.00018	0.00001	18.59	5.51356	0.00034	0.00016
10) Petunioideae	34.99	2.54108	0.00051	0.00003	38.76	0.80574	0.00049	0.00002	35.98	1.50047	0.00054	0.00005
11) Europa-Sudamérica	38.69	0.75372	0.00029	0.00001	38.84	0.43439	0.00025	0.00001	35.90	6.06845	0.00037	0.00013
12) Nolana-Lycium	27.50	0.88383	0.00026	0.00001	29.65	0.29228	0.00026	0.00000	22.91	5.06876	0.00035	0.00014
13) Solanum	31.29	0.55770	0.00039	0.00003	20.41	0.45706	0.00038	0.00002	17.77	0.51519	0.00051	0.00004
14) Witheringia-Physalis	15.70	0.44033	0.00025	0.00001					22.57	2.51504	0.00038	0.00011
15) Goetzeoideae-Sudamérica	22.21	2.30421	0.00077	0.00008	21.75	1.20843	0.00060	0.00007	23.93	1.55229	0.00075	0.00009
16) Goetzeoideae-Antillas	6.93	4.05502	0.00057	0.00012	3.32	0.13675	0.00051	0.00003	8.81	0.80119	0.00072	0.00008
17) Cestrum-Vestia	14.19	0.75211	0.00068	0.00005					16.40	0.81000	0.00067	0.00005
18) Cestrum-Sessea	9.30	0.55554	0.00072	0.00007					9.79	0.53345	0.00067	0.00005
19) Cestrum									3.14	0.18099	0.00066	0.00004

Tabla 5. Continuación.

NODO	SAMT (Núcleo)				<i>nadhF-trnL-F</i> -SAMT (Combinada)				Media Gral.
	MA	SD-MA	s/s	SD-s/s	MA	SD-MA	s/s	SD-s/s	MA
1) Familia (Grupo Corona)	60.17	6.8529233	0.00328	0.000419	56.27	6.33931	0.00174	0.00016	54.05
2) Duckeodendron-Goetzeoideae									48.77
3) Schwentkia-Cestroideae	48.11	3.7097844	0.00281	0.000271	48.65	4.21466	0.00131	0.00006	48.38
4) Schwentkia-Petunioideae									45.77
5) Clado X12	48.26	1.8034966	0.00231	0.000149	47.81	2.11310	0.00106	0.00004	46.15
6) Solanoideae	36.03	0.73323	0.00233	0.00001	38.97	0.05196	0.00091	0.00002	40.48
7) Cestroideae									40.35
8) Nicotianoideae	41.31	1.8489366	0.00213	0.000222	36.65	4.73427	0.00083	0.00013	37.75
9) Nicotiana									21.23
10) Petunioideae	36.99	3.5362975	0.00228	0.000298	37.36	4.99985	0.00098	0.00015	36.81
11) Europa-Sudamérica					41.38	1.39719	0.00079	0.00006	38.70
12) Nolana-Lycium	33.04	0.9134915	0.00190	0.000137	29.53	2.54034	0.00069	0.00011	28.53
13) Solanum									23.15
14) Witheringia-Physalis									19.14
15) Goetzeoideae-Sudamérica									22.63
16) Goetzeoideae-Antillas									6.35
17) Cestrum-Vestia	11.35	0.9550044	0.00270	0.000291	12.77	1.63967	0.00120	0.00016	13.68
18) Cestrum-Sessea									9.54
19) Cestrum					1.56	0.29445	0.00111	0.00025	2.35

CAPÍTULO 4

Diversificación rápida de *Cestrum* sección *Habrothamnus* (Solanaceae) en las montañas en la región Mesoamericana y del Caribe

RESUMEN

Se han formulado varias hipótesis para explicar el origen de la diversidad en la región Mesoamericana y del Caribe que incluyen el intercambio entre especies en el Cretácico tardío a través de las Protoantillas, la formación del Istmo de Panamá, los procesos orogénicos y los cambios climáticos en el Pleistoceno. Sin embargo, específicamente para las montañas de la región no se ha formulado una hipótesis específica, como es el caso para los Andes y regiones montañosas de África, donde se sugiere que el surgimiento de hábitats equivalentes a islas y los cambios climáticos del Pleistoceno fueron, respectivamente, los detonadores del proceso de diversificación. En este estudio se puso a prueba este escenario para las montañas de esta región utilizando el género *Cestrum* (Solanaceae) como modelo. Se estimaron los tiempos de divergencia de los nodos de su filogenia y las tasas de sustitución molecular con Verosimilitud Penalizada. La edad del grupo troncal de *Cestrum* es estimada en 10 MA. Se determinó para cada clado (geográficamente estructurado), la tasa de diversificación por linaje por millón de años, la cual se estimó con base a un modelo Yule, apreciándose una aceleración considerable en la tasas de diversificación a los 3.1 MA en las especies distribuidas en Centro América y México. Este suceso coincide con el surgimiento del Istmo de Panamá, por lo tanto este acontecimiento geológico se postula como el promotor principal de la diversificación acelerada en el grupo. Se observa que el clado de República Dominicana así como el clado de

Mesoamérica presentan tasas de diversificación comparables a las de *Agave* y *Phaseolus*. En cambio, el clado del centro de México presenta una tasa de diversificación similar a la reportada en *Inga* y “Silversword” (*Argyroxiphium*, *Dubautia*, *Wilkesia*). Los valores más bajos de diversificación en *Cestrum* se encuentran en los clados de Guatemala y Costa Rica, los cuales son comparables al encontrado en *Phyllica*.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día, la biodiversidad está sometida por la extinción más grande desde el evento que marcó la transición del Cretácico al Paleógeno (Ehrlich 2001). Es apremiante entender las fuerzas detrás de la producción de la diversidad biótica si se quiere que sea exitosa la conservación de ésta, sobre todo a la luz del cambio climático en puerta (Richardson et al. 2001b). Un hecho evidente es que la diversidad se distribuye en forma heterogénea entre diferentes regiones dentro de los continentes o entre continentes y regiones insulares. Para explicar por qué algunas zonas presentan una mayor diversidad que otras se sugieren varias hipótesis: 1) La hipótesis “Cementerios” supone que las regiones más ricas en especies han sido climáticamente muy estables durante el Cenozoico con bajas tasas de extinción locales, acumulando con ello linajes antiguos (e.g. Fischer 1960; Stebbins 1974). 2) La hipótesis “Refugios del Pleistoceno” considera que las regiones de gran diversidad se originaron por altas tasas de especiación como consecuencia del clima inestable con condiciones xéricas y frías en el Pleistoceno (e.g. Haffer 1969; Prance 1973). 3) La hipótesis “Orogénica” enfatiza el papel fundamental de la formación de barreras montañosas en la modificación climática y su consecuente impacto en la diversidad (e.g. Becerra 2005). 4) La hipótesis de “Nichos Ecológicos Vacíos” se aplica a linajes que arriban a regiones donde no encuentran

competencia, adaptándose rápidamente a diferentes ambientes (e.g. Baldwin y Sanderson 1998, Hughes y Eastwood 2006).

Para poner a prueba estas hipótesis, es necesaria una perspectiva vertical a través de los eventos evolutivos de las ramas de la filogenia. La filogenia es un marco de referencia histórico-evolutivo que ayuda a entender los procesos que en el pasado dieron origen a la diversidad actual. De esta manera es posible correlacionar los eventos de especiación con eventos abióticos y bióticos específicos. Bajo esta perspectiva varios estudios están cambiando la forma de entender el origen de la diversidad (Baldwin y Sanderson 1998; Richardson et al. 2001a, Richardson et al. 2001b, Conti et al. 2000, Lavin et al. 2001, Magallón y Sanderson 2002, Crisp, Cook y Steane 2004, Lavin et al. 2004, Linder y Hardy 2004, Renner, 2004, Becerra 2005).

La región Mesoamericana y del Caribe tiene varios puntos de alta diversidad como por ejemplo la Cordilleras de Costa Rica, la Cordillera de Chiapas-Guatemala, las montañas de Haití y Republica Dominicana (*La Española*), y las montañas del centro de México. Entre las hipótesis que se han formulado para explicar el origen de la diversidad en toda la región se mencionan: el intercambio entre especies en el Cretácico tardío a través de las Protoantillas, la formación del Istmo de Panamá, los procesos orogénicos y los cambios climáticos en el Pleistoceno (Gentry 1982). Entonces, el proceso causal sobre la diversificación de las zonas montañosas de esta región, como suele suceder, puede ser una combinación de varios factores. Sin embargo, es importante discernir cuál de esos factores ha tenido un mayor impacto en la diversidad.

Para las regiones montañosas de África, existe evidencia que sugiere que los cambios climáticos del Pleistoceno fueron el detonador de un proceso de diversificación acelerada en aves (Roy 1997). Estos cambios climáticos pudieron haber sido un factor determinante en la

diversificación en las montañas de la región Mesoamericana y del Caribe. Un buen modelo para poner a prueba esta hipótesis es el género *Cestrum* (Solanaceae), ya que sus especies se distribuyen principalmente en varias regiones montañosas del Continente Americano (Nee 2001). Las especies de *Cestrum* son arbustos, árboles o bejucos, con hojas frecuentemente fétidas, solitarias o acompañadas por hojas estipulares; las inflorescencias son axilares, racimosas, con flores tubulares, y bayas jugosas o esponjosas. En particular las especies de la sección *Habrothamnus* se distinguen por sus flores en forma de clava con colores llamativos y se distribuyen entre 1500-3000 m snm (Nee 2001).

En la filogenia de *Cestrum* sección *Habrothamnus* realizada por Montero et al. (2006) se incluyeron 32 especies de *Cestrum* representantes de las tres secciones del género. Especies de los géneros *Sessea*, *Vestia* y *Salpiglossis* constituyeron el grupo externo. Entre las especies de *Cestrum* que se incluyeron en este estudio, fue notoria la escasa divergencia molecular entre ellas. Esto puede ser una consecuencia de una tasa lenta de sustitución molecular o un origen muy reciente de este linaje. Por otro lado, los grupos monofiléticos hallados no corresponden a las secciones del género, y en su lugar los clados reúnen especies acordes a su distribución en las cordilleras del Centro de México, Chiapas-Guatemala, Costa Rica-Panamá y Haití-República Dominicana. Una filogenia como ésta, donde los clados son delimitados geográficamente, es nombrada “filogenia geográficamente estructurada” (Lavin et al. 2004). En conjunto estas peculiaridades pueden ser evidencia de que en el género ocurrieron varios procesos independientes de radiación reciente en las regiones antes mencionadas. Por otro lado, los factores que han provocado la diversidad morfológica de *Cestrum* son básicamente desconocidos (Benítez y D’Arcy 1998).

En este estudio se realiza un análisis de fechación de la filogenia de la sección *Habrothamnus* del género *Cestrum* sin forzar a un estricto reloj molecular. La longitud de las

ramas se determina con Verosimilitud Máxima (VM) utilizando como hipótesis filogenética la propuesta de Montero et al. (2006). Se pretende determinar el tiempo de origen y la tasa de diversificación de las diferentes radiaciones dentro de este linaje. Esta radiación se evaluará contra el proceso de especiación en *Sessea*, el género hermano de *Cestrum*, otros linajes de Solanaceae y otras radiaciones citadas de otros linajes de angiospermas. Se determinarán los patrones y ritmos de sustitución molecular en los diferentes linajes. Además se indagará sobre la correspondencia temporal del origen de la diversificación con respecto a los posibles factores causales que influyeron en su especiación.

