



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

# POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

DIVERSIFICACIÓN DE PACHYCEREEAE  
(CACTACEAE, CARYOPHYLLALES,  
EUDICOTYLODONEAE) EN RELACIÓN AL  
SÍNDROME DE POLINIZACIÓN

# T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
(SISTEMÁTICA)**

P R E S E N T A:

JOSÉ ANTONIO BARBA MONTOYA

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: Dra. Susana Magallón Puebla

COMITÉ TUTOR: Dr. Alberto Búrquez Montijo

Dr. Salvador Arias Montes

MÉXICO, D.F.

ENERO, 2012



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

**Dr. Isidro Ávila Martínez**  
Director General de Administración Escolar, UNAM

**Presente**

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 1° de junio de 2011, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (SISTEMÁTICA)** del alumno **BARBA MONTOYA JOSE ANTONIO** con número de cuenta **300502651** con la tesis titulada **"Diversificación de Pachycereeae (Cactaceae, Caryophyllales, Eudicotyledoneae) en relación al síndrome de polinización"**, realizada bajo la dirección de la **DRA. SUSANA AURORA MAGALLON PUEBLA**:

Presidente: DR. HÉCTOR MANUEL HERNÁNDEZ MACÍAS  
Vocal: DR. JUAN BIBIANO MORALES MALACARA  
Secretario: DR. LUIS ENRIQUE EGUIARTE FRUNS  
Suplente: DR. ANGEL SALVADOR ARIAS MONTES  
Suplente: DR. ALBERTO BURQUEZ MONTUJO

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"**  
Cd. Universitaria, D.F., a 9 de enero de 2012.

*Mi del Coro Arizmendí*  
**DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA**  
**COORDINADORA DEL PROGRAMA**

c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Posgrado en en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional autónoma de México por el apoyo brindado para la realización de este trabajo y de mis estudios de maestría, durante los cuales conté con una beca del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)

Parte de este trabajo se financió con fondos del proyecto de investigación PAPIIT-UNAM 202310 “Estudio Evolutivo de importantes diversificaciones vegetales mexicanas: Fouquieriaceae (Ericales); Bombacoideae (Malvaceae, Malvales); y Cactaceae, Pachycereae (Cactaceae, Caryophyllales).

A los miembros del Comité Tutorial la Dra. Susana Magallón, el Dr. Salvador Arias y al Dr. Aberto Búrquez Montijo por todo su apoyo y orientación

## **AGRADECIMIENTOS PERSONALES**

A la Dra. Susana Magallón, por la dirección de este trabajo, su asesoría, por su gran apoyo y confianza.

A todos los integrantes del jurado, al Dr. Salvador Arias, al Dr. Aberto Búrquez Montijo, al Dr. Luis Eguiarte Fruns, al Dr. Héctor Hernández y al Dr. Juan Morales Malacara por sus excelentes comentarios y sugerencias que hicieron de éste, un mejor trabajo.

A los integrantes del laboratorio B-123 del Instituto de Biología UNAM, a Violeta Patiño, Tania Hernández y a Arturo de Nova por su gran ayuda en los análisis y por su gran asesoría en las técnicas moleculares que desarrollé para mi tesis, a Roberto Trejo por facilitarme los datos moleculares de Phyllostomidae de su tesis de maestría en proceso, a Enriquena Bustamante por el apoyo y las asesorías que me brindó en la estancia académica que realicé en el Instituto de Ecología en Hermosillo, Sonora y al Dr. Rafael Puente por el apoyo que me brindó en la estancia en el Desert Botanical Garden en Phoenix, Arizona.

A quienes hicieron y hacen posibles los laboratorios de Biología Molecular en donde desarrollé todo el trabajo molecular de mi tesis.

Al Instituto de Biología, UNAM por permitirme realizar mi tesis y proporcionarme el apoyo necesario.

**A MIS PADRES Y A MI HERMANA,  
A CECI,  
A TODOS LOS QUE HAN DEMOSTRADO  
SU APOYO, Y SU AMISTAD SINCERA**

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	10
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	12
I.I Pachycereae- centrales	16
I.II Polinización	20
I.III Tasas de diversificación.	25
<b>II. OBJETIVOS</b>	28
<b>III. HIPÓTESIS</b>	28
<b>IV. JUSTIFICACIÓN</b>	29
<b>V. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	30
V.I Muestreo y materiales utilizados	30
V.II Extracción de DNA	31
V.III Amplificación de los marcadores	32
V.IV Secuenciación de los marcadores	33
V.V Edición y alineación de secuencias de DNA	33
V.VI Los marcadores moleculares	33
V.VII Selección de los modelos de sustitución molecular	35
V.VIII Estimación filogenética	36
V.IX Estimación del tiempo de origen y diversificación de los linajes de Pachycereae-centrales	37
V.X Estimación de tasas de diversificación de Pachycereae- centrales y linajes dentro del grupo	38
V.XI Medición de correlación entre mecanismo de polinización y tasas de sustitución	40
V.XII Correlación entre los tiempos de origen de Pachycereae- centrales y los de los murciélagos nectarívoros (Glossophaginae)	42
<b>VI. RESULTADOS</b>	43
VI.I Secuenciación de los marcadores	43

VI.II Selección del modelo de sustitución molecular	45
VI.III Estimación filogenética de Pachycereae-centrales	45
VI.IV Tiempo de origen y diversificación de los linajes de Pachycereae-centrales	49
VI.V Tasas de diversificación de todo Pachycereae y linajes dentro del grupo	52
VI.VI Medición de correlación entre mecanismo de polinización y tasas de diversificación	54
VI.VII Correlación entre los tiempos de origen de Pachycereae- centrales y los murciélagos polinizadores (Glossophagine)	56
<b>VII. DISCUSIÓN</b>	60
VII.I Muestreo taxonómico	60
VII.II Reconstrucción e interpretación de la filogenia de Pachycereae-centrales	61
VII.III Estimación de las edades en la filogenia de Pachycereae- centrales	64
VII.IV Análisis de las tasas de diversificación de Pachycereae- centrales	66
VII.V Correlación entre mecanismos de polinización y tasas de diversificación	69
VII.VI Correlación entre murciélagos nectarívoros y Pachycereae- centrales	70
<b>VIII. CONCLUSIONES</b>	73
<b>IX. REFERENCIAS</b>	75
<b>X. ANEXOS</b>	88





***Cephalocereus columnar-trajani***  
Puebla, México  
Foto: José Antonio Barba Montoya

## RESUMEN

México es un país con una alta diversidad biológica. Inclusive es considerado uno de los 11 países megadiversos, incluyendo en su territorio dos de los “hotspots” de diversidad biológica mundial. En este trabajo se exploran las causas evolutivas de la alta riqueza de las plantas con flor (angiospermas) en México, utilizando como modelo a las cactáceas columnares mexicanas del grupo Pachycereeae (Cactoideae) y sus relaciones con los polinizadores. Pachycereeae es un grupo de plantas emblemático de las zonas semi-áridas, incluye formas representativas como el saguaro (*Carnegiea gigantea*) y el viejito (*Cephalocereus senilis*). En particular se busca entender el papel del tipo de polinizador como agente causal de la gran diversidad de Pachycereeae. La diversificación de Pachycereeae fue reconstruida para evaluar si el síndrome de polinización ha sido un factor promotor de la diversificación del grupo. Utilizando una filogenia casi a nivel de especies de Pachycereeae, basada en una matriz de datos que contuvo 119 especies y las secuencias de marcadores de cloroplasto *rpL16* y *trnL-trnF*, se estimaron los tiempos de divergencia. Se evaluó si la diversificación es homogénea entre las ramas de la filogenia para posteriormente evaluar si las ramas en la filogenia en las que se detectó incremento en la tasa de diversificación corresponden a grupos con tipos particulares de polinizadores. Los resultados sugieren una asociación débil entre la diversificación de Pachycereeae y la polinización por murciélagos, y señalan la posibilidad de que diferentes factores bióticos y abióticos por ejemplo, aridificación, asociación con otros polinizadores y desarrollo de cierta forma de crecimiento hayan ejercido un efecto combinado que determinó la diversificación del grupo.

## ABSTRACT

Mexico is a country with a high biological diversity. It is considered one of the 11 megadiverse countries, including in its territory two World biological biodiversity “hotspots”. In this work the evolutionary causes of the high richness in flower plants (angiosperms) in Mexico were explored, using as a model the columnar cacti from the Group Pachycereeae (Cactoideae) and their relation with pollinators. Pachycereeae is an emblematic group of plants from arid zones, which includes representative forms such as the saguaro (*Carnegiea gigantea*) and the Old Man (*Cephalocereus senilis*). Particularly, this study seeks to understand the roll of the type of pollinator as a causal agent of the high diversity of Pachycereeae. The diversification of Pachycereeae was reconstructed to evaluate if the pollination syndrome has been a promoter factor for the group diversification. Using a species level phylogeny, based on a data matrix that contains 119 species and the sequences from chloroplast markers *rpL16* and *trnL-trnF*, the divergence times were estimated. Diversification homogeneity between branches of the phylogeny was evaluated, to evaluate later if the branches of the phylogeny with an increased rate of diversification belong to groups with particular types of pollinators. The results suggest a weak association between the Pachycereeae diversification and the bat pollination, but rather point to the possibility that different biotic factors and abiotic (like aridification, association with other type of pollinators and development of some shapes of growth) exert a mixed effect that determines the group diversification.

# I. INTRODUCCIÓN

México es un país con una diversidad biológica muy alta, inclusive está considerado dentro de los 11 países megadiversos, y forma parte de al menos dos de los “hotspots” de diversidad biológica mundial debido al número de especies endémicas que contiene y el grado de amenaza a su existencia (Myers et al., 2000). La diversidad vegetal de México es una de las más altas del mundo, y esto está ampliamente documentado ya que aunque no sabemos el número total de taxa de angiospermas mexicanas está calculado entre 22,351 y 26,500 especies (Villaseñor, 2003). Esto en parte se debe a su peculiar ubicación geográfica, lo accidentado de su geografía y la conjunción, en gran parte del territorio, de dos reinos biogeográficos: el Neártico y el Neotropical, además de que sus costas están bañadas por los dos océanos más extensos de la Tierra.

El término biodiversidad se refiere al intervalo de variación o diferencias que exhiben los organismos y su ambiente (Barbier, 1997). Esta tiene como componentes la diversidad de especies, la diversidad filogenética y la diversidad funcional (Swenson, 2011) (Figura 1).

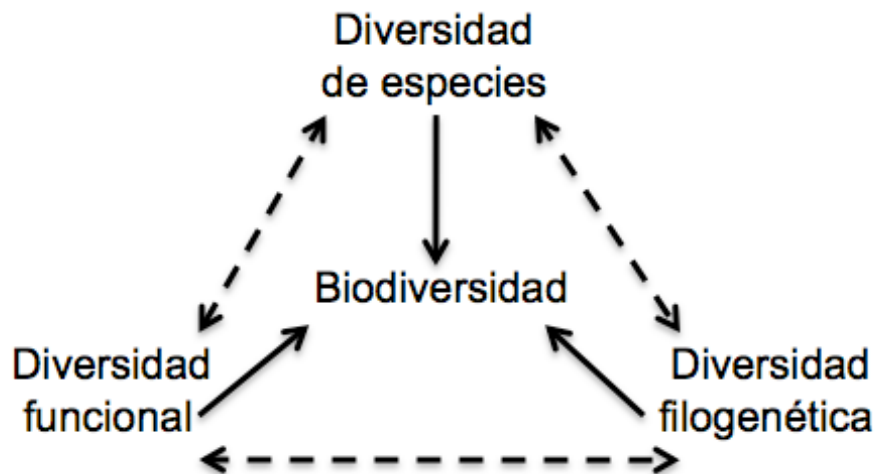


Figura1. El triángulo representa los tres componentes principales de la biodiversidad (Imagen modificada a partir de Swenson, 2011)

Las especies vegetales muestran una gran complejidad en cuanto a estrategias de sobrevivencia probablemente como resultado de la adaptación a la gran variedad de

factores físicos, bioquímicos, genéticos, fisiológicos y ambientales que experimentan (Wright y Gaut, 2005). Al mismo tiempo, los atributos de cada individuo contribuyen a cada uno de los niveles biológicos temporales y espaciales de la biodiversidad, dando lugar a una gran variabilidad de interacciones entre especies (Flores-Abreu, 2007). Como resultado de lo anterior y de los distintos tipos de ambientes que conforman el país, México presenta un gran número de especies y de taxa endémicos (Barba-Montoya, 2009). Sin embargo aunque éstos factores físicos y éstos atributos ecológicos tienen un papel importante en la explicación de la alta biodiversidad de México, no generan por sí mismos la riqueza de especies. La riqueza de especies es el resultado de procesos que ocurren en los linajes biológicos es, específicamente, la diversificación filogenética de los linajes orgánicos. Por esta razón es necesario enfocar el estudio de la biodiversidad integrando las causas de la diversificación evolutiva de los linajes (procesos orgánicos-filogenéticos), con los contextos físicos y ecológicos en los que se lleva a cabo, o que fomentan, tal diversificación (Magallón, 2009).

En este trabajo se exploran las causas evolutivas de la alta riqueza de las plantas con flores (angiospermas) en México utilizando como modelo un linaje de plantas y sus relaciones con los polinizadores. En particular se busca entender el papel del tipo de polinizadores como agentes causales de la gran diversidad de un linaje de cactáceas columnares mexicanas al que denominamos Pachycereeae-centrales.

Diferentes estudios moleculares y morfológicos (Gibson y Horak, 1978; Nyffeler, 2002; Arias et al., 2005; Bárcenas et al., 2011; Hernández-Hernández et al., 2011) muestran que las cactáceas mexicanas de hábito columnar y arbóreo forman parte del clado Echinocereae *sensu* Bárcenas et al. (2011) (Figura 2) y se agrupan en dos clados monofiléticos hermanos que son congruentes con las subtribus Pachycereinae y Stenocereinae *sensu* Gibson y Horak (1978). Este clado ha sido denominado “Pachycereeae-centrales” y en éste basaremos este estudio, junto con el género *Echinocereus*, debido a que está reportado como grupo hermano de la subtribu Stenocereinae (Arias et al., 2005 Figura 3).

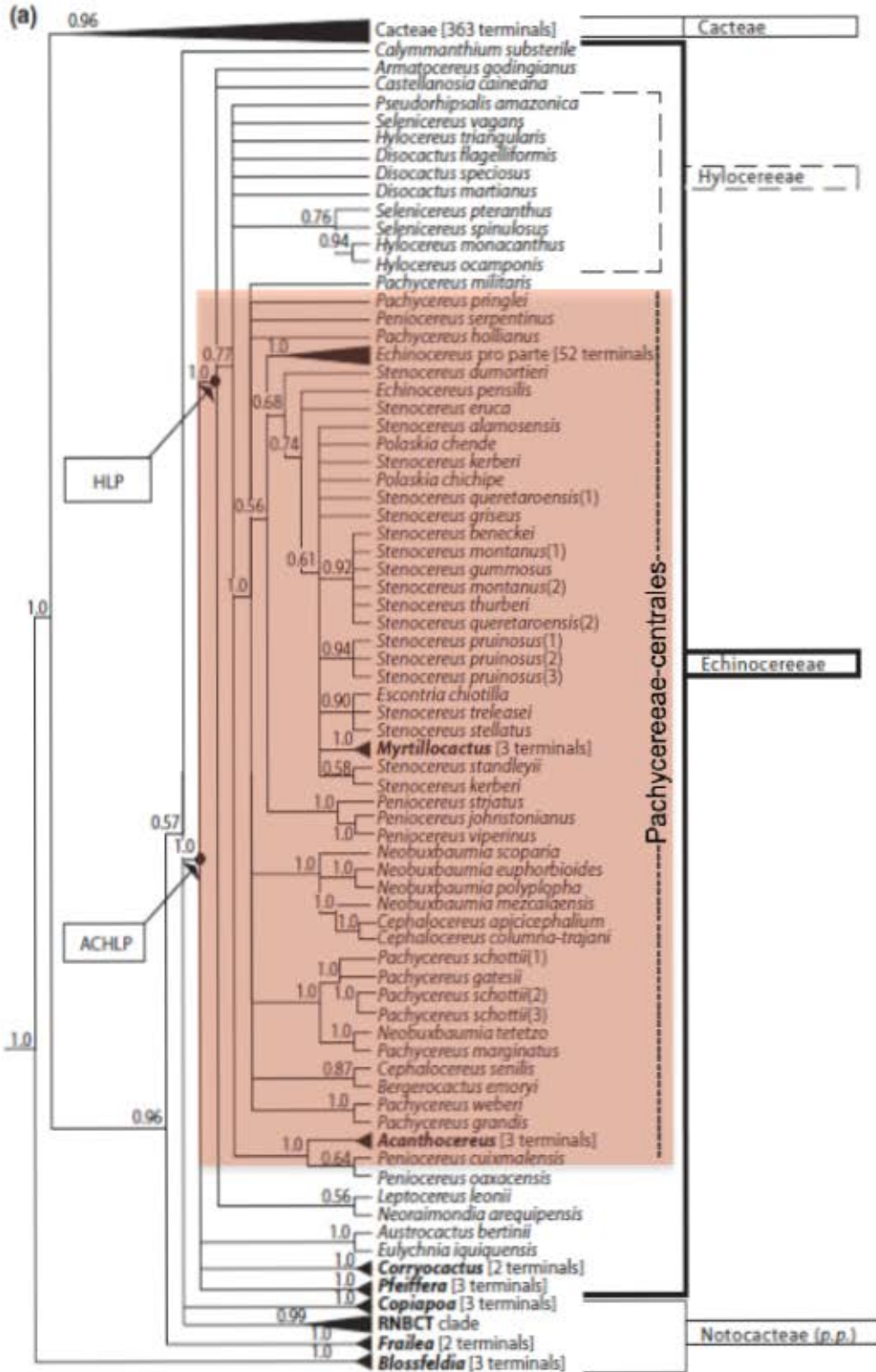


Figura 2. Árbol Bayesiano de regla de mayoría de la subfamilia Cactoideae (Cactaceae) basado en secuencias del marcador de cloroplasto *trnK-matK*. El recuadro en color rojo representa el clado denominado Pachycereeae-centrales. El clado HLP sensu Nyffeler (2002) incluye a los clados Hylocereeae, Leptocereeae y Pachycereeae; y el clado ACHLP sensu Nyffeler (2002) incluye incluye 4 géneros más: *Austrocactus*, *Eulychnia*, *Pfeiffera* y *Corryocactus*. Imagen modificada a partir de Bárcenas et al. (2011).

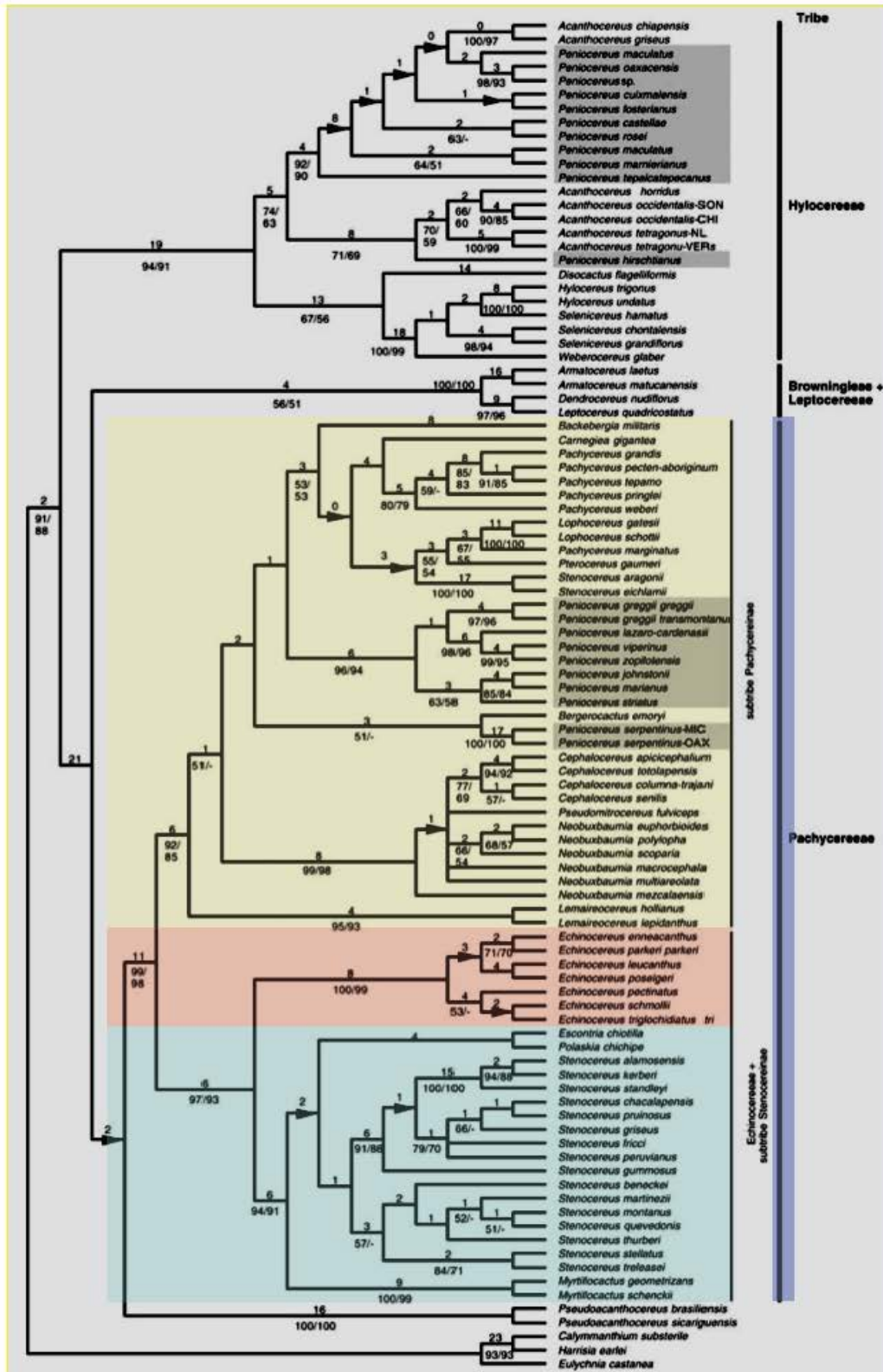


Figura 3. Uno de los 471 árboles igualmente parsimoniosos del análisis cladista combinando del intrón trnL, el espaciador trnL -F y rpL16 de Pachycerinae. El recuadro azul indica la subtribu Stenocerinae, el rojo el género *Echinocereus* y el amarillo la subtribu Pachycerinae. Imagen modificada a partir de Arias et al. (2005).

En este estudio proponemos a las Pachycereeae-centrales como modelo de estudio para investigar el impacto de los diferentes síndromes de polinización sobre las tasas de diversificación. La adaptación al tipo de polinizador se propone como un atributo que facilita la diversificación elevada del grupo. Por ello, pondremos a prueba la hipótesis de que el cambio de las tasas de diversificación entre diferentes grupos dentro de Pachycereeae-centrales dependiendo del síndrome de polinización, contrastándola con la hipótesis nula de que la interacción con polinizadores no conduce a cambios en la tasas de diversificación en este clado. Planteamos la cuantificación de la existencia de cambios en la diversificación dependiendo del tipo de polinizador. Paralelamente al estudio de diversificación en Pachycereeae-centrales, y con la finalidad de evaluar la existencia de una asociación entre Pachycereeae-centrales y los murciélagos polinizadores de la subfamilia Glossophaginae (Phyllostomidae), se investigará la asociación entre los tiempos de diversificación de ambos.

## I.I Pachycereeae-centrales

### A. Diversidad de Pachycereeae-centrales en México

La familia Cactaceae está constituida por más de 1450 especies pertenecientes a 127 géneros. Su riqueza de especies se concentra principalmente en México (Hernández-Hernández et al., 2011). Según datos de Dávila-Aranda et al. (2002), en México se localizan por lo menos 850 especies de cactáceas pertenecientes a 51 géneros, lo que representa el 49% de los géneros y el 56% de las especies de la familia.