MATERIAL y MÉTODO

Análisis filogenético

Se parte de la hipótesis filogenética propuesta por Montero et al. (2006) obtenida con el criterio de Máxima Parsimonia y Bootstrap no paramétrico (Felsenstein 1985), a partir de las secuencias de ITS de ADN nuclear y las secuencias de cloroplasto *trnT-trnL*, *trnL-trnF* y *matK-trnK*. Con base en uno de los árboles y el modelo de evolución molecular encontrados en el estudio mencionado, se determinó la extensión óptima de las ramas con el criterio de Verosimilitud Máxima, realizando 100 réplicas al azar con la opción de búsqueda heurística mediadas por el programa PAUP*4.0 (Swofford 1998).

Calibración

En ausencia de fósiles para *Cestrum*, se calibró con base a la fechación molecular de la filogenia de la familia Solanaceae (Capítulo 3). Esta fechación tomó en cuenta fósiles correspondientes a los géneros actuales *Physalis* (Szafer 1961); *Solanum* (Van der Burgh 1987; Ramírez y Cevallos 2000) y el fósil más antiguo de Solanaceae, *Cantisolanum*

daturoides (Reid y Chandler 1926). Además se consideraron otros puntos de calibración obtenidos a partir de estimaciones moleculares (Wikström et al. 2001; Bremer et al. 2004). Aunque no es lo más recomendable calibrar con edades obtenidas a partir de datos moleculares (Magallón 2004), en este caso fue justificable en vista de lo escaso del registro fósil. De la fechación de la familia, se eligieron las edades promedio estimadas para tres clados: el clado formado por *Cestrum elegans* y *C. nocturnum*; el clado de los géneros hermanos *Cestrum* y *Sessea*, y el clado formado por el anterior y su género hermano *Vestia* (Tabla 1). La edad del primer clado fue utilizado en todos los análisis como restricción de edad mínima. Las dos últimas edades fueron utilizadas en análisis alternativos como puntos fijos de calibración.

Fechación

Utilizando la prueba de Langley y Fitch (1974) implementada con el programa r8s (Sanderson 2002), se evaluó la constancia en la tasa de sustitución nucleotídica sobre el largo óptimo de las ramas de la filogenia, previamente determinadas con el criterio de VM. Los tiempos de divergencia de los nodos y las tasas de sustitución molecular de las ramas de la filogenia fueron estimados mediante Verosimilitud Penalizada (VP, Sanderson 2002), después de realizar una validación cruzada para determinar el parámetro “suavizante”.

Una vez obtenida la edad de cada clado, se graficó contra el logaritmo del número de especies del clado respectivo para poder visualizar en qué tiempo se presentan cambios considerables en la diversificación. Se supuso que en el proceso no ha habido extinción con especiación al azar como un modelo Yule. Con estas premisa se determinó para cada clado de interés, la tasa de diversificación por linaje por millón de años, con el estimador $(\ln(N) - \ln(N_0)) / T$, tomado de Baldwin y Sanderson (1998), donde T es la edad para el nodo a

estimar; $\ln(N)$ es el logaritmo natural del número de especies en el clado; y $\ln(N_0)$ es el logaritmo natural del número de especies en el tiempo cero. Siempre que se estimaron clados con 2 o más taxones N_0 se consideró =2; en los clados representados con un taxón se $N_0 = 1$. La tasa de diversificación fue analizada en particiones acordes a las regiones geográficas de los clados y para todas las especies de *Cestrum*, calculando los promedios de cada conjunto para compararlos entre sí.

Adicionalmente, se estimó la diversificación de la familia Solanaceae retomando las edades estimadas en el Capítulo 3. Las edades de los clados de la familia fueron estimadas con árboles obtenidos de diferentes combinaciones de secuencias del gen nuclear SAMT y de secuencias de cloroplasto *nadhF*, *rbcL*, *trnL-F*. Se determinó la tasa de especiación de la familia en su conjunto, de las subfamilias y de varios géneros. El concepto de Solanaceae y sus subfamilias se retoma del estudio de Olmstead et al. (1999). El número de especies en cada clado de Solanaceae se basó en el número total de especies reportados en los estudios de Clarkson et al., 2004, D'Arcy (1991), Kulcheski et al. (2006), Tago y Dillon (1999) y Whitson y Manos (2005). Para determinar si la tasas diversificación y sustitución encontradas a partir de los datos de *Cestrum* son comparables a los obtenidos con los datos de Solanaceae los promedios de ambos se contrastaron con una prueba de T. Además, para poner en una perspectiva más amplia la diversificación de *Cestrum*, se seleccionaron de la literatura las radiaciones de *Agave*, *Phaseolus*, *Inga*, Leguminosae *Phyllis*, “Silversword” (*Argyroxiphium*, *Dubautia*, *Wilkesia*) y *Yucca*, mismas que reportan la tasa de sustitución molecular (Tabla 2). Con esta información se construyó una gráfica de la tasa de sustitución contra la diversificación de cada grupo.

RESULTADOS

La prueba de Langley y Fitch rechaza la constancia en las tasas de sustitución ($\chi^2 = 75.93916$, $df=30$, $p=7.46486 \text{ E-}06$) entre las longitudes de las ramas del árbol obtenido por VM. En la figura 1a se presenta uno de los árboles fechados con VP encontrados en el presente estudio. Tres especies (*C. fasciculatum*, *C. guatemalense*, *C. regelli*) presentaron ramas de longitud cero, motivo por el cual se excluyeron del análisis, ya que interfieren en el desempeño del programa r8s. Asociado a este árbol se encuentra el gráfico de la edad de cada clado contra el logaritmo del número de especies (figura 1b). En la tabla 1 se presentan los promedios de las edades y tasa de sustitución molecular, el número de especie por clado y la tasa de diversificación de los clados estimados para *Cestrum* y la familia Solanaceae.

En la diversificación de las solanáceas se obtiene en promedio, tasas de sustitución y tasas de especiación significativamente más lentas a las obtenidas con los datos que incluyen a especies de *Cestrum* y su grupo externo ($T=-3.60086$, $gl=37$, $P=0.000949$ para sustitución y $T=-6.07760$, $gl=37$, $P=0.0000005$ para especiación). Entonces no se pueden hacer comparaciones directas entre los resultados de los diferentes grupos de datos. En el caso de las tasas de sustitución molecular estimadas con los datos de solanáceas, se observa que: la tasa de *Cestrum* (0.000885) es equiparable a las estimadas para su género hermano *Sessea* (0.000696) y para el clado Goetzoideae de las Antillas (0.000598); contrastando con la obtenida para *Vestia*, el linaje hermano de *Cestrum*+*Sessea*, donde la tasa de sustitución molecular es la más rápida de cualquier clado de la familia (0.001312). En cambio, para *Solanum*, el género más grande de la familia Solanaceae con alrededor de 1000 especies, la sustitución nucleotídica está por debajo del promedio (0.000426). En lo que respecta a las tasas de sustitución estimadas con los datos de *Cestrum*, el promedio de todos los clados dentro de *Cestrum*

(0.001334) es similar a la tasa estimada para *Sessea* (0.001152). La tasa de sustitución más alta en *Cestrum* se presenta en el clado Centro de México (0.002076) y el más bajo en el clado Talamanca (0.000605).

En las tasas de diversificación obtenida con los datos de Solanaceae, la tasa de *Cestrum* (0.5412) es casi dos veces más rápida que la tasa estimada para *Sessea* (0.3139) y *Solanum* (0.2684). Una tasa de diversificación aún más lenta es la tasa de Goetzoideae de las Antillas (0.1443). En cuanto a las estimaciones derivadas de los datos de *Cestrum*, también la tasa de diversificación promedio en *Cestrum* (0.4807) es muy superior con respecto a la de *Sessea* (0.3140). Es curioso como a pesar de que las tasas de sustitución de *Cestrum*, *Sessea* y Goetzoideae de las Antillas son similares, la tasa de diversificación de *Cestrum* es significativamente más veloz.

En la Figura 3 se grafica la tasa de sustitución vs. la diversificación obtenidas en este estudio y de otras notables radiaciones en angiospermas (Tabla 2). La correlación entre estas dos variables es positiva pero baja ($r = 0.3318$). Se observa que el clado de especies de la República Dominicana, así como el clado de especies de Mesoamérica, presentan tasas de diversificación comparables a las de *Agave* y *Phaseolus*. En cambio, el clado de especies del centro de México presenta una tasa de diversificación similar a la reportada en *Inga* y “Silversword”. Con los valores más bajos de diversificación en *Cestrum* se encuentran los clados de Guatemala y Costa Rica, los cuales son comparables al encontrado en *Phyllica*. En cuanto a la diversificación de las solanáceas, en su conjunto presenta valores similares a aquellos de la familia Leguminosae y *Yucca*.

DISCUSIÓN

Las secuencias utilizadas en la fechación de la familia Solanaceae fueron en su gran mayoría secuencias que codifican proteínas, esto produjo que presentaran tasas de sustitución molecular más lentas que las obtenidas con los datos de *Cestrum* (Tabla 1 y Figura 2), en los cuales las secuencias espaciadoras son predominantes. Por este motivo se deben de tomar con cautela comparaciones directas entre los resultados obtenidos provenientes de diferentes particiones moleculares. De cualquier manera ambas estimaciones concuerdan en orden de magnitud con lo reportado por Tago (1999), quien reporta para *Nolana* con el marcador *matK* una tasa de 0.000410 s/s/MA y para los ITS una tasa 0.00520 s/s/MA.

En cuanto a la estimación de edades, Tago (1999) determina la edad de la divergencia entre *Nolana* y *Lycium* en 11.6 MA con ITS y 11 MA con *matK*. En cambio, en este estudio se determina una edad de 28.53 MA para la misma divergencia. Esta enorme diferencia es consecuencia de que Tago consideró que el cambio molecular en *Nolana* se comportaba de acuerdo al Reloj Molecular. La prueba de Langley y Fitch (1974) descartó la posibilidad de una tasa sustitución constante para las filogenias aquí utilizadas.

La edad del grupo troncal de *Cestrum* que se estimó con los datos de la familia Solanaceae es de casi 10 MA. En cuanto a la edad estimada para el evento de diversificación que involucra las especies incluidas en este estudio es cercana a 4 MA. Esto no significa que esta sea la edad del grupo corona de *Cestrum*, ya que, falta incluir en el muestreo especies de Sudamérica.

En la Figura 1b, se alcanza a percibir una aceleración en la tasas de especiación a los 3.1 MA, que corresponde al gran clado de especies distribuidas en América Central y México. Se podría argumentar que éste es un artefacto de la carencia de resolución en esta parte del

árbol; pero desde otra perspectiva es factible que en ese momento de la historia geológica de esta región las especies del género tuvieran las condiciones para poder diversificarse tan rápidamente, que los marcadores moleculares utilizados no alcanzan a revelar este proceso.

El área donde se desarrollan estas diversificaciones es geológicamente compleja, pero es generalmente aceptado que en el límite entre el Plioceno temprano y el Plioceno tardío se formó América Central, permitiendo así el paso de la biota sudamericana hacia Norte América y viceversa. Esto probablemente ocasionó cambios en las corrientes marinas, lo que seguramente provocó cambios climáticos (Coates 1997). En aquel tiempo la mayoría de las cordilleras modernas ya se habían erigido y presentaban una configuración similar a la actual. Con ello es de esperarse que desde ese momento *Cestrum* y otros linajes que migraron desde Sudamérica pudieran prosperar al encontrar el nicho adecuado.

En el caso de la separación de las especies de La Española y su grupo hermano ésta ocurrió hace 3.7 MA. Con la excepción de *Cestrum mortonianum*, las especies del grupo hermano son especies distribución amplia en el Continente Americano tanto latitudinal como altitudinalmente. La especie *C. tomentosum* se distribuye en varios tipos de vegetación incluyendo selvas medianas, en tanto que *C. glanduliferum* se distribuye preferentemente en selvas altas y medianas. En cambio, las especies del clado La Española diversificaron hace 2 MA y este proceso se desarrolló, como en las radiaciones de los clados continentales, en las ya formadas montañas de esta isla. Este proceder, donde las especies filogenéticamente jóvenes tienden a encontrarse en áreas montañosas, concuerda con lo encontrado en los géneros de la familia Leguminosae, *Lupinus* (Hughes y Eastwood 2006) y *Phaseolus* (Delgado-Salinas et al. 2006) e incluso por en aves en África (Roy 1997; Bowie et al. 2006).