Las cactáceas tienen un registro fósil muy escaso. Esto se debe a que las características estructurales de estas plantas y a las características de los ambientes donde estas habitan, no son adecuadas para la preservación de fósiles. El fósil más antiguo de Pachycereeae-centrales de aproximadamente 43,000 años fue encontrado en Arizona y presuntamente pertenece a *Carnegia gigantea* (Van Devender, 1990).

La tribu Echinocereae *sensu* Bárcenas et al. (2011), es la segunda tribu más grande de la subfamilia Cactoideae (después de la tribu Cactaeae). Incluye 247 especies divididas en 25 géneros (Bárcenas et al., 2011). Aunque la tribu Echinocereae *sensu*



Bárcenas et al. (2011) tiene un ámbito de distribución muy amplio, ya que existen algunas especies en América Central, el Caribe y América del Sur (Anderson, 2001), la mayoría de sus especies se localizan en México (o en Megaméxico, sensu Rzedowski 1993). Dentro de las Echinocereeae *sensu* Bárcenas et al. (2011) el clado Pachycereeae-centrales está conformado por aproximadamente 132 especies pertenecientes a 12 géneros, de las cuales 124 (94%) se localizan en México (Tabla 1). El resto de las especies están distribuidas en Norteamérica, Centroamérica y el Caribe. Por esta razón, las Pachycereeae-centrales son un grupo netamente mexicano.

Un estudio sistemático molecular de la variación de *rbcL* cpDNA (Wallace, 2002), sugiere que el origen de la tribu Echinocereeae *sensu* Bárcenas et al. (2011) ocurrió en Sudamérica, debido a que el centro de origen de los clados de la subfamilia Cactoideae más cercanamente relacionados a Echinocereeae *sensu* Bárcenas et al. (2011), como Browningieae, se originaron en la parte central de América de Sur y se hipotetiza que migraron hacia el norte (Figura 4), según Wallace (2002), esta región puede ser el centro de origen de las cactáceas debido a que muchos de sus grupos plesiomórficos son endémicos de esta región. Asimismo los resultados obtenidos por Hernández-Hernández et al. (2011) sugieren que los clados más cercanamente emparentados con el clado PHB, del cual forma parte las Pachycereeae-centrales, son Sudamericanas, aunque no pertenecen a Browningieae.



Figura 4. Rutas de migración hipotética para la subfamilia Cactoideae a partir del posible centro de origen de las cactáceas en América del Sur (Wallace, 2003). (Imagen modificada a partir de Flemming 2003)

Sin embargo Bravo-Hollis (1978) plantea que el origen del ancestro común más reciente entre los miembros columnares ocupó territorios del Caribe y del norte de América del Sur. Esta interpretación deriva de la presencia en estas regiones de las especies del género *Leptocereus*, considerado como el más primitivo entre los *Cereus*. Dichos ancestros presuntamente emigraron hacia el norte, llegando hasta México, en donde se establecieron, y por las condiciones ecológicas, climáticas, edafológicas, fisiográficas y bióticas, se diversificaron dando origen a la riqueza de especies actual (Figura 4). Gibson y Nobel (1986) postularon que la radiación de Echinocereae *sensu* Bárcenas et al. (2011) ocurrió en México y que las especies con los caracteres plesiomórficos están localizadas en el sur de México, específicamente en el Valle de Tehuacán–Cuicatlán. También plantearon que los taxa más derivados radiaron de este valle en dos direcciones opuestas: hacia el norte, encontrándose actualmente hasta el Noroeste de México y Suroeste de E.U.A. y hacia el Sur, ocupando actualmente la porción meridional de Mesoamérica y las Antillas.

Entre los principales factores que probablemente han promovido la diversificación se pueden mencionar las barreras geográficas que promueven el aislamiento reproductivo, las adaptaciones relacionadas con la eficiencia de uso de agua y limitantes térmicas, y la asociación con diferentes tipos de polinizadores y dispersores (Mandujano et al., 2010).

## **B. Características morfológicas vegetativas y reproductivas de la tribu Pachycereae**

Los miembros de Pachycereae-centrales son plantas generalmente altas, ocasionalmente rastreras, y frecuentemente columnares o candelabriformes. Sus tallos no son segmentados y comúnmente tienen costillas numerosas. Las flores de Pachycereae-centrales comparten las características principales de la flor de las cactáceas (ovarios hundidos en los receptáculos, cubiertos con brácteas y aréolas), pero tienen algunos atributos propios (Bravo-Hollis, 1978; Anderson, 2001) En la mayoría de las especies de Pachycereae-centrales la flor muestra simetría radial, son sésiles y solitarias. El receptáculo es generalmente largo, de forma tubular hasta

infundibuliforme, con los entrenudos alargados, los podarios recurrentes y las escamas con areolas generalmente reducidas, más o menos lanosas y espinosas, y hasta desnudas. Presentan una cámara nectarial bien desarrollada (Figura 5).

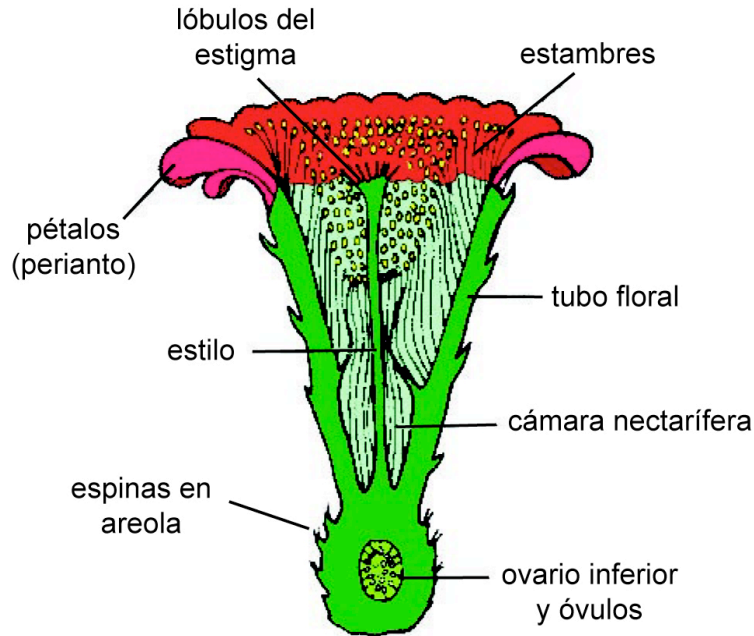


Figura 5. Corte longitudinal de una flor de *Stenocereus thurberi*  
Imagen modificada a partir de Gibson y Horak (1986)

Las flores de las cactáceas son polinizadas por animales (Mandujano et al., 2010; Bustamante y Búrquez, 2005) aunque algunas especies pueden desarrollar frutos en ausencia de visitantes florales. Mandujano et al (2010) proponen que existe una relación muy cercana entre las características de la flor y los polinizadores basándose en la longevidad de la flor, el tiempo de apertura, el color, la forma y el tipo y cantidad de néctar.

En Pachycereae-centrales las flores de algunas especies crecen en el ápice de las ramas reproductivas. Esta región de la rama (cefalio) recibe su nombre del latín (*cephalum*=cabeza) por que aparenta una cabeza y se caracterizan por presentar zonas reproductivas permanentes. Como consecuencia las plantas maduras que han florecido durante muchos años presentan un panel vertical, lanoso o espinoso, donde se localizan las flores y generalmente cesa el crecimiento vegetativo (Nobel, 2002). El pseudocefalio (del latín= cabeza falsa) también es característico de algunas especies

del clado, donde las flores se forman en zonas de reproducción temporal y no se detiene el crecimiento vegetativo.

En general los frutos de todas las cactáceas son carnosos, a veces muy espinosos y pueden ser dehiscentes o indehiscentes, abriéndose por hendiduras longitudinales, irregulares. Las semillas son de tamaño variable, de medianas a grandes. El hilo y micrópilo están fusionados y no tienen apéndices (Bravo-Hollis y Sheinvar, 1999; Anderson, 2001).

## I.II Polinización

Los síndromes de polinización son conjuntos de características florales que reflejan la interacción con un polinizador (Faegri y Van Der Pijl, 1979; Waser, et al. 1996). Sin embargo, Waser, et al. (2006) y Ollerton et al. (2009) han puesto en duda la relación estricta entre forma y función en el caso de los índormes de polinización. Los síndromes de polinización, han sido reconocidos desde hace mucho tiempo como un modelo para entender la interacción entre la selección natural y la evolución (Real, 1983). El concepto de síndrome de polinización fue propuesto por Federico Delphino en 1868. Este concepto ha sufrido modificaciones y se ha enriquecido con el paso del tiempo. Sin embargo, recientemente ha sido cuestionado, particularmente por la rigidez de la clasificación en síndromes que no considera la posibilidad de interacción de grupos de polinizadores distintos en la evolución floral, y por las consecuencias de aceptar de manera tácita que las características que actualmente observamos en las flores son el producto de la interacción con un solo grupo de polinizadores (Ollerton, et al., 2009). Aún así los síndromes de polinización representan modelos para poner a prueba muchas hipótesis que parecen ser generales para procesos ecológicos y evolutivos (Real, 1983).

Las observaciones de Darwin sobre las interacciones entre plantas y sus polinizadores llevaron al entendimiento de que las principales formas de diversificación dentro de las angiospermas ha sido por medio de la presión de selección que pueden ejercer los polinizadores a través de su eficiencia y calidad sobre una característica o grupo de características relacionadas con la reproducción de la especie (el principio del

polinizador más eficiente; Stebbins, 1970). Se han realizado estudios de polinización en cactáceas (Sahley, 1996; Valiente-Banuet et al., 1996, 1997; Nassar et al., 1997; Rojas-Sandoval y Meléndez-Akerman., 2009; Bustamante y Búrquez, 2007; Bustamante et al. 2010; Mandujano et al., 2010) que sugieren que los vectores de polinización son animales que exhiben especificidad por alguna especie de planta, pero no exclusividad.

Las interacciones coevolutivas como es el caso de los síndromes de polinización son una importante causa de la diversificación evolutiva; inclusive se ha demostrado que la competencia por polinizadores generalistas pueden promover divergencia en fenología, tiempo de antesis y aislamiento reproductivo dentro de plantas polinizadas por animales (Yoder y Nuismer, 2010; Bustamante et al., 2010), como es el caso de algunas cactáceas columnares mexicanas. Las interacciones que promueven diversificación fenotípica, como el caso de los síndromes de polinización, pueden también proveer mayor variación que por el proceso de especiación alopátrica, este tipo de interacciones puede dar lugar a taxa descendientes más diversos (Futuyma, 1987; Futuyma y Stalkin, 1983). De hecho la polinización es un factor que aumenta la diversificación debido a que está muy relacionada con la ecozona y la extensión geográfica de las especies (Vamosi y Vamosi, 2011).

Las características florales son consideradas generalmente como atributos adaptativos que han evolucionado como resultado de presiones selectivas impuestas por los polinizadores (Silva-Montellano y Eguiarte, 2003). En el caso de Pachycereeae-centrales las flores se dividen en cuatro tipos básicos según su síndrome de polinización: flores polinizadas por abejas (color amarillo y púrpura), por mariposas nocturnas (color blanco), por colibríes (color rojo) y por murciélagos (color crema o blanco); (Anderson, 2001; Nobel, 2002). Asimismo se consideran otras características como morfología, tiempo de antesis, periodicidad de producción de néctar, calidad de néctar, y aroma.

La interacción planta-polinizador es un aspecto poco estudiado en las cactáceas. Una forma de modelar éstas interacciones es con los llamados síndromes de polinización propuestos por Delphino en 1868 y formalizados en su forma actual por Faegri y Van Der Pijl (1979), en los cuales grupos distintos de plantas convergen en un cierto tipo de flor y de recompensa adecuados a un tipo particular de polinizador (Real,

1983). Por otra parte, hay grupos de animales que dependen en mayor o menor grado de las flores para obtener su alimento, y que también presentan una convergencia adecuada a la forma de la flor para la utilización de ésta como recurso. Como resultado de dicha interacción, las flores pueden tener diferentes longitudes, formas y colores que atraen a tipos específicos de polinizadores (Bustamante y Búrquez, 2005), existiendo una fuerte relación (por coevolución difusa) entre la evolución de las características florales y la adaptación de los polinizadores. En general, aunque no en todos los casos, los síndromes de polinización de estas cactáceas corresponden a sus polinizadores efectivos actuales (Fleming et al., 2001; Bustamante y Búrquez, 2005).

### **A. Polinización en Pachycereeae-centrales**

Los visitantes de las flores de las especies de Pachycereeae-centrales incluyen murciélagos, colibríes, aves percheras, como carpinteros y palomas, avispas, polillas y esfíngidos (Anexo 3). La mayoría de los datos en dicha tabla están referenciados en la literatura y aquellos que no lo están proceden de observaciones personales y predicciones, basados en el tipo de flor y el horario de antesis.

La variedad de los tipos florales en Pachycereeae-centrales es un ejemplo de diversificación morfológica de las especies pertenecientes a este clado. Esta diversidad de formas ha sido considerada como una consecuencia de los diferentes tipos de polinizadores (Nobel, 1990). Un estudio exhaustivo de la evolución de la forma de las flores y del desarrollo reproductivo de estas en el clado, junto con una hipótesis filogenética robusta, podría ser la clave para entender los procesos que subyacen la diversificación de las cactáceas columnares mexicanas.

Las flores quiropterófilas (polinizadas por murciélagos) son muy comunes en las cactáceas columnares. Con base en la morfología floral y en la antesis nocturna, se estima que 42 especies de cactáceas columnares de Pachycereeae-centrales, de un total de 61 especies, son polinizadas por murciélagos (Valiente-Banuet et al., 1996). Son flores robustas, de gran tamaño, con forma de embudo, y de color crema o blanco. Sus polinizadores son atraídos por la forma, el color y aroma de las flores. Estas producen como recompensa por los servicios de polinización grandes cantidades de

polen y néctar, principalmente en el crepúsculo y la noche (Faegri y Van Der Pijl, 1979; Valiente-Banuet, 1996; Bustamante y Búrquez, 2005; Mandujano, 2010). Las flores con adaptaciones de polinización por el grupo de los esfíngidos son generalmente muy largas, tubulares, de color blanco, rosa pálido o amarillo pálido, con aromas intensos; a veces son zigomórficas y poseen una gran cámara nectarífera (Bustamante y Búrquez, 2005). Algunas especies como Esta relación puede ser muy estrecha, como es el caso del *Pachycereus schottii* que es exclusivamente polinizada por una polilla (*Upigia virescens*) (Holland y DeAngelis, 2002). También encontramos representadas en Pachycereae-centrales a las flores polinizadas por colibríes, son largas, a veces zigomórficas, de color rojo a rosado con un estrecho tubo floral y de anthesis diurna. (Bustamante y Búrquez, 2005). En Pachycereae-centrales existen las flores polinizadas por abejas. Este síndrome se presenta en los géneros *Echinocereus*, *Escontria*, *Myrtillocactus* y *Polaskia* (Bustamante y Búrquez, 2005). También es muy frecuente la polinización mediada por polillas y esfíngidos en especies de cactus columnares (Mandujano et al., 2010),.

Se ha hipotetizado que las cactáceas columnares muestran una distribución geográfica relacionada con la especialización del tipo de polinizador que sigue un gradiente Sur-Norte. Algunas Cactáceas que habitan en desiertos templados extratropicales muestran una actividad de polinizador impredecible, por lo tanto, tienen una biología floral no específica y un grupo de polinizadores que ), mientras que otras que habitan en los desiertos tropicales muestran una actividad de polinizador más predecible y por consiguiente dependen mas estrechamente de la polinización por murciélagos (Valiente-Banuet et al.,1997). Sin embargo, Bustamante y Búrquez (2010) mostraron que las poblaciones mas septentrionales de *Stenocereus thurberi* mostraban una relación más estrecha y constante con los murciélagos que las poblaciones meridionales. Los murciélagos son importantes polinizadores de las cactáceas columnares (Fleming et al., 1997; 1998; Howell, 1974; Valiente-Banuet, et al., 1996; Mandujano et al., 2010), y también son importantes dispersores de sus semillas (Sosa y Soriano, 1991; Valiente-Banuet, et al., 1996) estos estudios proveen un contexto ecológico para determinar la gran importancia de las interacciones bióticas en la dinámica de las poblaciones de las cactáceas columnares (Soriano y Ruiz, 2002).

Adicionalmente, todos los murciélagos que visitan a las cactáceas presentan caracteres morfológicos que les permiten extraer el néctar de las flores. Además de las habilidades de vuelo acrobático de gran precisión, presentan orejas pequeñas, hocico largo y lengua larga. (Arita y Humphrey, 1988; Arita y Ceballos, 1997)

### **B. Murciélagos polinizadores: Glossophaginae (Phyllostomidae, Chiroptera, Mammalia)**

Los murciélagos polinizadores de las cactáceas columnares forman parte de la subfamilia Glossophaginae que pertenece a la familia Phyllostomidae. Los integrantes de esta familia son conocidos como los murciélagos del Nuevo Mundo y como atributo distintivo tienen una hoja nasal. Los murciélagos filostómidos representan la segunda familia más grande de murciélagos, incluyendo más de 150 especies en 49 géneros. Son Neotropicales y tienen una distribución del sur de Arizona y las Antillas hasta el norte de Argentina. Varían en tamaño de 40 mm a 130 mm (Wetterer et al., 2000).

La gran diversidad de las especializaciones alimenticias de los murciélagos filostómidos es única entre los mamíferos. Esta familia incluye especies altamente especializadas en alimentación por insectos, sangre, vertebrados pequeños, frutas, néctar y polen (McKenna y Bell, 1997). La adaptación a la polinización por parte de los murciélagos ha evolucionado independientemente en varias ocasiones a partir de diferentes condiciones ancestrales (Fleming et al., 2009). Esta diversificación de especies está asociada a adaptaciones morfológicas, etológicas y fisiológicas. Un ejemplo notable es la especialización a la nectarivoría. Estos murciélagos tienen la habilidad de suspenderse momentáneamente frente a una flor, mientras toman néctar con sus largas lenguas llenas de papílas en forma de cepillo para la ingestión de néctar que es digerido y metabolizado rápidamente y cuando menos *Leptonycteris* obtiene todas sus proteínas del polen (Dtazmann et al. 2010). Los murciélagos nectarívoros habitan principalmente las zonas tropicales y subtropicales (Nicholson, et al., 2007).

La polinización por murciélagos predomina en pocas familias, pero es relativamente común en ciertas subfamilias y tribus de angiospermas (Fleming et al., 2009). Aproximadamente 67 familias y 250 géneros de angiospermas son polinizadas



por murciélagos (Fleming et al., 2009). Las especies de Pachycereae-centrales son visitadas al menos ocasionalmente por 18 especies de murciélagos cuya área de distribución es muy similar a la de Pachycereae-centrales.

La subfamilia Glossophaginae, incluye los géneros *Glossophaga*, *Leptonycteris*, *Monophyllus*, *Brachyphylla*, *Erophylla*, *Phyllonycteris*, *Hylonycteris*, *Choeronycteris* y *Anoura* (Baker et al., 1989, Datzmann et al., 2010), de los cuales únicamente *Glossophaga*, *Leptonycteris*, *Brachyphylla*, *Choeronycteris* y *Anoura* visitan a las cactáceas columnares (Fleming, 2002; Mandujano et al., 2010). Son pequeños y tienen la lengua muy larga; se mantienen en el aire volando mientras se alimentan (Fleming et al., 2009), por lo que necesitan espacio para el movimiento de sus alas justo en frente de las flores (Nicolson et al., 2007). La polinización por murciélagos difiere de la polinización por aves o insectos en la gran cantidad de polen que pueden transportar en su cuerpo y depositar un gran número de granos de polen en los estigmas de las flores que visitan, también difiere en que pueden transportar el polen por grandes distancias (Fleming et al., 2009).

En el caso particular de la subfamilia Glossophaginae (murciélagos polinizadores de las cactáceas mexicanas) Datzmann et al. (2010) determinaron su origen en el Oligoceno Medio a Tardío, hace aproximadamente 17-25 Ma, asimismo Abreu-Flores (2007) obtuvo una fecha de origen de 22.8 Ma.. Estas fechas son entonces una cronología que puede compararse con la cronología de eventos de diversificación de las cactáceas de interés en esta tesis.

### I.III Tasas de diversificación

Los patrones de biodiversidad son el resultado de la especiación y extinción en los linajes (Swenson, 2011). La tasa de diversificación ( $r$ ) se define como el cambio en el número de especies en el tiempo evolutivo y corresponde a la diferencia entre la tasa de especiación ( $\lambda$ ) y la tasa de extinción ( $\mu$ ) ( $r = \lambda - \mu$ ). La tasa de diversificación explica fundamentalmente la evolución de la diversidad biológica (Stanley, 1997). Cuando la evidencia fósil es pobre o inexistente, como en el caso de las cactáceas, las tasas de diversificación se pueden estimar tomando en cuenta la diversidad de especies

vivientes y su edad, (e. g., Magallón y Sanderson, 2001). En este caso las edades pueden ser obtenidas de una filogenia realizada con base en datos moleculares, ya que no solo describen las relaciones jerárquicas entre los taxa, sino que también incluyen una dimensión temporal proporcionada por el reloj molecular, el cual establece que las diferencias genéticas entre pares de secuencias se acumulan proporcionalmente al evento de divergencia. El concepto de reloj molecular ha jugado un papel importante en la biología evolutiva desde su introducción en 1962 por Zuckerkandl y Paulling. A pesar de que el concepto comenzó proponiendo que existía un reloj molecular estricto y universal, actualmente se reconoce que las sustituciones nucleotídicas o de aminoácidos no se acumulan de manera constante y universal, inclusive entre linajes cercanamente emparentados (Wertheim et al., 2010; Gaut et al., 2011). Los relojes moleculares relajados fueron introducidos por Sanderson (1997, 2003, 2004) y por Thorne et al. (1998) para estimar el tiempo del ancestro común más reciente (MRCA) entre un grupo de taxa. Sus modelos asumen que las secuencias evolucionan con un componente temporal inherente, aunque este reloj no marca el tiempo uniformemente en la filogenia completa o a través del tiempo (Wertheim, et al., 2010). Existen factores que sesgan los estimados de tiempos de divergencia, como el muestreo taxonómico, el cual tiene una influencia significativa (Sanderson y Doyle, 2001) y los genes con diferentes tasas relativas. Por estas razones las tasas de evolución molecular son heterogéneas entre linajes, entre genes y a través del tiempo (Gaut et al., 2011), y pueden resultar en estimaciones sesgadas (Sanderson y Doyle, 2001).

También es importante que cuando se incluye más de un marcador molecular se analice de manera independiente cada partición de datos, con el fin de estimar el modelo de sustitución al que cada uno mejor se ajusta, ya que las diferentes particiones usualmente se explican significativamente mejor por modelos y parámetros individuales que por uno solo optimizado para el total de los datos (Sanderson y Doyle, 2001).

Una vez que la filogenia es obtenida, es necesario utilizar una calibración temporal que consiste en asignar una edad absoluta a un nodo con el fin de convertir los tiempos relativos de divergencia en estimaciones de edades absolutas. La edad asignada debe ser lo más cercano posible al tiempo real del origen del linaje. Las calibraciones pueden obtenerse del registro fósil, de información geológica o de edades

provenientes de análisis moleculares independientes (aunque esto puede ser problemático). Dichos nodos pueden ser registrados con edades mínimas y máximas, y con esto facilitar la estimación de tiempos mediante la imposición de límites a las posibles edades de los nodos (Magallón, 2004).

Cuando los datos moleculares no se ajustan al modelo de reloj molecular, que es lo más común, es necesario implementar algún método de reloj molecular relajado para estimar edades, por ejemplo PL, MD y BEAST entre otros.