Por lo concerniente a las especies del clado continental ocurrieron, tanto en las montañas del centro de México como en el macizo montañoso de Chiapas-Guatemala, eventos

de radiación tácitamente coetáneas alrededor de los 2.6 MA. La radiación en la Cordillera de Talamanca se fechó más reciente a los 1.4 MA, pero hay que considerar que en este estudio el muestreo en esta zona fue escaso en comparación a las otras regiones, y las relaciones entre las especies de este clado aún no está resuelta. De cualquier manera es muy probable que estas radiaciones estuvieran influenciadas por los procesos climáticos que tuvieron lugar en ese lapso de tiempo.

Goetzoideae es otro grupo de taxones dentro de Solanaceae (Santiago-Valentín y Olmstead 2003) que se distribuyen en Sudamérica y Las Antillas. Las especies de Las Antillas de Goetzoideae se relacionan con el género endémico brasileño monotípico *Metternichia*. Aquí se determinó que el ancestro de estas especies tiene una edad de 22.6 MA, lo cual descarta la posibilidad que este proceso pudo haber ocurrido entre el Cretácico tardío y el Terciario (Santiago-Valentín y Olmstead 2003). Por otro lado la radiación de Goetzoideae en las islas del Caribe ocurrió hace 6.35 MA, es decir al final del Mioceno, cuando la conformación del Caribe era muy parecida a la actual, lo cual descarta la posibilidad de un proceso de vicarianza como directriz de la distribución de estas especies antillanas. El arribo de *Cestrum* a estas islas debió ocurrir alrededor de 3 MA, es decir, mucho tiempo después del arribo de Goetzoideae. A pesar del ulterior arribo de *Cestrum*, el proceso de diversificación de este linaje en Las Antillas ha sido un proceso más acelerado que el que realizó Goetzoideae.

Con los datos de Solanaceae se determina que aunque la tasa de sustitución molecular de *Cestrum* está alrededor del promedio de otros taxones de la familia, y muy similar a la encontrada en *Sessea* su género hermano y en *Vestia* el hermano de ambos; la tasa de especiación de *Cestrum* es la más alta entre los taxones analizados de esta familia. Hasta tal punto que en comparación con *Vestia*, la especiación en *Cestrum* es un orden de magnitud mayor. También con los datos de *Cestrum* se confirma esta tendencia, siendo la tasa de

especiación de *Cestrum* muy superior a la de *Sessea*, a pesar de que ambos géneros tienen una tasa de sustitución similar. Dentro las especies analizadas de *Cestrum*, la tasa de sustitución molecular más alta se encontró para el clado del Centro de México, mientras que su tasa de diversificación está por debajo del promedio. Al graficar la tasa de sustitución nucleotídica contra la diversificación de varias taxones de angiospermas, se encuentra una ligera correlación positiva. Sin embargo, este efecto puede ser consecuencia de otras variables no consideradas como el tipo de secuencia utilizada, la tasa metabólica y la forma de vida de los organismos incluidos. Con base en lo anterior, se puede afirmar que en este estudio no se obtuvo evidencia para apoyar la relación causal entre altas tasas de sustitución y altas tasas de especiación, corroborando lo encontrado por Bromham y Woolfit (2004), quienes en el estudio de varias radiaciones de especies en islas no encontraron evidencia de aceleración de la tasa de sustitución nucleotídica.

La velocidad en la especiación que se encontró en *Cestrum* es comparable con las estimadas en otras famosas radiaciones (Baldwin y Sanderson (1998); Klak et al. 2004; Richardson et al. 2001a, Richardson et al. 2001b), las cuales se supone fueron influenciadas por varios factores extrínsecos coadyuvados por los cambios climáticos cíclicos del Pleistoceno. La evidencia aquí recabada apunta a que el proceso que impactó en la diversificación de los linajes estudiados de *Cestrum* fue un proceso que, probablemente ya venía gestándose en Sudamérica pero se reactivó con la unión de América del Norte y Sudamérica de en el Plioceno, pero se complementó con los cambios climáticos del Plio-Pleistoceno.

Por otro lado, los resultados que se obtuvieron concuerdan con el estudio de Richardson et al. (2001a), quienes estudiaron el género *Inga* (Leguminosae) determinando el origen de este linaje en el Mioceno Tardío, con incrementos considerables de su diversidad a

los 2 MA, ya que el 30% de las especies actuales de este género aparecieron en ese tiempo. Estos autores, al igual que Gentry (1982) atribuyen el aumento de diversidad a tres factores: los cambios climáticos del Pleistoceno, el surgimiento del Istmo de Panamá y la orogenia en los Andes.

Pennington et al. (2004) en un estudio con los taxones *Ruprechtia* (Polygonaceae), “robinoid” (*Robinia* y aliados; Leguminosae), *Chaetocalyx*, *Nissolia* (Leguminosae) y *Loxopterygium* (Anacardiaceae) determinaron que la diversificación de la selva baja en el continente Americano se desarrolló entre el Mioceno-Plioceno, y sólo en América Central algunos de estos linajes diversificaron en el Pleistoceno. En contraste, Becerra (2005) al tratar de inferir el origen de la selva baja mediante la fechación del género *Bursera*, detectó la mayor radiación en el Oligoceno entre los 20-30 MA, encontrando una desaceleración de este proceso desde hace 7.5 MA. Estas ambigüedades indican que es necesario más trabajo sobre este tema para poder tener un panorama general de estos procesos.

Con el advenimiento de las técnicas moleculares, se está haciendo evidente el papel de la dispersión a larga distancia en la conformación de la flora (Richardson et al. 2004c; Plana 2004; Renner 2004; Lavin et al. 2004; Pennington & Dick 2004). Simplemente en Leguminosae, Lavin et al. (2004) han reportado 59 eventos de este tipo. Esto indica que este mecanismo evolutivo es más generalizado de lo que se pensaba. El patrón biogeográfico encontrado en este estudio también indica que eventos de dispersión están involucrados. Entonces, ¿porqué estas especies no arribaron a América del Norte antes del surgimiento de Istmo de Panamá? Por otro lado es necesario esclarecer en los sucesos de especiación de *Cestrum* el papel que jugaron la interacción de estas plantas con sus polinizadores (Benítez y D’Arcy 1998; D’Arcy 1999).

El estudio de otras radiaciones en el contexto histórico evolutivo a nivel de regional es

una de las mejores alternativas para poder contestar cómo ocurrieron estos procesos en el pasado, sobre todo en linajes donde el registro fósil es escaso. Además el entendimiento de cómo los cambios climáticos del pasado afectaron en el proceso evolutivo puede ayudarnos a predecir como reaccionarán las especies al cambio climático que está provocando el hombre, en el esquema consumista en que se encuentra cautivo.

LITERATURA CITADA

- BALDWIN, B. y M. J. SANDERSON. 1998. Age and rate of diversification of the Hawaiian silversword alliance (Compositae). *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 95: 9402-9406.
- BECERRA, J. X. 2005. Timing the origin and expansion of the Mexican tropical dry forest. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 102: 10919-10923.
- BENÍTEZ DE ROJAS, C. E. y W. G. D'ARCY. 1998. The genera *Cestrum* and *Sessea* (Solanaceae: Cestreae) in Venezuela. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 85: 273-351.
- BOWIE, R. C. K., J. FJELDSÅ, S. J. HACKETT, J. M. BATES y T. M. CROWE. 2006. Coalescent models reveal the relative roles of ancestral polymorphism, vicariance, and dispersal in shaping phylogeographical structure of an African montane forest robin. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 38: 171-188.
- BREMER, K., E. M. FRIIS, y B. BREMER. 2004. Molecular phylogenetic dating of asterid flowering plants shows Early Cretaceous diversification. *Systematic Biology* 53: 496-505.
- CLARKSON, J. J., S. KNAPP, V. F. GARCÍA, R. G. OLMSTEAD, A. R. LEITCH, y M. W. CHASE. 2004. Phylogenetic relationships in *Nicotiana* (Solanaceae) inferred from multiple plastid regions. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 33: 75-90.
- BROMHAM L. y M. WOOLFIT. 2004. Explosive Radiations and the Reliability of Molecular Clocks: Island Endemic Radiations as a Test Case. *Systematic Biology* 53: 758-766.
- COATES A. G. 1997. The forging of Central America. Pp. 1-37. In: Central America: A Natural and Cultural History. A. G. Coates (ed.). Yale University Press, New Haven,

Connecticut.

- CONTI E., T. ERIKSSON, J. SCHÖNENBERGER, K. J. SYTSMA y D. A. BAUM. 2002. Early Tertiary out-of-India dispersal of Crypteroniaceae: evidence from phylogeny and molecular dating. *Evolution* 56: 1931-1942.
- CRISP, M., L. COOK y D. STEANE. 2004. Radiation of the Australian flora: what can comparisons of molecular phylogenies across multiple taxa tell us about the evolution of diversity in present-day communities?. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B* 359: 1551-1571.
- D' ARCY, W. G. 1991. The Solanaceae since 1976, with a review of its biogeography. Pp. 75-137. In: *Solanaceae III: taxonomy, chemistry, evolution*. J. G. Hawkes, R.N. Lester, M. Nee, R. N. Estrada (eds.). Kew. Royal Botanical Gardens.
- D' ARCY, W. G. 1999. Red-flowered *Cestrum* and red-loving hummingbirds. Pp. 33-43. In: *Solanaceae IV: advances in biology and utilization*. M. Nee, D. E. Symon, R. N. Lester and J. P. Jessop (eds.). Kew: Royal Botanic Gardens.
- DELGADO-SALINAS, A., R. BIBLER, y M. LAVIN. 2006. Phylogeny of the Genus *Phaseolus* (Leguminosae): A Recent Diversification in an Ancient Landscape. *Systematic Botany* 34(4): 00-00. Aceptada.
- EHRlich, P. R. 2001. La sistemática y la conservación de la biodiversidad. Pp. 201-220. In: *Enfoques contemporáneos para el estudio de la biodiversidad*. H. M. Hernández, A. García Aldrete, F. Álvarez y M. Ulloa (eds.). Instituto de Biología, UNAM, Mexico.
- FELSENSTEIN, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- FISCHER, A. G. 1960. Latitudinal variations in organic diversity. *Evolution* 14: 64-81.
- 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.
- GOOD-AVILA S. V., V. SOUZA, B. S. GAUT, y L. E. EGUIARTE. 2006. Timing and rate of speciation in *Agave* (Agavaceae). *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 103: 9124-9129.
- HAFFER, J. 1969. Speciation in Amazonian forest birds. *Science* 165: 131-137.