Las edades de divergencia son necesarias para estimar las tasas de diversificación taxonómica. Para ello existen varios modelos que consideran básicamente la diversidad de especies como una función del tiempo. Algunos ejemplos de estos son: el proceso de nacimiento y muerte (Birth-Death, BD), y el de nacimiento puro (pure-birth, PB) y branching process (BGW), entre otros. El modelo de BD asume que tanto la especiación ( $\lambda$ ), como la extinción ( $\mu$ ), ocurren a una tasa constante, haciendo el proceso homogéneo a través del tiempo, lo que conlleva a un incremento exponencial del incremento o decremento de la diversidad. (Magallón y Sanderson 2001), más adelante se explica con mayor detalle este modelo. Una vez que se tiene la información de las relaciones filogenéticas y las tasas de diversificación resulta una herramienta útil para evaluar hipótesis concernientes a correlaciones biológicas de diversificación. Particularmente, las variaciones observadas en las tasas de diversificación han sido atribuidas a una serie de factores que incluyen innovaciones evolutivas, reestructuración del ecosistema, cambios ambientales, asociaciones mutualistas y ocupación de diferentes áreas geográficas (Stebbins, 1970; McConway y Sims, 2004; Becerra, 2003; Flores-Abreu, 2007; Smith et al., 2007; Moore y Donoghue 2007; Gómez, 2010; Yoder y Nuismer, 2010; Vamosi y Vamosi, 2011; Swenson, 2011), siendo las asociaciones mutualistas las de particular interés en este trabajo.

## II. OBJETIVOS

- Estimar las relaciones filogenéticas entre las especies de Pachycereae-centrales
- Estimar tiempo de origen de las especies pertenecientes al clado Pachycereae-centrales.
- Estimar la tasa de diversificación filogenética de este clado, así como de diferentes linajes en su interior.
- Obtener información sobre el síndrome de polinización de cada especie, y realizar una reconstrucción de estados ancestrales, para identificar posibles ramas filogenéticas donde ocurrieron cambios en el sistema de polinización.
- Evaluar en cuáles ramas del árbol filogenético de Pachycereae-centrales hay cambios significativos en las tasas de diversificación y ver si corresponden con cambios de polinizador.
- Comparar los tiempos de origen de las especies de Pachycereae-centrales con los de sus murciélagos polinizadores de la subfamilia Glossogphaginae (Phyllostomidae, Chiroptera, Mammalia) en busca de concordancia.

## III. HIPÓTESIS

- Existe una correlación entre el síndrome de polinización y la tasa de diversificación.
- La tasa de diversificación no es constante al interior de Pachycereae-centrales.
- Parte de la diversidad de este grupo está dada por una coevolución (simple o difusa) con murciélagos polinizadores de la subfamilia Glossogphaginae (Phyllostomidae, Chiroptera, Mammalia).

## IV. JUSTIFICACIÓN

Una de las claves para el entendimiento de la evolución de la biodiversidad radica en la variación de la tasa de diversificación, misma que se ha demostrado puede verse afectada por diversos factores bióticos y abióticos como las asociaciones mutualistas, en este caso el síndrome de polinización (Gómez, 2010). Pachycereeae-centrales es entonces un excelente modelo para estudiar procesos de diversificación, debido a que presenta una gran variedad de síndromes de polinización.

Realizar estudios evolutivos en Pachycereeae-centrales es importante para comprender las causas de la alta riqueza de especies en México debido a que son plantas dominantes en zonas semi-áridas de México, pudiendo formar bosques de hasta 1200 individuos por hectárea (Valiente-Banuet et al., 1997). Las explicaciones evolutivas del proceso de diversificación de grupos ricos en especies en México, en este caso Pachycereeae-centrales, son una contribución substancial para comprender el fundamento evolutivo del origen y mantenimiento de la diversidad vegetal en el país. (Magallón, 2009)

Este estudio representa un enfoque concentrado en un linaje de plantas substancialmente responsables de la riqueza de especies en ciertas zonas semi-áridas de Norteamérica. El conocer su dinámica de diversificación y los factores ecológicos asociados a ella proporciona un elemento importante para entender las causas de la alta biodiversidad en México

La familia entera Cactaceae ha sido colocada en el Apéndice II de CITES (Convention of International Trade in Endangered Species of Wild Flora) como una acción de protección internacional (Hunt, 1999). Adicionalmente si consideramos la importancia económica, cultural y ecológica de las cactáceas columnares, debe ser una prioridad de investigación conocer los factores que controlan la distribución y abundancia de estas especies que son emblemáticas de las zonas semiáridas en América, especialmente por que se sabe que estas especies son muy frágiles ante un disturbio (Bustamante y Búrquez, 2005).

## V. MATERIAL Y MÉTODOS

### V.I Muestreo y materiales utilizados

El objetivo del muestreo en Pachycereeae-centrales fue incluir un muestreo de todos los géneros y casi todas las especies (84%) descritas hasta el momento (Anderson, 2001) (Tabla 1), con la finalidad de representar la diversidad morfológica, ecológica y taxonómica del grupo. Asimismo, se incluyó un grupo externo conformado por especies del grupo hermano de Pachycereeae-centrales y otros géneros de la familia Cactaceae. En el Anexo 1 se muestran todas las especies que fueron incluidas en este trabajo, incluyendo el grupo externo.

Las secuencias de los marcadores *trnL-trnF* (espaciador intergénico) y *rpL16* (intrón de la proteína ribosomal L16), ambos de cloroplasto, fueron obtenidas del GenBank (ver Tabla Anexos) así como de secuencias previamente obtenidas en nuestro laboratorio por Hernández, et al (2010) y por J. A. Barba (2009).

Para completar el muestreo realicé una estancia en el Desert Botanical Garden, Phoenix, Arizona (DGB) en donde obtuvimos muestras de tejido de 40 especies del género *Echinocereus* (Anexo 2). Posteriormente, se realizó el trabajo de secuenciación de los marcadores *rpL16* y *trnL-trnF* para cada una de estas. También se realizó trabajo de secuenciación del marcador *trnL-trnF* de algunas especies que ya habían sido colectadas anteriormente en mi tesis de Licenciatura (Anexo 1). Todas las muestras colectadas para este trabajo han sido respaldadas en el Herbario Nacional MEXU o en el DGB.

Tabla 1. Numero y proporción del total de especies del grupo Pachycereeae-centrales (Anderson, 2001) distribuidos en México e incluidos en el trabajo.

Géneros	Total de especies	Especies en México	Especies incluidas en el trabajo
<i>Bergerocactus</i>	1	1 (100%)	1 (100%)
<i>Carnegiea</i>	1	1 (100%)	1 (100%)
<i>Cephalocereus</i>	5	5 (100%)	4 (80%)
<i>Echinocereus</i>	64	59 (92.1%)	47 (73.4%)
<i>Escontria</i>	1	1 (100%)	1 (100%)
<i>Isolatocereus</i>	1	1 (100%)	1 (100%)
<i>Myrtillocactus</i>	4	3 (75%)	4 (100%)
<i>Neobuxbaumia</i>	9	9 (100%)	9 (100%)
<i>Pachycereus</i>	13	12 (92.3%)	13 (100%)
<i>Peniocereus subgen. Peniocereus</i>	7	7(100%)	7(100%)
<i>Polaskia</i>	2	2 (100%)	2 (100%)
<i>Stenocereus</i>	24	21 (87.5 %)	21 (87.5%)
<b>TOTAL</b>	<b>132</b>	<b>124 (93.9%)</b>	<b>111 (84.1%)</b>

## V.II Extracción de DNA

El DNA total de cada ejemplar vegetal fue extraído utilizando el kit de extracción DNeasy plant Mini Kit 250 (Qiagen, E.U.) para muestras de tejido de 100mg a 1g, siguiendo las modificaciones reportadas por Nyffeler (Nyffeler, 2002). Se obtuvieron alícuotas de 80 a 100  $\mu$ l. Estas fueron secadas hasta obtener un pellet de DNA y se adicionaron 50  $\mu$ l de buffer AE del mismo kit de extracción. Estas muestras se encuentran actualmente almacenadas en refrigeración a  $-20^{\circ}\text{C}$ , en el Instituto de Biología, UNAM. En la práctica fue necesario implementar modificaciones particulares a cada especie para realizar una extracción exitosa.

## V.III Amplificación de marcadores moleculares

La amplificación del DNA se realizó mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (*polymerase chain reaction, PCR*). Esta técnica permite replicar miles de veces, en el transcurrir de pocas horas pequeñas cantidades de DNA. Para lograr las amplificaciones del marcador *rpl16* se utilizaron 6 primers distintos (Tabla 2). La amplificación de algunas muestras se logró solamente con los primers *rpl16-1F* y *rpl16-3R* mientras que otras requirieron 4 primers (*rpl16-1216F*, *rpl16-957F*, *rpl16-584F*, *rpl16-584F*). Para la amplificación del marcador *trnL-trnF* se utilizaron 4 primers diseñados por Taberlet, et al. (1991). En la Tabla 3 se muestran los ciclos empleados para la amplificación de los marcadores.

Tabla 2. Secuencias de los primers utilizados para PCR y secuenciación:

<b>Primer</b>	<b>Secuencia</b>	<b>Referencia</b>
<i>rpl16-1F</i>	GCT ATG CTT AGT GTG TGA CTC GTT	Henández-Hernández (2010)
<i>rpl16-3R</i>	CTT CTA TTT GTC TAG GCG TGA TCC	Henández-Hernández. (2010)
<i>rpl16-1216F</i>	CCC AKA TTT TTC CAC CAC GAC	Asmussen (1999)
<i>rpl16-957F*</i>	CTC CTC GCG AAT GAA ACG ATT C	Asmussen (1999)
<i>rpl16-584F*</i>	TTC CGC CAT CCC ACC CAA TGA A	Asmussen (1999)
<i>rpl16-18R</i>	GCT ATG CTT AGT GTG TGA CTC	Asmussen (1999)
<i>trnL-F-C</i>	CGA AAT CGG TAG ACG CTA CG	Taberlet, et al. (1991)
<i>trnL-F-D*</i>	GGG GAT AGA GGG ACT TGA AC	Taberlet, et al. (1991)
<i>trnL-F-E*</i>	GGT TCA AGT CCC TCT ATC CC	Taberlet, et al. (1991)
<i>trnL-F-F</i>	ATT TGA ACT GGT GAC ACG AG	Taberlet, et al. (1991)

Los marcadores con \* únicamente fueron utilizados en la secuenciación.

Tabla 3. Ciclos empleados para la amplificación de los marcadores *rpl16* y *trnL-trnF*

<b>Ciclo</b>	<b><i>Rpl16-1F</i> <i>rpl16-3R</i></b>	<b><i>rpl16-1216F</i> <i>rpl16-18R</i></b>	<b><i>trnL-F-C</i> <i>trnL-F-F</i></b>
Desnaturalización inicial	94°C / 4min.	94°C / 4min.	94°C / 4min.
Número de ciclos	35	30	30
Desnaturalización	94°C / 1min	94°C / 55seg.	94°C / 55seg.
Alineamiento	63°C / 1min	61°C / 55seg.	63°C / 55seg.
Extensión	72°C / 2min	72°C / 90seg.	72°C / 90seg.
Extensión final	72°C / 7min	72°C / 7min.	72°C / 7min
Termociclador	MJ Research PTC-200 DNA Engine Cyler	Applied Biosystems 2720 Thermal Cyler	Se utilizaron los dos termocicladores.



## V.IV Secuenciación de los marcadores

Los productos de PCR fueron corridos en un gel de agarosa al 1% para verificar que la amplificación había resultado correcta. Dichos productos de PCR y alícuotas de los primers utilizados para sus reacciones de PCR fueron enviados a la Universidad de Washington (UW), donde fueron secuenciados en la High-Throughput Genomics (<http://www.cd-genomics.com/gene/sequence>).

## V.V Edición y alineación de las secuencias de DNA

Una vez obtenidas las secuencias de los fragmentos de interés se realizó la edición manual con el programa Sequencher 4.7 (1991-2007, Gene Codes Corporation). Se revisó secuencia por secuencia, evaluando la nitidez y fuerza de la señal en cada sitio. Posteriormente se procedió a hacer una búsqueda BLAST en GenBank (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) para cada secuencia, con el objetivo de saber cual de todas las secuencias contenidas en la base de datos se parece más a la nuestra. Esta búsqueda sirvió como control para evaluar si el fragmento amplificado corresponde cuando menos al grupo del organismo deseado (Barba-Montoya, 2009).