- HUGHES, C. y R. EASTWOOD. 2006. Island radiation on a continental scale: Exceptional rates of plant diversification after uplift of the Andes. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 103: 10334-10339.
- KLAK, C., G. REEVES y T. HEDDERSON. 2004. Unmatched tempo of evolution in Southern African semi-desert ice plants. *Nature* 427: 63-65.
- KULCHESKI, F. R., V. C. MUSCHNER, A. P. LORENZ-LEMKE, J. R. STEHMANN, S. L. BONATTO, F. M. SALZANO y L. B. FREITAS. 2006. Molecular phylogenetic analysis of *Petunia* Juss. (Solanaceae). *Genetica* 126: 3-14.
- LANGLEY, C. H. y W. FITCH. 1974. An estimation of the constancy of the rate of molecular evolution. *Journal of Molecular Evolution* 3: 161-177.
- LAVIN, M., M. F. WOJCIECHOWSKI, A. RICHMAN, J. ROTELLA, M. J. SANDERSON, y A. BEYRAMATOS. 2001. Identifying Tertiary radiations of Fabaceae in the Greater Antilles: alternatives to cladistic vicariance analysis. *International Journal of Plant Sciences* 162: S53-S76.
- LAVIN, M., B. P. SCHRIRE, G. LEWIS, R. T. PENNINGTON, A. DELGADO-SALINAS, M. THULIN, C. E. HUGHES, A. B. MATOS, y M. F. WOJCIECHOWSKI. 2004. Metacommunity process rather than continental tectonic history better explains geographically structured phylogenies in legumes. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 359: 1509-1522.
- LAVIN, M., P. S. HERENDEEN, and M. F. WOJCIECHOWSKI. 2005. Evolutionary rates analysis of Leguminosae implicates a rapid diversification of lineages during the Tertiary. *Systematic Biology* 54: 530-549.
- LINDER, H. P. y C. R. HARDY. 2004. Evolution of the species-rich Cape flora. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 359: 1623-1632.
- MAGALLÓN, S. y SANDERSON, M. J. 2001. Absolute diversification rates in angiosperms clades. *Evolution* 55: 1762-1780.
- MAGALLÓN, S. 2004. Dating lineages: molecular and paleontological approaches to the temporal framework of clades. *International Journal of Plant Sciences* 165:S7-S21.
- MONTERO-CASTRO, J. C., A. DELGADO-SALINAS, E. DE LUNA y L. E. EGUIARTE. 2006.

- Phylogenetic analysis of *Cestrum* section *Habrothamnus* (Solanaceae) based on plastid and nuclear DNA sequences. *Systematic Botany* 34(4): 00-00. Aceptada.
- NEE, M. 2001. An overview of *Cestrum*. Pp. 109-136. In: *Solanaceae V: advances in taxonomy and utilization*. R. G. van de Berg, G. W. M. Barendse, G. M. van der Weerden, and C. Mariani (eds.). Nijmegen University Press, Nijmegen.
- NEE, S., MAY, R. M. y P. H. HARVEY. 1994. The reconstructed evolutionary process. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 344: 305-311.
- OLMSTEAD, R. G., J. A. SWEERE, R. E. SPANGLER, L. BOHS, y J. D. PALMER. 1999. Phylogeny and provisional classification of the Solanaceae based on chloroplast DNA. Pp. 111-137. In: *Solanaceae IV: advances in biology and utilization*. M. Nee, D. E. Symon, R. N. Lester, y J. P. Jessop (eds.). Kew: Royal Botanic Gardens.
- PENNINGTON, R. T. y C. W. DICK. 2004. The role of immigrants in the assembly of the South American rainforest tree flora. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 359: 1611-1622.
- PENNINGTON, R. T., M. LAVIN, D. E. PRADO, C. A. PENDRY, S. PELL y C. BUTTERWORTH. 2004. Historical climate change and speciation: Neotropical seasonally dry forest plants show patterns of both Tertiary and Quaternary diversification. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 359: 515-538.
- PLANA, V. 2004. Mechanisms and tempo of evolution in the African Guineo-Congolian rainforest. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 359: 1585-1594.
- PRANCE, G. T. 1973. Phytogeographic support for the theory of Pleistocene forest refuges in the Amazon Basin, based upon evidence from distribution pattern in Caryocaraceae, Chrysobalanaceae, Dichapetalaceae and Lecythidaceae. *Acta Amazónica* 3: 5-28.
- RAMÍREZ, J.L. Y S. CEVALLOS-FERRIZ. 2000. Consideraciones sobre las angiospermas (plantas con flor) fósiles en México. Unión Geofísica Mexicana, A. C.
- REID, E. M. Y M. E. J. CHANDLER. 1926. The Bembridge Flora (Catalogue of Cainozoic Plants in the Department of Geology: Vol. 1), British Museum (Natural History), London. Pag. 206.
- RENNER, S. S. 2004. Multiple Miocene Melastomataceae dispersal between Madagascar,

- Africa and India. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 359: 1485-1494.
- RICHARDSON, J. E., R. T. PENNINGTON, T. D. PENNINGTON y P. M. HOLLINGSWORTH. 2001a. Rapid diversification of a species-rich genus of Neotropical rainforest trees. *Science* 293: 2242–2245.
- RICHARDSON, J. E., F. M. WEITZ, M. F. FAY, Q. C. B. CRONK, H. P. LINDER, G. REEVES y M. W. CHASE. 2001b. Rapid and recent origin of species richness in the Cape flora of the South Africa. *Nature* 412: 181-183.
- RICHARDSON, J. E., L. W. CHATROU, J. B. MOLS, R. H. J. ERKENS y M. D. PIRIE. 2004c. Historical biogeography of two cosmopolitan families of flowering plants: Annonaceae and Rhamnaceae. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 359: 1495-1508.
- RICHARDSON, J. E., F. M. WEITZ, M. F. FAY, Q. C. B. CRONK, H. P. LINDER, G. REEVES y M. W. CHASE. 2001d. Phylogenetic analysis of *Phyllica* L. (Rhamnaceae) with an emphasis on island species: evidence from plastid *trnL-F* and nuclear internal transcribed spacer (Ribosomal) DNA sequences. *Taxon* 50: 405-427.
- ROY, M. S. 1997. Recent diversification in African greenbuls (Pycnonotidae: Andropadus) supports a montane speciation model. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 264: 1337–1344.
- SANDERSON, M. J. 2002. Estimating absolute rates of molecular evolution and divergence times: a penalized likelihood approach. *Molecular Biology and Evolution* 19:101-109.
- SANG, T., D. J. CRAWFORD, S.-C. KIM, y T. F. STUESSY. 1994. Radiation of the endemic genus *Dendroseris* (Asteraceae) on the Juan Fernandez Islands: Evidence from sequences of the ITS regions of nuclear ribosomal DNA. *American Journal of Botany* 81: 1494-1501.
- SANTIAGO-VALENTÍN, E. y R. G. OLMSTEAD. 2003. Phylogenetics of the Antillean Goetzeoideae (Solanaceae) and their relationships within the Solanaceae based on chloroplast and ITS DNA sequence data. *Systematic Botany* 28: 452-460.
- STEBBINS, G. L. 1974. *Evolution above the species level*. Cambridge, MA: Harvard University Press.
- SWOFFORD, D. L. 1998. PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods).

- v. 4.0 beta 10. Sunderland: Sinaur Associates.
- SZAFER, W. 1961. Miocene Flora from Stare in Upper Gliwice Silcsia. Instytut Geologiczny Prage, XXXIII, Wydawnictwa Geologiczne, Warsaw, 205 pp.
- TAGO, M. 1999. The evolution of *Nolana* L. (Solanaceae) at Lomas in South America. PhD. dissertation. Tokyo Metropolitan University.
- TAGO, M. y M. O. DILLON. 1999. Biogeografía y evolución en el clado *Nolana* (Nolaneae–Solanaceae). *Arnaldoa* 6: 81-116.
- VAN DER BURGH, J. 1987. Miocene floras in the Lower Rhenish Basin and their ecological interpretation. *Review of Palaeobotany and Palynology* 52: 299-366.
- WHITSON, M. y P. S. MANOS. 2005. Untangling *Physalis* (Solanaceae) from the Physaloids: a two-gene phylogeny of the Physalinae. *Systematic Botany* 30: 216-230.
- WIKSTRÖM, N., V. SAVOLAINEN y M. W. CHASE. 2001. Evolution of the angiosperms: Calibrating the family tree. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 268: 2211-2220.

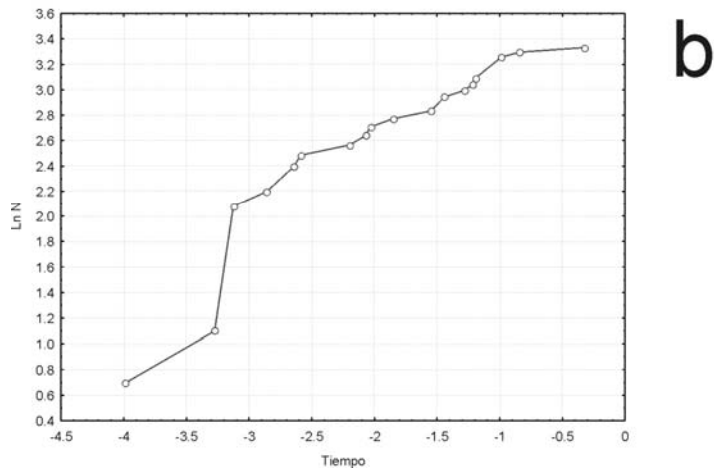
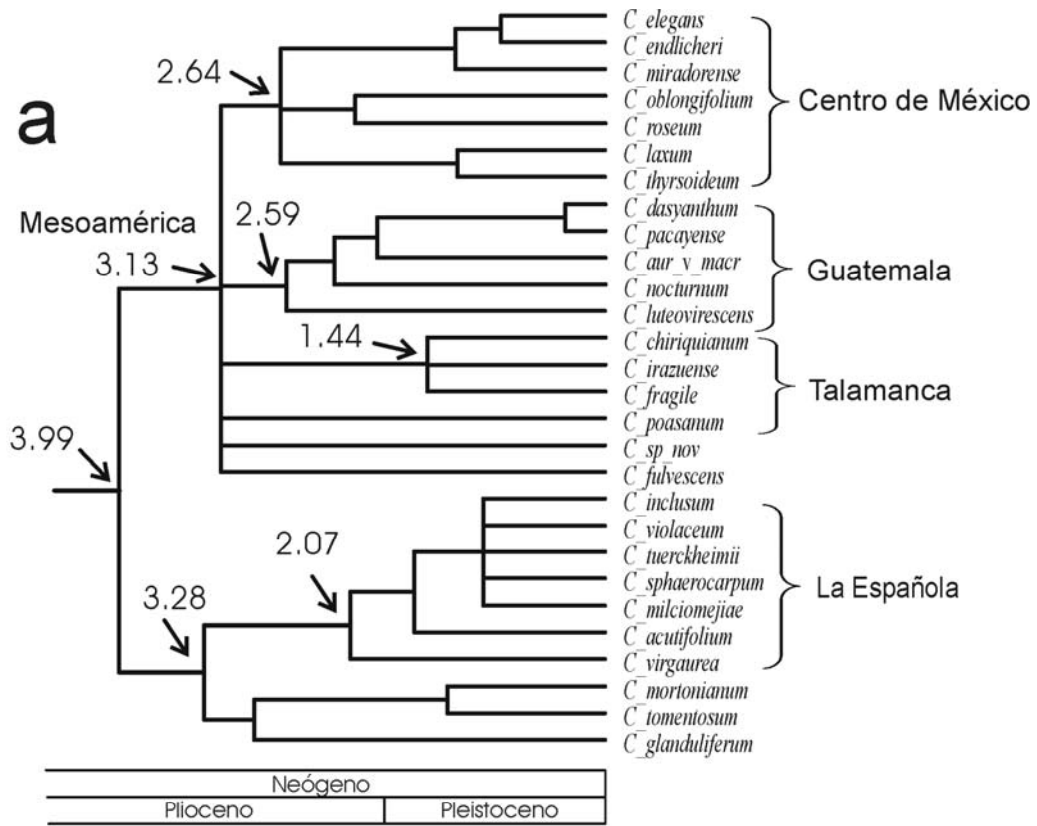


Figura 1a. Uno de los árboles fechados con VP donde el largo de las ramas es equivalente al tiempo. Tres especies (*C. fasciculatum*, *C. guatemalense*, *C. regelli*) presentaron ramas de longitud cero, por lo cual fueron excluidas. Con una flecha se señalan los clados discutidos en el texto. Asociado a este árbol se graficó el número acumulado de linajes a través del tiempo (figura 1b). Para más detalles del muestreo en los clados referirse a los capítulos 2 y 3.