Las secuencias de los marcadores *trnL-trnF* y *rpL16* se alinearon utilizando los programas MUSCLE (Edgar, 2004) y Se-AI v2.0a11 (Rambaut, 2002). En este último y con MacClade 4.08 (Madison y Madison, 2005) se realizaron la matriz del alineamiento y una revisión manual de la alineación de las secuencias de los marcadores.

## V.VI Los marcadores moleculares

### ***rpL16***

Las secuencias del intrón *rpL16* tienen una tasa de sustitución relativamente alta y proveen información filogenética a nivel genérico e infragenérico (Zhang, 2000). El gen *rpL16* (Figura 6) pertenece al grupo de los “split genes” del cloroplasto (genes en los que la secuencia genómica está interrumpida por intrones y que realizan “splicing” o edición de intrones (Crick, 1979). Este codifica la proteína ribosomal L16. El gen *rpL16* está conformado por dos exones separados por un intrón (Durante et al., 2007) que

varía en longitud desde aproximadamente 1000 hasta 1500 pares de bases (*pb*) (Schnabel y Wendel, 1998). Este intrón se encuentra en el gen *rpl16* en la mayoría de las plantas terrestres, pero está ausente en algunas familias como Geraniaceae, Goodeniaceae y Pumbaginaceae, no presentan este intrón (Downie et al., 2000).

El uso del intrón *rpl16* es ventajoso por su fácil amplificación debido a que en un principio únicamente requiere dos primers anclados en los extremos del intrón para amplificar el intrón completo (*rpl16-1F* y *rpl16-3R* ó *rpl16-957F* y *rpl16-18R*). Sin embargo, para algunas especies, fue necesario usar dos primers adicionales: uno anclado en el centro del intrón (*rpl16-584F*) y otro anclado en el exón 2 de *rpl16* (*rpl16-1216F*). También tiene como ventaja que la alineación entre taxa cercanamente emparentados es relativamente sencilla (Downie et al., 2000).



Figura 6. Esquema representativo del marcador *rpl16* del DNA de cloroplasto. Las flechas indican la posición de los primers utilizados en la amplificación y secuenciación, El fragmento de la secuencia en color gris representa el intrón *rpl16*. (Imagen modificada a partir de Downie, 2000)

## trnL-trnF

Las regiones de cloroplasto son comúnmente utilizadas para estudios en todos los niveles taxonómicos. El espaciador intergénico *trnL-trnF* y el intrón *trnL* (Figura 7) han sido utilizados para inferir relaciones desde niveles intra e interespecíficos, hasta niveles de subfamilia y tribus (Mes et al., 1994).

Estos espaciadores se encuentran en el DNA de cloroplasto que generalmente es muy utilizado para investigar las relaciones interespecíficas entre angiospermas y otras plantas, pero su baja tasa de sustitución es una limitación seria a nivel intraespecífico (Taberlet et al., 1991).

El intrón *trnL* probablemente es menos variable que el espaciador intergénico *trnL-trnF* debido a que tiene propiedades catalíticas y forma estructuras secundarias. Por lo anterior el intrón *trnL* es muy útil para hacer estudios a niveles taxonómicos superiores (Taberlet et al., 1991). La Figura 5 muestra los diferentes primers utilizados en este trabajo para la amplificación y la secuenciación diseñados por (Taberlet et al., 1991).

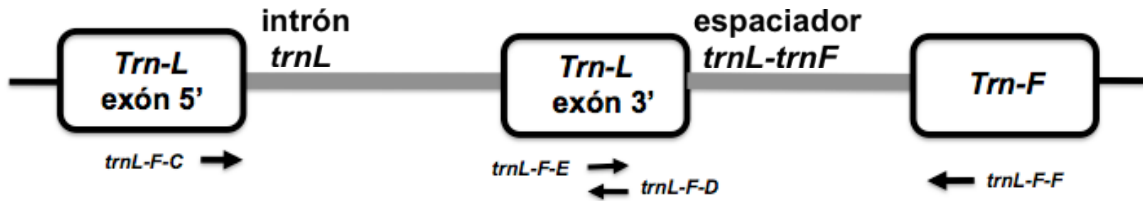


Figura 7. Esquema representativo del marcador *trnL-F* del DNA de cloroplasto. Las flechas indican la posición de los primers utilizados en la amplificación y secuenciación. Los fragmentos de la secuencia en color gris representa el intrón *trnL* y el espaciador *trnL-F*. (Imagen modificada a partir de Taberlet, et al. 1991)

## V.VII Selección de los modelos de sustitución molecular

Para alcanzar reconstrucciones filogenéticas realistas es sumamente importante elegir un modelo de sustitución molecular que describa adecuadamente los atributos de los datos moleculares a utilizar (*rpl16* y *trnL-trnF*). Para seleccionar el modelo de sustitución molecular en Pachycereae-centrales se valoró el ajuste a cada uno de los marcadores de cloroplasto utilizados, así como la matriz de los dos marcadores concatenados, a los 56 modelos disponibles en el programa Modeltest (Posada y Crandall, 1998) comparándolos con una prueba de razón de verosimilitudes (LRT) y el criterio de información de Akaike (AIC). Se seleccionó el modelo de sustitución con mejor ajuste a los datos moleculares de acuerdo al AIC debido a que éste penaliza el incremento en el número de parámetros en el modelo, y no solo considera el incremento en el ajuste del modelo más complejo (Posada y Crandall, 2001; Posada y Burckley, 2004).

## VI.VIII Estimación filogenética

Los árboles filogenéticos son una herramienta fundamental para reconstruir la historia evolutiva de la vida (Huelsenbeck y Ronquist, 2001). Estos representan las relaciones de ancestría común entre organismos o secuencias de DNA (Holder y Lewis 2003). Las filogenias moleculares a nivel de especies proporcionan un registro indirecto de los eventos de especiación que han originado las especies que existen actualmente, así como la pauta (“tempo”) de la evolución del grupo (Hillis et al., 1996; Avise, 2000). La información geográfica y los atributos ecológicos de las especies, en este caso los síndromes de polinización, junto con las filogenias moleculares, ofrecen un enorme potencial para investigar las causas generales de la diversificación de los clados (Barracough et al., 1998; Berlocher, 1998) así como para explorar preguntas evolutivas centrales como la variación de las tasas de diversificación entre diferentes linajes, tiempo y regiones geográficas y algunos atributos ecológicos como el síndrome de polinización (Barracough y Nee, 2001). Se realizaron dos análisis filogenéticos, uno mediante el método de parsimonia y otro mediante máxima verosimilitud (ML).

### **Análisis de parsimonia**

El análisis de parsimonia se realizó con el programa PAUP\* 4.0b10 (Swofford, 2002) con los marcadores *rpl16* y *trnL-trnF* combinados. Se realizó una búsqueda heurística con 200 réplicas reteniendo un máximo de 1000 árboles, implementando el método TBR para intercambiar ramas, combinado con adición secuencial de secuencias en las búsquedas heurísticas. Para calcular el apoyo de ramas, se llevaron a cabo 5000 réplicas de bootstrap creando un árbol de mayoría del 50%.

### **Análisis de máxima verosimilitud (ML)**

El análisis filogenético con ML se llevó a cabo utilizando el programa RAxML (Stamatakis, 2006) con el modelo de sustitución GTR+CAT. Se utilizó la matriz concatenada de los dos marcadores de 2667 pares de bases (pb), pero se asignaron modelos particionados. El apoyo de ramas fue estimado con 5000 réplicas bootstrap.

Los valores de bootstrap fueron indicados en el árbol de ML con la más alta verosimilitud.

## V.IX Estimación de tiempo de origen y diversificación de los linajes de Pachycereeeae-centrales

Los tiempos de divergencia (media e intervalos de credibilidad) fueron estimados usando el método lognormal no correlacionado implementado en BEAST 1.6.1 (Drummond y Rambaut, 2007). El programa BEAST 1.6.1 se utiliza para realizar análisis Bayesianos MCMC de secuencias moleculares. Este programa está orientado a la estimación de filogenias enraizadas y calibradas, inferidas utilizando modelos de reloj molecular estricto o relajado. BEAST está diseñado para simultáneamente reconstruir relaciones filogenéticas y estimar tiempos de divergencia (Drummond y Rambaut, 2007).

Para realizar la fechación con BEAST 1.6.1 fue necesario obtener un árbol ultramétrico con el programa r8s 1.71 (Sanderson, 2004) implementando la técnica de verosimilitud penalizada. Para realizar el cronograma utilizamos como punto de partida el árbol de ML de Pachycereeeae-centrales obtenido con RAXML.

El árbol elegido fue sometido a r8s1.71 para obtener las tasas absolutas y las edades del árbol. La calibración fue estimada con base en el intervalo de edad estimada para Pachycereeeae-centrales por Hernández-Hernández (2010) (1.71 y 9.093 Ma). Se implementaron dos fechaciones con calibraciones distintas, uno con 2 Ma y el otro con 9.0 Ma. De estos dos análisis únicamente seleccionamos el árbol ultramétrico resultado de la calibración en 9.0 Ma porque engloba las edades estimadas por la calibración alternativa. El árbol ultramétrico obtenido con el programa r8s 1.71 fue utilizado subsecuentemente para la estimación final de fechas usando el programa BEAST 1.6.1. Se calibró el cronograma en BEAST 1.6.1 utilizando como fecha de diversificación del grupo corona de Pachycereeeae una distribución uniforme entre 1.71-9.93 Ma. Elegimos una distribución normal debido a que existe la misma probabilidad de que un evento ocurra en cualquier punto entre este intervalo. La raíz del árbol fue restringida a un intervalo de 11-15 Ma, con una distribución uniforme, debido a que el valor obtenido en r8s para este nodo se encuentra dentro de este intervalo.

## V.X Estimación de tasas de diversificación en Pachycereae-centrales

Las tasas de diversificación fueron estimadas para grupos monofiléticos utilizando el modelo de nacimiento-muerte (Kendall, 1948), con estimadores que consideran la posibilidad de extinción, y permiten usar la edad de un grupo corona o troncal, proporcionando estimados absolutos. (Magallón y Sanderson, 2001). Con estos estimadores obtuvimos estimados absolutos de la tasa de diversificación de cada clado designado. En este caso, los estimadores están condicionados al número de especies en el presente, estos estimadores pueden diferenciar entre la tasa de diversificación de un grupo corona o un grupo troncal (Ecuaciones 1 y 2)

$$\hat{r}_{\epsilon} = \frac{1}{t} \log[n(1 - \epsilon) + \epsilon]$$

**Ecuación 1.** Estimador de tasas absolutas de diversificación para grupo corona

$$\hat{r}_{\epsilon} = \frac{1}{t} \left\{ \log \left[ \frac{1}{2} n(1 - \epsilon^2) + 2\epsilon \right. \right. \\ \left. \left. + \frac{1}{2} (1 - \epsilon) \sqrt{n(n\epsilon^2 - 8\epsilon + 2n\epsilon + n)} \right] - \log 2 \right\}$$

**Ecuación 2.** Estimador de tasas absolutas de diversificación para grupo troncal

donde:

La tasa de extinción relativa ( $\epsilon$ ) se define como  $\epsilon = \mu/\lambda$

t= tiempo (después del origen del clado)

El grupo corona es un clado que incluye a todos los representantes actuales del clado más todas las especies extintas que divergieron posteriormente a la divergencia más antigua que originó dos especies actuales. El grupo troncal contiene al grupo corona más todas las especies extintas que se encuentran entre la divergencia del grupo corona y su clado hermano (Figura 8).