Tabla 1. Se resumen los promedios de las edades (T), tasa de sustitución molecular (S), número de especie por clado (N) y la tasa de diversificación (D) de los clados estimados para *Cestrum* y la familia Solanaceae. La mayoría de las estimaciones de la tasa de diversificación $N_0 = 2$, en los casos donde $N_0 = 1$ se marcan con un asterisco. Para más detalles del muestreo en clados referirse a los capítulos 2 y 3.

<i>Cestrum</i>				
	T	S	N	D
Centro de México	2.64	0.002077	7	0.47453
Mesoamérica	3.13	0.001576	18	0.70311
Guatemala	2.59	0.001265	5	0.35378
Rep. Dominicana	2.07	0.001130	7	0.60520
Talamanca	1.44	0.000605	3	0.28157
<i>Cestrum</i> incluidos aquí	3.99	0.001531	28	0.66142
Sessea *	9.54	0.001152	20	0.31402
Promedio en <i>Cestrum</i>	NA	0.001325	NA	0.48066
Desviación Estándar	NA	0.000424	NA	0.33994

Solanaceae				
	T	S	N	D
Goetzeoideae (Antillas)	6.35	0.000599	5	0.14428
<i>Cestrum</i> *	9.54	0.000885	175	0.54117
Sessea *	9.54	0.000697	20	0.31389
Vestia *	13.68	0.001313	1	0.00000
Witheringia-Physalis	19.14	0.000320	116	0.21217
Nicotiana	21.23	0.000245	75	0.17071
Goetzeoideae (Sudamérica)	22.63	0.000708	7	0.05536
Solanum	23.15	0.000426	1000	0.26839
Nolana-Lycium	28.53	0.000692	126	0.14524
Capsicum-Physalis	36.32	0.000696	25	0.06954
Petunioideae	36.81	0.000956	159	0.11886
Nicotianoideae	37.75	0.000785	107	0.10541
Cestroideae	40.35	0.000542	218	0.11626
Solanoideae	40.48	0.000871	1746	0.16730
Schwenckia-Petunioideae *	45.77	0.000582	22	0.06753
Clado X12	46.15	0.000945	1965	0.14931
Schwenckia-Cestroideae *	48.38	0.002059	22	0.06389
Duckeodendron-Goetzeoideae	48.77	0.000587	7	0.02569
Schizanthus *	54.05	0.001596	12	0.04597
Familia (Grupo Corona)	54.05	0.001596	2297	0.13036
Promedio	NA	0.000816	NA	0.14637
Desviación Estándar	NA	0.000461	NA	0.12162

Tabla 2. Otras radiaciones rápidas en angiospermas seleccionadas de la literatura. Se menciona las secuencias y el tipo de estimación usada para calcular la tasa de sustitución nucleotídica (S). Para la diversificación (D) se utilizó el mismo estimador que se utilizó en *Cestrum* y *Solanaceae*.

Taxones	Partición	Tipo de estimación	S	D	Referencia
<i>Agave</i> (Agavaceae)	<i>TrnL+TrnL-TrnF</i>	Arbol Linearizado	0.00231	0.5879	Good-Avila et al. 2006
<i>Dendroseris</i> (Compositae)	ITS	Reloj	0.00394	0.3760	Sang et al. 1994
<i>Inga</i> (Leguminosae)	ITS	NPRS	0.00234	0.5113	Richardson et al. 2001a
Leguminosae	<i>matK</i>	PL	0.00082	0.1555	Lavin et al. 2005
<i>Phaseolus</i> (Leguminosae)	<i>trnK</i>	PL	0.00395	0.6270	Delgado-Salinas et al. 2006
<i>Phyllica</i> (Rhamnaceae)	ITS	NPRS	0.00244	0.2930	Richardson et al. 2001d
Silverswords (Compositae)	ITS	Reloj	0.00300	0.4865	Baldwin y Sanderson 1998
<i>Yucca</i> (Agavaceae)	<i>TrnL+TrnL-TrnF</i>	Arbol Linearizado	0.00231	0.1748	Good-Avila et al. 2006

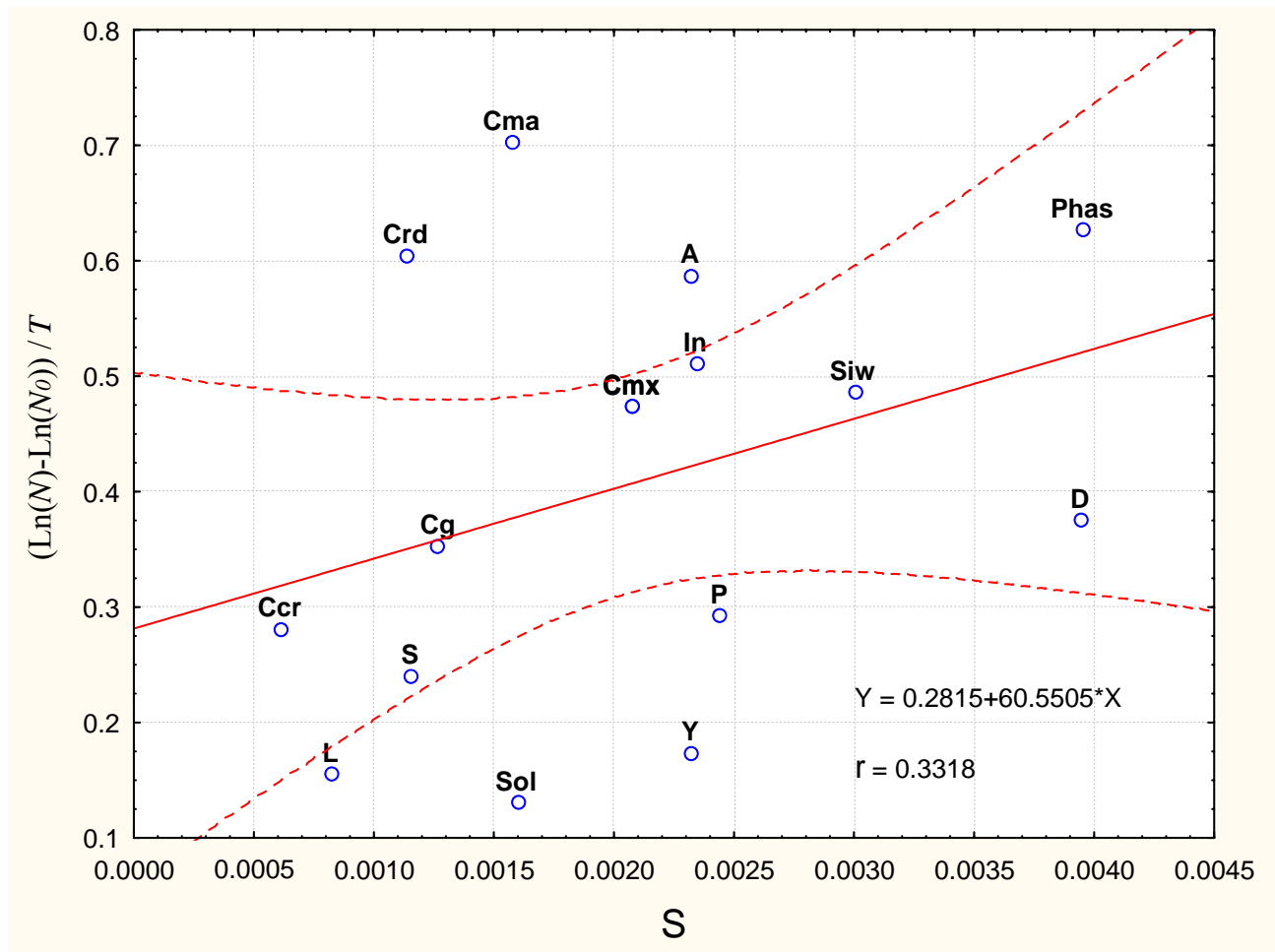


Figura 3. Tasa de sustitución nucleotídica vs. diversificación de clados en *Cestrum* y otros taxones con diversificación rápida. Se seleccionaron datos de la Tabla 1 y la Tabla 2. A= *Agave* (*trnL*); Ccr= *Cestrum* en Costa Rica; Cg= *Cestrum* en Guatemala; Cma= *Cestrum* en Mesoamérica; Cmx= *Cestrum* en Centro de México; Crd= *Cestrum* en República Dominicana; D= *Dendroseris* (ITS); In= *Inga* (ITS); L= *Leguminosae* (*matK*); Phas= *Phaseolus* (*trnK*); P= *Phylica* (ITS); S= *Sessea*; Siw= *Silverswords*; Y= *Yucca* (*trnLs*).

CONCLUSIÓN GENERAL

El gran matemático de la Grecia antigua Arquímedes decía “Dadme un punto de apoyo y moveré el mundo”. La comprensión de la filogenia se ha convertido en la piedra angular para otros estudios como los de biología evolutiva y ecología de comunidades (Webb et al. 2002). Se ha hecho conciencia de que la historia evolutiva de las especies ha jugado un papel substancial en la formación de la diversidad regional y local (Hubbell 2001). Como consecuencia, se ha comenzado a generalizar la idea de que los procesos que estructuran los biomas son consecuencias de las causas históricas que los han mantenido a lo largo del tiempo geológico.

Por otro lado, a medida que en sistemática se han ido perfeccionando los métodos analíticos y moleculares para el reconocimiento de la ancestría, las relaciones filogenéticas de los organismos se están comprendiendo mejor. Aunque ha habido un gran avance en entender las relaciones de parentesco entre los taxones en niveles filogenéticos superiores, no es así por abajo del nivel de género donde, comparadas con la diversidad existente, las filogenias son relativamente escasas.

Este estudio examinó las relaciones filogenéticas del género *Cestrum*, las cuales se han considerado particularmente difíciles de elucidar (Nee 2001). Comúnmente se aceptan las secciones *Cestrum* y *Habrothamnus*, pero en este estudio se demostró que esta delimitación no es natural y que las características que se habían ocupado para su demarcación son principalmente caracteres convergentes, seguramente dirigidos por los polinizadores. No obstante, los grupos monofiléticos reconocidos se corresponden con la Cordillera de Costa Rica-Panamá, el Macizo Montañoso de Chiapas-Guatemala, las Cordilleras de La Española y las Montañas del Centro de México. Una filogenia como ésta, donde la distribución geográfica es un indicador de las relaciones filogenéticas se llama filogenia geográficamente estructurada (Lavin 2004). Esta

estructura filogenética, al parecer está provocada por procesos demográficos estocásticos que actúan a escala de tiempo evolutivo (Lavin 2004). Otro aspecto interesante de la filogenia de *Cestrum* fue la baja divergencia molecular entre las especies muestreadas. En conjunto, ambas circunstancias sugirieron que el proceso evolutivo que condujo a la diversidad actual de estas plantas fue repentino, y está conformado por varias radiaciones independientes delimitadas geográficamente.

Lo anterior fue confirmado por el estudio de fechación y diversificación, en el cual se pudo determinar que el proceso de diversificación de este grupo sufrió una aceleración en la formación de linajes hace cerca de 3.1 MA, mientras que las radiaciones dentro de cada región, como la radiación de *Cestrum* en las Cordilleras de La Española, iniciaron entre los 2.5 a 2 MA. Este proceso no se corresponde temporalmente con la radiación de Goetzoideae, otro linaje de la familia Solanaceae que también diversificó en República Dominicana, lo cual indica que la familia ha incursionado a las Antillas en eventos independientes.

En un estudio similar realizado por Richardson et al. (2001a), con el género *Inga* (Leguminosae) se determinó que el origen de este linaje en el Mioceno Tardío, pero el 30% de las especies actuales apareciendo hace 2 MA, premisa que concuerda con este estudio. Sin embargo, estos autores atribuyen el aumento de diversidad a tres factores: los cambios climáticos del Pleistoceno, el surgimiento del Istmo de Panamá y la orogenia en los Andes.