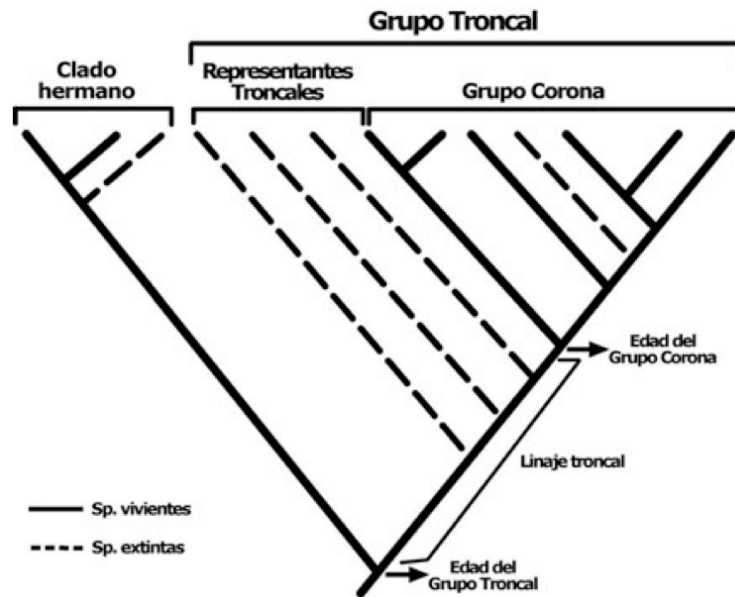


Figura 8. En esta filogenia hipotética se demuestra gráficamente la definición de los grupos troncal y corona. La línea continua representa especies vivientes mientras que la punteada a especies extintas. Figura tomada de Magallón y Sanderson (2001)

Como las tasas absolutas de especiación y extinción ( $\lambda$ ,  $\mu$ ) de Pachycereae y los clados internos son desconocidas, las tasas de diversificación fueron estimadas asumiendo que la extinción relativa ( $\epsilon$ ) puede estar dentro del intervalo  $\epsilon=0.0$  que implica cero extinción, y  $\epsilon=0.9$  que implica una tasa alta de extinción relativa (Magallón y Sanderson, 2001).

Realizamos una gráfica de los linajes a través del tiempo (LTT) (Figura 10) para entender el patrón general de diversificación del clado. Este tipo de análisis permite identificar la heterogeneidad de tasas de diversificación dentro de un clado (Wong, 2007) y el tiempo de diversificación (Nee et al, 1994). La obtención de una gráfica de linajes a través del tiempo requirió de una filogenia a nivel de especie fechada (en la cual todas las terminales del árbol terminan en el presente) que se tradujo en una gráfica de aparición acumulativa de linajes a lo largo del tiempo. El cambio en las tasas

de diversificación puede ser calculado a partir de una gráfica de linajes a través del tiempo al transformar el eje de los linajes a escala logarítmica (Nee, 1992).

## V.XI Medición de correlación entre mecanismo de polinización y tasas de diversificación

La presencia de cambios significativos en las tasas de diversificación fueron evaluadas entre las ramas del árbol filogenético. La heterogeneidad significativa de tasas de diversificación dentro del grupo corona de Pachycereae-centrales fue evaluado con SymmeTREE v1.1 (Chan y Moore, 2005). Este es un programa en línea de comandos escrito en C++, que implementa distintos tests de diferencial en tasas de diversificación, y explota información en la distribución topológica de la diversidad de especies en cualquier parte del árbol para responder dos preguntas generales: ¿Las ramas que componen un árbol se han diversificado bajo tasas significativamente diferentes? y/o ¿En qué ramas han ocurrido los cambios significativos de tasas de diversificación? (Chan y Moore, 2005)

Debido a que en el análisis filogenético únicamente incluimos 111 especies de las 132 especies conocidas que conforman Pachycereae-centrales, las 21 especies faltantes fueron manualmente insertadas en la topología de ML con base en información taxonómica proporcionada por el Dr. Salvador Arias del Instituto de Biología, UNAM.

El análisis se basó en cien mil árboles simulados ERM, con las politomías resueltas con cien mil resoluciones aleatorias sensitivas al muestreo de taxa. Las probabilidades acumulativas del árbol completo de las tasas de diversificación fueron identificadas por valores de probabilidad de cola de los frecuentiles 0.025 y 0.975 de la estadística  $M_{\pi}$  (Chan y Moore, 2005). Los cambios significativos de tasas de diversificación fueron localizados por medio de los valores de P asociados a los estadísticos  $\Delta_1$  y  $\Delta_2$  para cada nodo interno utilizando 200 especies para la el cálculo estadístico de los cambios rápidos. (Chan y Moore, 2005).



## **Detección del cambio de polinizador**

Los datos obtenidos en este trabajo sobre los diferentes polinizadores de Pachycereae-centrales (Anexo: Tabla 10), fueron utilizados para determinar el síndrome de polinización de cada especie muestreada de Pachycereae-centrales. Estos datos proceden de trabajos publicados, observaciones y predicciones basadas en el tipo de flor y el horario de antesis. Esta información fue obtenida del Dr. Alberto Búrquez Montijo del Instituto de Ecología, UNAM. Los datos que conforman el listado fueron transformados en cinco distintos síndromes de polinización: Hymenópteros, colibríes, polillas, esfíngidos y murciélagos.

Utilizando el programa MacClade 4.08 (Madison y Madison, 2005) y la topología obtenida mediante ML con longitudes de rama de Pachycereae-centrales, se obtuvo un árbol filogenético con la distribución de los estados de carácter de los taxa (terminales) observados. Las especies que presentan dos tipos de polinizador fueron colocadas doblemente de manera manual en la topología debido a que no es posible considerar polimorfismos para la reconstrucción de estados ancestrales de carácter (Nixon y Davies, 1991). Aunque es posible que un gran número de especies de Pachycereae-centrales presenten esta condición no hay datos referenciados ni se han hecho observaciones de campo.

El programa Mesquite v2.74 (Madison y Madison, 2010) puede reconstruir los estados de carácter en nodos ancestrales teniendo un árbol filogenético y la distribución de los estados de carácter en los taxa (terminales) observados. Para realizar la reconstrucción de estados ancestrales se utilizó el método "Trace Character History" implementado por Mesquite v2.74, el cual colorea cada nodo del árbol para mostrar las verosimilitudes proporcionales de cada estado de carácter. Los estados ancestrales de los síndromes de polinización, fueron reconstruidos sobre la topología obtenida mediante ML de Pachycereae-centrales, utilizando el método de ML disponible en Mesquite v2.74, el cual incorpora la información del longitud de las ramas en la inferencia del estado ancestral. Las reconstrucciones asumieron que las transformaciones son igualmente probables (modelo Mk1).

Posteriormente a la identificación de las ramas del árbol filogenético de Pachycereae-centrales, en las cuales hubo cambios significativos en las tasas de

diversificación, analizamos la correspondencia con los cambios de polinizador que obtuvimos en la reconstrucción de estados ancestrales de carácter.

## V.XII Correlación entre los tiempos de origen de Pachycereae- centrales y los murciélagos polinizadores: Glossophaginae (Phyllostomidae)

Para obtener la fecha de origen de los murciélagos polinizadores de las cactáceas columnares se realizó una filogenia que incluye casi todas las especies pertenecientes a la subfamilia Glossophaginae, y una representación importante de las especies de cada género de la familia Phyllostomidae. Se utilizó como marcador el gen citocromo b (*cytb*), un gen mitocondrial que se encuentra altamente conservado entre los taxa de vertebrados y ha sido muy utilizado para resolver hipótesis filogenéticas en diferentes niveles taxonómicos (Palumbi, en Hills, et al., 1996). Entre los mamíferos *cytb* se ha empleado para resolver hipótesis filogenéticas a diferentes niveles taxonómicos, y en Phyllostomidae, a nivel de género, ha tenido un buen desempeño delimitando especies y estableciendo sus relaciones filogenéticas (Flores-Abreu, 2007). La matriz del marcador *cytb* de la familia Phyllostomidae está compuesta por 122 especies pertenecientes a la familia y una como grupo externo *Pteronotus parnell*. Estas secuencias fueron proporcionadas por Roberto Trejo del Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental a cargo del Dr. Luis Eguiarte Fruns y son parte de su tesis de maestría en proceso.

Realizamos una filogenia mediante ML de Phyllostomidae para ver si las relaciones taxonómicas coinciden con las relaciones obtenidas en estudios previos (Baker et al, 2003; Datzmann et al, 2010). El análisis filogenético con ML se llevó a cabo utilizando el programa RAxML (Stamatakis, 2006) con el modelo de sustitución GTR+CAT. Se utilizó la matriz del marcador *cytb* de 1140pb, con dos particiones según las posiciones del codón (1as y 2as) y (3as) posiciones. El apoyo de ramas fue estimado con 5000 réplicas bootstrap. Los valores de bootstrap fueron indicados en el árbol de ML. Posteriormente los tiempos de divergencia (media e intervalos de

credibilidad) fueron estimados usando el método lognormal no correlacionado implementado en BEAST 1.6.1. Se le indicó a BEAST 1.6.1 que estimara un árbol inicial mediante UPGMA y con este se estimaron tiempos de divergencia. Se calibró el cronograma de BEAST 1.6.1 utilizando como fecha de diversificación del grupo corona de Phyllostomidae una distribución lognormal entre 11.8 y 13.8 debido a que esta es la edad en el registro fósil de los fósiles más viejos del grupo corona de Phyllostomidae en el Levantino (Morgan, 2002). La raíz del árbol fue restringida a un intervalo de 34 a 45 Ma con una distribución uniforme. Este valor fue estimado por Datzmann et al. (2010) para el grupo troncal de Phyllostomidae.

Posteriormente se compararon los tiempos de origen de las especies de Pachycereae-centrales con los de sus murciélagos polinizadores de la subfamilia Glossophaginae (Phyllostomidae, Chiroptera, Mammalia) en busca de concordancia.

## VI. RESULTADOS

### VI.I Secuenciación de los marcadores moleculares

Se obtuvo una matriz concatenada de los marcadores *trnL-trnF* y *rpl16*, conformada por 2667 pb de 119 taxa (69 obtenidos del GenBank y 50 en el laboratorio), de las cuales *Echinocereus engelmannii* y *E. ledingii* únicamente incluyen el marcador *rpl16* debido a que no se obtuvieron secuencias de calidad de *trnL-trnF* para estos taxa, asimismo *Stenocereus quevedonis* y *Neobuxbaumia squamulosa* incluyen únicamente la secuencia del marcador *rpl16* debido a que no se obtuvieron secuencias de calidad de *trnL-trnF* para estos taxa.

En la Tabla 4 se muestran los taxa de los cuales se obtuvieron las secuencias de *rpl16* y *trnL-trnF* que fueron utilizadas para construir la matriz de taxa por caracteres en la que se basaron todos los análisis.

Tabla 4. Listado de secuencias obtenidas en el laboratorio de Pachycereeae-centrales de los marcadores *rpl16* y *trnL-trnF*.

Género y especie	Número de acceso del Genbank	
	<i>rpl16</i>	<i>trnL-F</i>
<i>Echinocereus barthelowanus</i>	En proceso	En proceso
<i>E.berlandieri</i>	En proceso	En proceso
<i>E.bonkeriae</i>	En proceso	En proceso
<i>E. boyce-thompsonii</i>	En proceso	En proceso
<i>E. brandegeei</i>	En proceso	En proceso
<i>E. bristolii</i>	En proceso	En proceso
<i>E. chisoensis</i>	En proceso	En proceso
<i>E. cinerascens</i>	En proceso	En proceso
<i>E. coccineus</i>	En proceso	En proceso
<i>E. cloreantus</i>	En proceso	En proceso
<i>E. dasyacanthus</i>	En proceso	En proceso
<i>E. ehuenbergii</i>	En proceso	En proceso
<i>E. engelmannii</i>	En proceso	Pendiente
<i>E. fasciculatus</i>	En proceso	En proceso
<i>E. fendleri</i>	En proceso	En proceso
<i>E. ferreirianus</i>	En proceso	Pendiente
<i>E. ledingii</i>	En proceso	En proceso
<i>E. longisetus</i>	En proceso	En proceso
<i>E. mapimensis</i>	En proceso	En proceso
<i>E. maritimus</i>	En proceso	En proceso
<i>E. mojavensis</i>	En proceso	En proceso
<i>E. nicholii</i>	En proceso	En proceso
<i>E. nivosus</i>	En proceso	En proceso
<i>E. ortegae</i>	En proceso	En proceso
<i>E. pentalophus</i>	En proceso	En proceso
<i>E. primolanatus</i>	En proceso	En proceso
<i>E. pulchellus</i>	En proceso	En proceso
<i>E.reichenbachii</i>	En proceso	En proceso
<i>E. rigidissimus</i>	En proceso	En proceso
<i>E. roetteri</i>	En proceso	En proceso
<i>E. salm-dyckiannus</i>	En proceso	En proceso
<i>E. scheeri</i>	En proceso	En proceso
<i>E. sciurus</i>	En proceso	En proceso
<i>E. stoloniferus</i>	En proceso	En proceso
<i>E. stramineus</i>	En proceso	En proceso
<i>E. subinermis</i>	En proceso	En proceso
<i>E. viereckii</i>	En proceso	En proceso
<i>E. viridiflorus</i>	En proceso	En proceso
<i>E. yavapaensis</i>	En proceso	En proceso
<i>E. websterianus</i>	En proceso	En proceso
<i>Myrtillocactus cochal</i>	En proceso	En proceso
<i>M. eichlamii</i>	En proceso	En proceso
<i>Neobuxbaumia laui</i>	En proceso	En proceso
<i>N. squamulosa</i>	Pendiente	En proceso
<i>Polaskia chende</i>	En proceso	En proceso
<i>Isolatocereus dumortieri</i>	En proceso	En proceso
<i>Stenocereus eruca</i>	En proceso	En proceso
<i>S. quevedonis</i>	Pendiente	En proceso