Es evidente que en la diversificación de *Cestrum*, las especies filogenéticamente jóvenes tienden a encontrarse en áreas montañosas, como lo encontrado en *Phaseolus* (Delgado-Salinas et al. 2006) o en el género *Lupinus* (Hughes y Eastwood 2006) para el caso de los Andes. Hughes y Eastwood (2006) consideran que las diversificaciones en montañas se pueden atribuir a que estos hábitats son equivalentes a islas, ya que proveen muchas oportunidades para la colonización, al ser ambientes empobrecidos y libres de competidores. Sin embargo, estos autores no niegan que

las fluctuaciones climáticas del Pleistoceno contribuyeron al aislamiento geográfico.

En este estudio se observó que la tasa de diversificación de *Cestrum* después del primer cambio repentino de hace 3.125 MA, no volvió a presentar cambios abruptos subsecuentes. Esto permite sugerir un escenario donde el levantamiento del Istmo de Panamá fue el disparador inicial del proceso de diversificación y éste se mantuvo coadyuvado por los cambios climáticos que ocurrieron en el Plio-Pleistoceno.

También en este estudio fue posible determinar la tasa de especiación de *Cestrum*, la cual es el doble que la tasa en *Sessea*, su género hermano y superior a la encontrada en *Phyllica*, un género sudafricano cuya rápida diversificación ha sido bien estudiada. Incluso algunos clados dentro de *Cestrum* presentan una tasa de diversificación de la magnitud de radiaciones rápidas como las de *Agave* y *Phaseolus*. Sin embargo, este último género presenta una tasa de sustitución molecular de más del doble que la que presenta *Cestrum*. Esto indica, como Bromham y Woolfit (2004) sugieren, que no hay evidencia de relación causal entre altas tasas de sustitución nucleotídica y altas tasas de especiación. Sin embargo, es necesario descartar en estudios subsecuentes otras variables que pudieran estar afectando los resultados como el ciclo de vida de los organismos y la magnitud de la tasa de extinción.

LITERATURA CITADA

- BROMHAM L. Y M. WOOLFIT. 2004. Explosive Radiations and the Reliability of Molecular Clocks: Island Endemic Radiations as a Test Case. *Systematic Biology* 53: 758–766.
- DELGADO-SALINAS, A., R. BIBLER, y M. LAVIN. 2006. Phylogeny of the genus *Phaseolus* (Leguminosae): A Recent Diversification in an Ancient Landscape. *Systematic Botany* 34(4): 00-00. Aceptada.
- HUBBELL, S. P. 2001. The unified neutral theory of biodiversity and biogeography. Princeton University Press.

LITERATURA CITADA

- ATKINSON, G. C. y T. K. JAMES. 1979. Preliminary study on the control of red *Cestrum*.
Proceedings of the 32nd New Zealand Weed and Pest Control Conference: 289-291.
- BACKHOUSE, N., C. DELPORTE, R. NEGRETE, P. SALINAS, A. PINTO, S. ARAVENA, y B. K. CASSELS. 1996. Anti-inflammatory and antipyretic activities of *Cuscuta chilensis*, *Cestrum parqui* and *Psoralea glandulosa*. *International Journal of Pharmacognosy* 34: 53-57.
- BAWA, K., S. BULLOCK, D. PERRY, R. COVILLE y M. GRAYUM. 1985. Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. II. Pollination systems. *American Journal of Botany* 72: 346-356.
- BECKETT, K. A. 1987. *Cestrum* in cultivation. *The Plantsman* 9: 129-132.
- BENÍTEZ DE ROJAS, C. E. y W. G. D'ARCY. 1995. New species of *Cestrum* (Solanaceae) and synonymy under two widespread species. *Novon* 5: 311-317.
- BENÍTEZ DE ROJAS, C. E. y W. G. D'ARCY. 1998. The genera *Cestrum* and *Sessea* (Solanaceae: Cestreae) in Venezuela. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 85: 273-351.
- y —. 1999. Studies of Cestreae of Venezuela. Pp. 205-212. In: *Solanaceae IV: advances in biology and utilization*. M. Nee, D. E. Symon, R. N. Lester y J. P. Jessop (eds.). Kew: Royal Botanic Gardens.
- _____ y N. W. SAWYER. 1999. A new species of *Cestrum* (Solanaceae) from Cordillera de Mérida, Venezuela. *Brittonia* 51: 163-165.
- BREEDLOVE, D. E. 1986. Flora de Chiapas. Listados Florísticos de México IV. Instituto de Biología, UNAM pp. 246.
- BERNARDELLO, L. M., L. GALETTO, J. JARAMILLO y E. GRIJALBA. 1994. Floral nectar chemical composition of some species from Reserva Río Guajalito, Ecuador. *Biotropica* 26: 113-116.
- BRAKO, L. y J.L. ZARUCCHI. 1993. Catalogue of the flowering plants and gymnosperms of Peru. Monographs in Systemic Botany from the Missouri Botanical Garden 45: i-xl, A. Rudas y Ch. Taylor (eds.). 1098-1137 pp.

- CASTRO-LAPORTE M. y RUÍZ-ZAPATA T. 2000. Biología floral y síndrome de polinización de cinco especies de *Cestrum* (Solanaceae). *Kurtiziana* 28: 205-210.
- D' ARCY, W. G. 1973. Solanaceae. In *Flora of Panama, Family 170*. R. E. Woodson y R.W. Schery (eds.). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 60: 573-780.
- D' ARCY, W. G. 1991. The Solanaceae since 1976, with a review of its biogeography. Pp. 75-137. In: *Solanaceae III: taxonomy, chemistry, evolution*. J. G. Hawkes, R.N. Lester, M. Nee, R. N. Estrada (eds.). Kew. Royal Botanical Gardens.
- D' ARCY, W. G. 1999. Red-flowered *Cestrum* and red-loving hummingbirds. Pp. 33-43. In: *Solanaceae IV: advances in biology and utilization*. M. Nee, D. E. Symon, R. N. Lester y J. P. Jessop (eds.). Kew: Royal Botanic Gardens.
- D' ARCY, W. G. 2001. Solanaceae. Pp. 2666. In: W. D. Stevens, C. Ulloa Ulloa, A. Pool, y O. M. Montiel. *Flora de Nicaragua*. Missouri Botanical Gardens Press. St. Louis Missouri, E. U. A.
- DUNAL, M. F. 1852. Solanaceae. In: A. de Candolle, *Prodromus* 13(1): 1-690. Paris.
- ENDLICHER, S. L. 1839. *Genera Plantarum* 1: 667 p. Viena.
- FAEGRI, K. y L. VAN DER PILJ. 1979. The principles of pollination ecology. Third edition. Pergamon Press, Oxford.
- FRANCEY, P. 1935. Monographie du genre *Cestrum* L. *Candollea* 6: 46-398.
- . 1936. Monographie du genre *Cestrum* L., partie II. *Candollea* 7: 1-132.
- GENTRY, J. L. y W. G. D' ARCY. 1986. Solanaceae of Mesoamerica. Pp 15-26. In: W. G. D' Arcy Solanaceae: Biology and Systematics (ed.). Columbia University Press. New York, E. U. A.
- GENTRY, J. L. JR. y P. STANDLEY. 1974. Solanaceae. In: Gentry, Jr., J. L. y P. C. Standley (eds.), *Flora of Guatemala - Part X, Numbers 1 and 2*. *Fieldiana, Botany*. 24(10/1--2): 1--151
- GOTTSBERGER, G., J. SCHRAUWEN y H. F. LINSKENS. 1984. Amino acids and sugars in nectar, and their putative evolutionary significance. *Plant Systematic and Evolution* 145: 55-77.
- HABER, W. A. y G. W. FRANKIE. 1989. A tropical hawkmoth community: Costa Rican dry forest Sphingidae. *Biotropica* 21: 156-172.

- HARAGUCHI, M., Y. MIMAKI, M. MOTIDOME, H. MORITA, K. TAKEYA, H. ITOKAWA, A. YOKOSUKA y Y. SASHIDA. 2000. Steroidal saponins from the leaves of *Cestrum sendtnerianum*. *Phytochemistry* 55: 715-720.
- JØRGENSEN, P. M. y S. León-Yáñez. 1999. Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador. Solanaceae. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden 75: i--viii, ed. Jørgensen, P. M. y S. León-Yáñez). pp. 900-918.
- KNAPP, S., L. BOHS, M. NEE y D. M. SPOONER. 2004. Solanaceae — a model for linking genomics with biodiversity. *Comparative and Functional Genomics*. 5: 285–291.
- LINNAEUS, C. 1753. *Species Plantarum*. Stockholm.
- MORA, F. y C. I. OROZCO. 2002. Lista preliminar de las especies de *Cestrum* L. (Solanaceae) para Colombia. *Biota Colombiana*. 3 (1): 131-140.
- NEE, M. 1986. Solanaceae I. Flora de Veracruz 49: 1-191. INIREB, Xalapa, Mexico.
- NEE, M. 2001. An overview of *Cestrum*. Pp. 109-136. In: *Solanaceae V: advances in taxonomy and utilization*. R. G. van de Berg, G. W. M. Barendse, G. M. van der Weerden, y C. Mariano (eds.). Nijmegen University Press.
- NEE, M. en prep. Nomenclatural synopsis of genus *Cestrum*. Distribuido por el autor. New York, E. U. A. 73 p.
- OVERLAND, L. 1960. Endogenous rhythm in opening and odor of flowers of *Cestrum nocturnum*. *American Journal of Botany* 47: 378-382.
- PERCIVAL, M. 1965. *Floral Biology*. Pergamon Press, Oxford.
- PÉREZ-HERNÁNDEZ, S. 2001. Pp. 650-653. In: Rzedowsky, G. C. de y J. G. Rzedowsky (eds.). *Flora fanerogámica del Valle de México*. 2ª ed., Instituto de Ecología, A. C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y el Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán).
- PREMA, T. P. y N. RAGHURAMULU. 1994. Free vitamin D3 metabolites in *Cestrum diurnum* leaves. *Phytochemistry* 37: 677-681.
- PROCTER, M., P. YEO y A. LACK. 1996. *The Natural History of Pollination*. Timber Press, Portland, Oregon.
- RODRÍGUEZ, A. 2004. Solanáceas. Pp. 297-300. In: García-Mendoza, Abisáí J., María de Jesús Ordóñez y Miguel Briones-Salas (eds.). *Biodiversidad de Oaxaca*. Coedición

con: Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza: World Wildlife Fund, UNAM, Instituto de Biología. México.

- SCHLECHTENDAL, F. D. L. 1833. *Plantis Mexicanis*. *Linnaea* 8: 251.
- . 1847. *Plantae Leiboldianae (Dicotyleae)*. *Linnaea* 19: 269.
- STILES, F. G. 1976. Taste preferences and flower choice in hummingbirds. *Condor* 78: 10-26.
- SYKOROVA, E., Y. LIM-KAR, M. W. CHASE, S. KNAPP, I. J. LEITCH, A. R. LEITCH y J. FAJKUS. 2003. The absence of Arabidopsis-type telomeres in *Cestrum* and closely related genera *Vestia* and *Sessea* (Solanaceae): First evidence from eudicots. *The Plant Journal* 34: 283-291.
- URBAN, I. 1903. Nova genera et species II. *Symbolae Antillarum* 3: 370-371.
- VILLASEÑOR, J. L. 2003. Diversidad y distribución de las Magnoliophyta de México. *Interciencia*. 28: 160-167.
- WHITE, R. H., R. D. STEVENSON, R. R. BENNETT, D. E. CUTLER y W. A. HABER. 1994. Wavelength discrimination and the role of ultraviolet vision in the feeding behavior of hawkmoths. *Biotropica* 26: 427-435.
- ZANONI, T. 1995. *C. milciomejiae*. Pp. 263-265. In: T. Zanoni y R. García (eds.). Notes on the flora of Hispaniola. *Annals of the Carnegie Museum* 64: 255-265.
- ZULOAGA F. O. y O. MORRONE. 1999. Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina. Dicotyledoneae. *Monographs in Systematic Botany* 74. Missouri Botanical Garden Press.

ANEXO I

Cestrum sotonunezii, a New Species of *Cestrum* (Solanaceae) from Central Mexico

Juan Carlos Montero-Castro

Novon, en revisión

ABSTRACT. Because of their overall similarity, specimens of this species have been previously confused with *Cestrum flavescens* Greenm., *C. aurantiacum* Lindl., *C. oblongifolium* Schldl., and *C. thyrsoides* HBK. All four species also occur in central Mexico. Above all, *C. sotonunezii* keeps greater similarity with *C. flavescens* but it is clearly separate from it by several characteristics, mainly differences in the androecium. The new species *C. sotonunezii* Montero is described and illustrated, and a key to distinguish morphological similar species in central Mexico is provided.

Key words: *Cestrum*, *Habrothamnus*, Balsas River basin.

INTRODUCTION

Flowers of *Cestrum* are readily identified for being tubular narrow, with relatively short lobes, and frequently are grouped into axillary clusters along or in the tips of the branches. In addition, the basal portion of the androecium is fused to the lower interior corolla wall, where a bulge is developed, closely to the merging point. A more detailed description of these and other contrasting features of *Cestrum* can be found in Benítez de Rojas & D' Arcy (1998). The species *Cestrum sotonunezii*, as well as others in *Cestrum* section *Habrothamnus* Endl. has highly attractive club-shaped flowers, which are visited by hummingbirds. This shape of flowers has been a diagnostic feature to classify species in this section (Francey 1935). However, this proposed classification has been questioned by Nee (2001), and work is now in progress in the systematics of *Cestrum* to ascertain the phylogeny and character evolution on this group of plants (Montero *et al.* In preparation).

Specimens of *C. sotonunezii* have been previously confused with those of *C. aurantiacum*, *C. oblongifolium* and *C. thyrsoideum* HBK.; even though, these species are evidently morphologically different to the former. Presumably, these misidentifications took place since all four species have brilliant yellow club-shaped corollas, and are distributed mainly in central Mexico. Moreover, material of *C. sotonunezii* is harder to distinguish from that of *C. flavescens*, given that both species have twigs, buds and leaves with crumpled hairs, and flowers with comparable shape and color. Nonetheless, *C. sotonunezii* plants may usually be distinguished for being more robust, and by having its filaments emerging immediately below or directly from a bi-lobed bulge; also by the length of its corolla lobes. The distinctions between these five species are presented in the following key. This key separates *Cestrum sotonunezii* and

ally species in Central Mexico, that are characterized by having several-flowered axillary cymes near the branch tips, with many unscented day-showy flowers, of yellow or orange color.

KEY TO THE SPECIES OF *CESTRUM SOTONUNEZII* AND ALLIES IN CENTRAL MEXICO

- 1a. Calyx more than 7 mm long *C. thyrsoides* HBK.
- 1b. Calyx less than 6.5 mm long
 - 2a. Plants flowering when mature leaves are present, leaves glabrous.
 - 3a. Calyx lobes mucronate.....*C. aurantiacum* Lindl.
 - 3b. Calyx lobes deltate..... *C. oblongifolium* Schtdl.
 - 2b. Plants flowering when development of leaves begins or with mature leaves, leaves pubescent.
 - 4a. Stamens with free filaments emerge 2 mm above an entire bulge. Corolla lobes 1 mm long or less.....*C. flavescens* Greenm.
 - 4b. Stamens with free filaments appear to arise below or directly from a bi-lobed bulge. Corolla lobes 1.3--2.8 mm long.....*C. sotonunezii* Montero

Cestrum sotonunezii Montero, sp. nov. TYPE: MEXICO. Guerrero: Municipio

Chichihualco. Filo de Caballo, 2190 m, 22 May 1986, (fl), *J.C. Soto Nuñez 12678*

(holotype, MEXU; isotypes to be distributed to MO, NY, US). Figure 1.

Frutex vix ramificans, ramis glabris, moderate lenticellatis, ramunculis gemmisque pilis crispatis. Folia petiolata, membranacea, supra puberula, subtus tomentosa, ovata vel late ovata, apice acuminata, basi cuneata. Florescentia proleptica. Cymae 3--4 floribus sessilibus secus ramos juvenes dispositae, ad apices congestae, pedunculis 4--8 mm longis; flores 14--22

mm longi; bracteae et calyx pilosus; corolla aurantiaca vivida, lobis deltoideis 1.3--2.4 x 1.8--2.8 mm; tubo clavato, ore 2.9--3.5 mm lato; filamenta staminalia per minus quam dimidium longitudinis tubi ad tubum adnata, protuberatione bilobata glabra ad insertionem primam. Ovarium 9--12-ovulatum, stylo 11--19 mm longo, stigma papilloso capitato. Fructus albus, ovoideus. Semina prismatica.

Shrubs 1--3 m high, flowering since the end of dry season when leafless or as the new leaves develop, few-branched from the base, glabrous and sparsely covered with lenticels; twigs and buds pubescent with crumpled hairs. Leaves simple, alternate, membranous, above puberulent, beneath tomentose, ovate to widely ovate (young leaves elliptic), 3.7--10 X 2.0--5.8 cm, cuneate at base, acuminate at apex, lateral veins 7--9 opposite to subopposite, arcuate-ascending, petiole canaliculate, 11--30 mm long. Inflorescences in axillary cymes along young branches, several flowered, each cyme comprised by 3--4 sessile flowers, peduncle 4--8 mm, often several cymes grouped forming a corymbiform structure near branch tip; flowers sympetalous diurnal, unscented, 14--22 mm long, subtend by a bracteole, trullate-lanceolate, pilosulose, 1.2--7 X 0.5--3 mm; calyx obconic, 4.5--6.5 X 2.2--2.7 mm, puberulent-glabrate, teeth deltoid, 0.5--1 mm long, the tips ciliolated and faintly reflexed; corolla clavate-shaped, bright yellow-orange, tube 13--21 mm long, glabrous, expanding gradually upward, contracted near the limbo, mouth 2.9--3.5 mm wide, lobes deltoid, 1.3--2.4 X 1.8--2.9 mm, ciliolate in their external margins; stamens 10.5--19 mm long, bases of the filaments are adnate to the corolla inner wall, free filaments emerge below or directly from a bi-lobed bulge, up to 6--10 mm, glabrous, anthers oblong, 1.1--1.25 mm; gynoecium with nectary disk; ovary globose, 1--1.3 mm across, glabrous, 12 ovules; style distally granulose-covered, 11--19 mm long, stigma capitate, covered with

micro-papilla. Fruits ovoid, white, 6.5--9 X 5--7.5 mm; fruiting calyx accrescent, 7--9 mm long, sometimes splitting at the sinuses. Seeds prismatic in shape, 3.5--5 X 2.1--3 mm.

DISTRIBUTION AND HABITAT. This species has been collected from 1800 m up to 2800 m, in calcareous soils, in the ecotone of oak woodlands and tropical dry forests in two regions of central Mexico: localities near Ciudad Hidalgo, Michoacán along the Trans-Mexican Volcanic Belt and localities near Filo de Caballo, Guerrero along the Sierra Madre del Sur (figure 2). These regions are separated by 260 km (in straight line), but mainly they are isolated by the barrier that represents the basin of the Balsas River. As, this species is distributed in an ecotone, where is difficult to specify the different climatic variables. The climate within the different localities was established with the help of climatic maps (García & CONABIO 1998 and Vidal-Zepeda 1990). *Cestrum sotonunezii* is distributed in an intermediate climate among types “temperate subhumid” to “semiwarm subhumid, group C”, with an annual mean temperature between 12° and >18° C, and annual mean precipitation of 800 to 1200 mm. However, the microclimatic conditions of each place should be evaluated in more detailed studies.

DISCUSSION. *Cestrum sotonunezii* is clearly distinguishable from *C. thyrsoides* HBK., since the former has the interior calyx wall tightly placed towards the base of the corolla, and the calyx length is less than a third of the corolla length. In contrast, the calyx of *C. thyrsoides* HBK is loosely placed towards the corolla base and its length is longer than a third of the corolla. As for *C. oblongifolium* and *C. aurantiacum* are distinguishable by its glabrous leaves. A more complicated problem is differentiated it from *C. flavescens*, since both species are superficially similar, vegetative as well as floral. Furthermore, both species flowered in spring while the plants are nearly or quite leafless. Even so, the specimens of *C. sotonunezii* have more robust branches

than those of *C. flavescens*; the leaves of the two species have comparable pubescens, but the leaves of *C. flavescens* are consistently smaller. In addition, flowers of both are similar in size, often slightly bigger in *C. flavescens* (although there is a need of a populational study to be able to establish this). The features that definitely separate these two species are: the size of the stamens and the length of fusion to the corolla of the filaments. In *C. flavescens* the stamens reach up to ca 2 mm below the stigma, and their bases are fused to the corolla 2 mm above the bulge of the filaments (figure 3). Conversely in *C. sotonunezii* the stamens reach up to 1 mm below the stigma, and their bases are fused to the corolla below or at the same height that their bulges.

ETYMOLOGY. The epithet specific honors to José C. Soto-Núñez. He has been a huge collector in the region where this species is distributed, contributing with the knowledge of the diversity of the flora of Mexico.

PARATYPES. MÉXICO. **Guerrero**: Municipio Chichihualco, 5 km al SW de Chichihualco, camino a Filo de Caballo, 18 Feb. 1982, (fl), *E. Martínez 44* (MEXU); cerca de Filo de Caballo, 2500 m, 19 April 1985, (fl, fr), *J.C. Soto 8264* (MEXU); Municipio Heliodoro Castillo, Canoas, 1 km al S de Cruz de Ocote, 1720 m, 23 May 1986, (fl), *J.C. Soto 12725* (MEXU); 1 km al S de Cruz de Ocote, 17° 29' N, 100° 07' W, 2800 m, 22 May 1987 (fl, fr), *J.S. Miller 2861* (MEXU, MO); Municipio Leonardo Bravo, Camino Filo de Caballo a Chichihualco, 14 km a partir del Hospital de Filo de Caballo, 17° 35' 18" N, 99° 47' 53" W, 2254 m, 2 Mar. 2002, *J.C. Montero 213* (MEXU, MO, NY, US); Yextla, 7.4 km al SE, 17° 32' 37" N, 99° 54' 45" W, 1900 m, 7 July 1998, (fl), *B. González 1779* (FCME); 7 km del camino de Chichihualco a Filo de Caballo a partir de la gasolinera de Chilchihualco, 10 May 2002, *J.C. Montero 223*

(MEXU, NY); de Filo de Caballo a El Jilguero, desviación a Yextla, 2420 m, (fl), *J. Calónico 3516* (FCME); **Michoacán**: Municipio Charo, Las Trojes, 19° 39' 10" N, 100° 56' 9" W, 2275 m, 21 April 1986 (fl), *S. Zamudio 3874* (MEXU); Municipio Hidalgo, 5 km antes del Caracol, 2300 m, 23 April 1984, (fl), *J.C. Soto 6367* (MEXU); Municipio Tzitzie, 2 km al S de El Mirador, Mil Cumbres camino a San Antonio Villalongín, 2425 m, 30 Mar. 1982, (fl), *E. Martínez-S 442* (MEXU).

ACKNOWLEDGMENTS. I thank the Instituto de Biología, UNAM, especially Mario Sousa Sánchez and María del Rosario García Peña for their assistance obtaining the studied specimens. Also the curators of Herbarium: F, FCME, MEXU, MO and US to facilitate us their collections. To the Fernando Chiang for the Latin diagnosis; to Albino Luna for the illustration; to Alfonso Delgado Salinas for the critical review of this paper. Financial support was kindly granted by Dirección General de Estudios de Posgrado, UNAM and Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Support N° 158345).

LITERATURE CITED

- BENÍTEZ DE ROJAS, C. E. AND W. G. D'ARCY 1998. The genera *Cestrum* and *Sessea* (Solanaceae: Cestreae) in Venezuela. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 85: 273–351.
- FRANCEY, P. 1935. Monographie du genre *Cestrum* L. *Candollea* 6: 46–398.
- GARCÍA, E. AND COMISIÓN NACIONAL PARA EL CONOCIMIENTO Y USO DE LA BIODIVERSIDAD (CONABIO). 1998. Climas (Clasificación de Köppen, modificado por García). Escala 1:1 000 000. México.

MONTERO-CASTRO, J. C., A. DELGADO-SALINAS, E. DE LUNA and L. E. EGUIARTE

2006. Phylogenetic analysis of *Cestrum* section *Habrothamnus* (Solanaceae) based on plastid and nuclear DNA sequences. *Systematic Botany* 31(4): 00-00. Aceptada.

NEE, M. 2001. An overview of *Cestrum*. pp. 109--136 in: R. G. van de Berg, G. W. M.

Barendse, G. M. van der Weerden, & C. Mariani (eds.), *Solanaceae V: Advances in Taxonomy and Utilization*. Nijmegen University Press. The Netherlands.

VIDAL-ZEPEDA, R. 1990. Precipitación media anual en "Precipitación", IV.4.6. Atlas Nacional de México. Vol II. Escala 1: 4 00 000. Instituto de Geografía, UNAM. México.

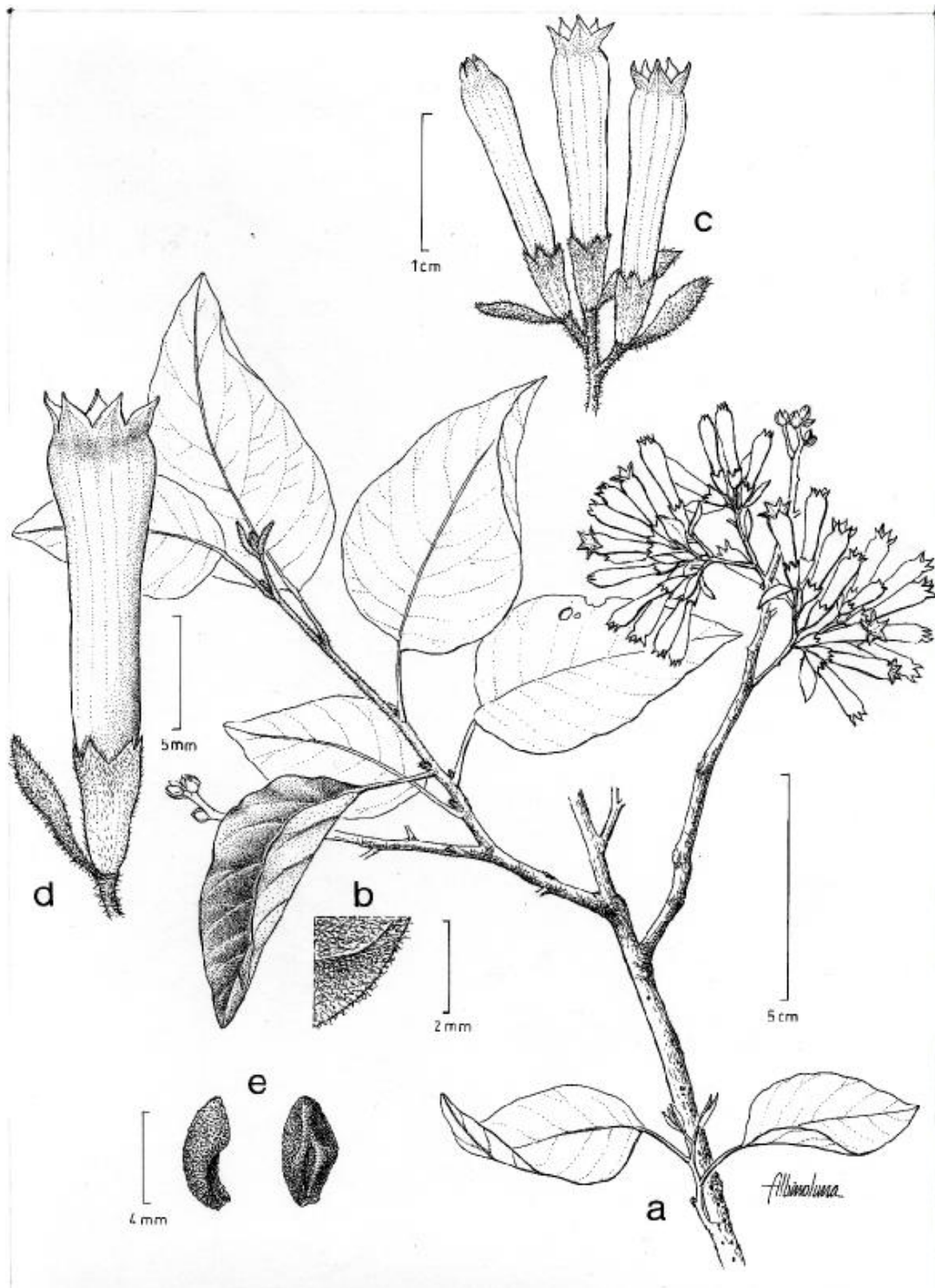


Figure 1. *Cestrum sotonunezii*: -a. Fertile branch. -b. Crumpled hairs on leaves. -c. Detail of inflorescence. -d. Individual flower. -e. Seed (*J.C. Soto-Nuñez 12678*). Illustration by Albino Luna.

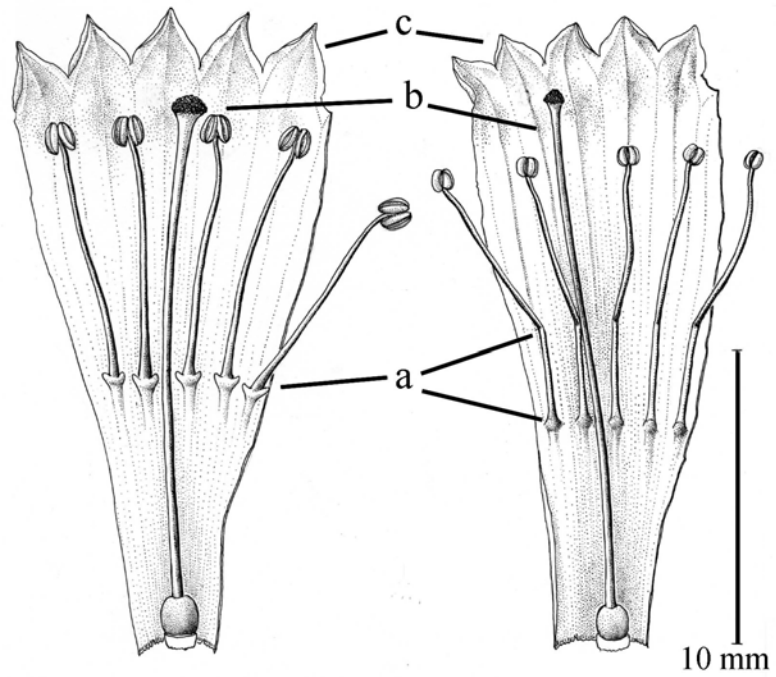


Figure 2. Comparison of characteristic that differ to *Cestrum sotonunezii* (to the left) of *C. flavescens* (to the right) –a. Stamen bases fused to corolla and position of filament bulge. –b. Proportion between stamens and stigma. –c. Size of corolla lobes. Illustration by Albino Luna.

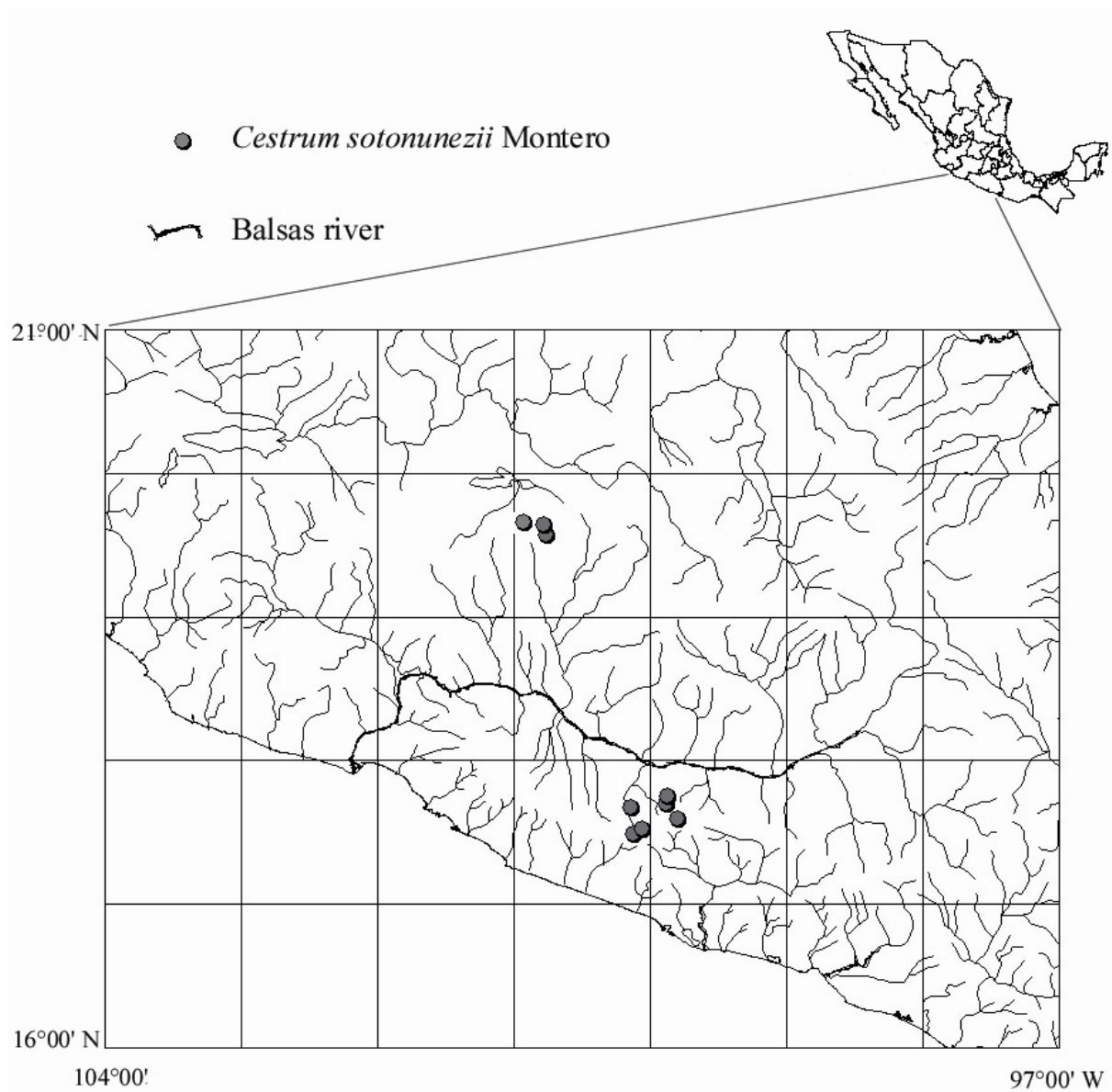


Figure 3. Distribution of *Cestrum sotonunezii*, based on specimens cited in this protologue. Its disjunct distribution occurs on both sides of the basin of Balsas River.