## VI.II Selección del modelo de sustitución molecular

Se seleccionó el modelo de sustitución con mejor ajuste a los datos moleculares de cada marcador (*rpl16* y *trnL-trnF*) de acuerdo al Criterio de Información de Akaike (AIC) debido a que este presenta ventajas sobre el método HRTLs para las estimaciones filogenéticas, por ejemplo, penaliza el incremento en el número de parámetros en el modelo; no solo considera el incremento en el ajuste del modelo más complejo sino también la varianza en los parámetros estimados (Posada y Burckley 2004). Se seleccionó el modelo de sustitución molecular para cada marcador con base al menor valor de AIC, el cual resultó ser un modelo de seis parámetros (TIM+I+G) para ambos genes (Tabla 5). En lugar de estos modelos utilizamos el modelo disponible en los programas que más se parece a los identificados, este es un modelo de sustitución de seis parámetros (GTR+CAT) que engloba otros modelos, tomando en cuenta una proporción de sitios invariables y su distribución gamma.

Tabla 5. Modelos de sustitución seleccionados para los marcadores *rpl16* y *trnL-trnF* de acuerdo al AIC, proporción de sitios invariables y valores gamma asociados al modelo y valores de AIC.

<b>Marcador</b>	<b>Modelo seleccionado AIC</b>	<b>-lnL</b>	<b>K</b>	<b>Proporción de sitios invariables (I)</b>	<b>Tasa de heterogeneidad con distribución gamma (G)</b>
<i>rpl16</i>	TIM+I+G (15047.5625)	7515.7812	8	0.3630	0.6994
<i>trnL-trnF</i>	TrN+I+G (13169.8760)	6577.9380	7	0.3568	0.7934

## VI.III Estimación de las filogenias de Pachycereae-centrales

### Análisis de máxima verosimilitud (ML)

El árbol filogenético de ML con longitudes de ramas resultado de la matriz con 2267pb para los 119 taxa se representa en la Figura 9. Asimismo el cladograma de consenso estricto de parsimonia con valores de apoyo de nodo bootstrap, resultado de

la matriz de 2667pb para los 119 taxa, se representa en la Figura 10, en el cual las relaciones dentro de Pachycereeae-centrales son coincidentes con las relaciones obtenidas en el análisis de ML. El análisis filogenético de ML aquí presentado indica que la subtribu Pachycereinae se recupera con un valor de apoyo bootstrap de 82%. La subtribu Stenocerinae se recupera como grupo hermano del género *Echinocereus* con un valor de apoyo de bootstrap de 96%. La subtribu Stenocereinae se agrupa con un valor de apoyo bootstrap de 96% y el género *Echinocereus* fue encontrado como monofilético con un valor de apoyo de bootstrap de 94%. La subtribu Pachycerinae está conformado por los géneros *Bergerocactus*, *Pachycereus*, *Neobuxbaumia*, *Cephalocereus*, *Carnegia* y *Peniocereus subgen. Peniocereus*. Los géneros *Bergerocactus* y *Carnegiae* son monoespecíficos; *Peniocereus subgen. Peniocereus* es un género monofilético con valor de apoyo bootstrap de 98%. El clado Stenocerinae+*Echinocereus* está conformado por los géneros *Escontria*, *Stenocereus*, *Polaskia*, *Myrtillocactus* y *Echinocereus*. Los géneros monofiléticos que conforman este clado son: *Polaskia* con un apoyo de bootstrap de 100, *Myrtillocactus* con un apoyo de bootstrap de 97%, *Stenocereus* (si consideramos a *S. aragonii* y *S. eichlamii* como pertenecientes a Pachycereinae) con un apoyo de bootstrap de 59% y *Echinocereus* con un apoyo de bootstrap de 94%. Que *Stenocereus aragonii* y *S. eichlamii* formen parte de la subtribu Pachycereinae en ambos árboles se debe a que no son miembros de *Stenocereus* y representan otro género, probablemente hermano de *Pachycereus* (Arias et al., 2003). Las relaciones de los demás géneros de Pachycereeae-centrales no se pueden definir en el árbol de parsimonia debido la presencia de politomías en la topología.

Las especies que constituyen el grupo externo en ambos árboles pertenecen a los géneros: *Armatocereus*, *Disocactus*, *Hylocereus*, *Selenicereus*, *Calymmanthium*, *Pereskia*, *Rhipsalis* y *Eulychnia*.



Figura 9. Árbol de máxima verosimilitud de Pachycereeae-centrales obtenido con RAXML, derivado de un análisis concatenado de los marcadores de cloroplasto *trnL-trnF* y *rpl16* mostrando el grupo de las Pachycereeae-centrales y las relaciones dentro de este. Los valores asociados a los nodos representan el de apoyo bootstrap (5000 rep.) Los cuadros de color representan a las subtribus Pachycereinae, Stenocereinae y el género *Echinocereus*.

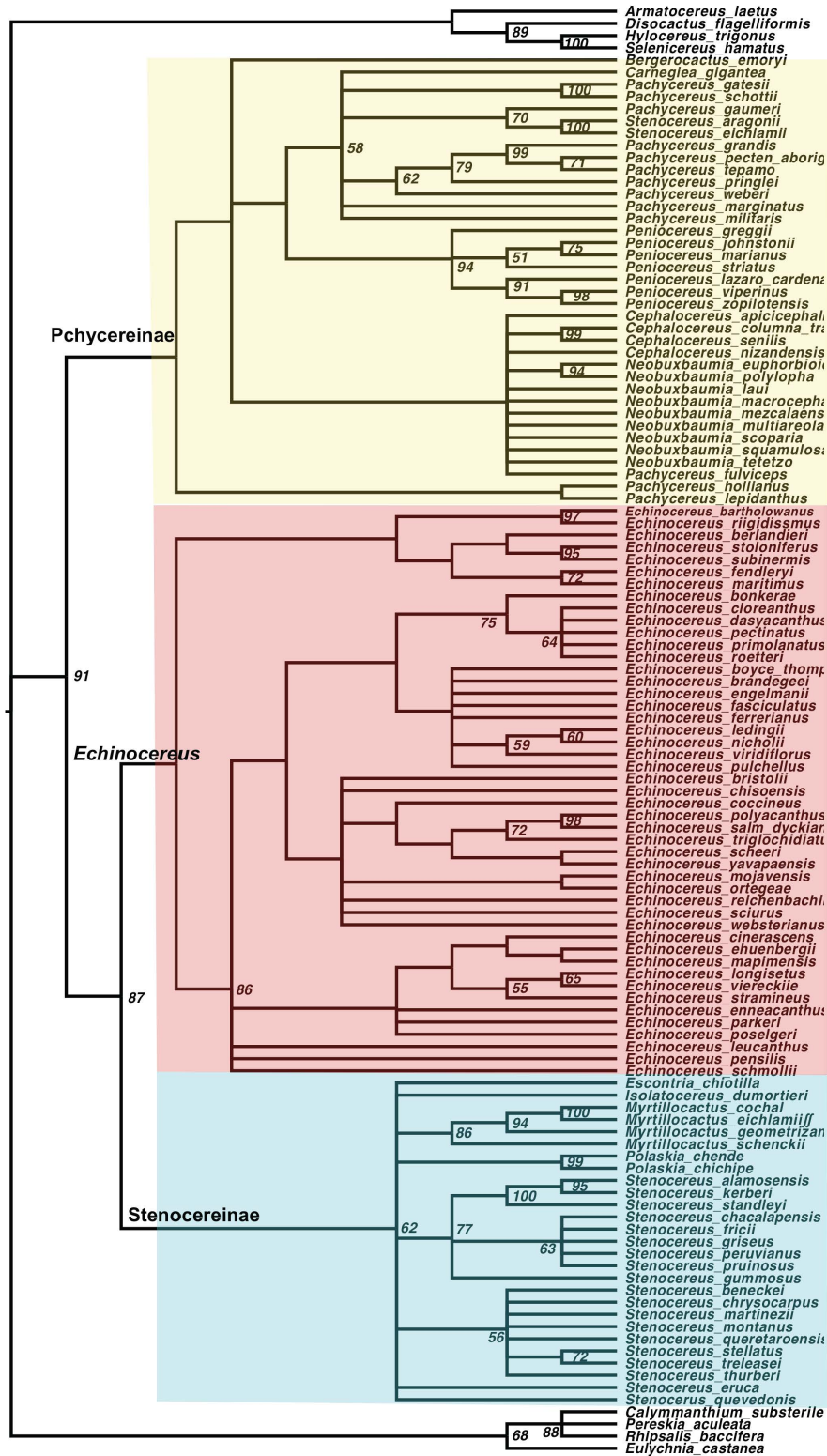


Fig 10. Cladograma de consenso estricto entre 5200 igualmente parsimoniosos de Pachycereae-centrales en PAUP, derivado de un análisis concatenado de los marcadores de cloroplasto trnL-trnF y rpl16, los valores en los nodos representan los apoyos de bootstrap (5000 repeticiones). Los cuadros de color representan a las subtribus Pachycereinae, Stenocereinae y el género *Echinocereus*.



## VI.IV Tiempo de origen y diversificación de Pachycereeae-centrales

El cronograma que elegimos obtenido por el programa BEAST 1.6.1 (Figura 11.) calculó una edad de 9.07Ma (7.55-10 HPD) para el grupo corona de Pachycereeae-centrales. La Figura 11 muestra los intervalos de credibilidad de 95% HPD (highest posterior density) y los nodos de los grupos corona y troncal de algunos clados dentro de Pachycereeae-centrales.

Las edades estimadas para algunos clados dentro de la tribu fueron: para el la subtribu Pachycereinae asignó una edad para el grupo corona de 6.68 Ma y para el grupo troncal 9.07 Ma, para la subtribu Stenocereinae asignó una edad al grupo corona de 5.21 Ma y para el grupo troncal 7.55 Ma, para el clado Stenocerinae+Echinocereus asignó 7.55 Ma para el grupo corona y para el grupo troncal asignó 9.07 Ma, para el género *Myrtillocactus* asignó 2.95 Ma para el grupo corona y para el grupo troncal 4.77 Ma, para el género *Pachycereus* asignó 4.26 Ma para el grupo corona y para el grupo troncal 5.22 Ma., y para el género *Stenocereus* 2.39 Ma para el grupo corona y 3.68 Ma para el grupo troncal, para *Peniocereus subgen. Peniocereus* asignó 3.41 Ma para el grupo corona y para el grupo troncal asignó 5.22 Ma. Para el género *Neobuxbaumia* se asignó una edad de 1.7 Ma para el grupo corona y 2.85 para el grupo troncal. (Tabla 6)

Tabla 6. Edades e intervalos (95% HPD) obtenidos en BEAST

Clado	Edad (Ma)	Intervalo (95%HPD)
<b>GC Pachycereeae-centrales</b>	9.07 (Mioceno Tardío)	[7.55-10]
<b>GT Pachycereeae-centrales</b>	11.86 (Mioceno Medio)	[11-13.55]
<b>GC Pachycereinae</b>	6.68 (Mioceno Tardío)	[4.58-8.89]
<b>GT Pachycereinae</b>	9.07 (Mioceno Tardío)	[7.55-10]
<b>GC Stenocereinae</b>	5.21 (Plioceno)	[3.21-7.2]
<b>GT Stenocereinae</b>	7.55 (Mioceno Tardío)	[5.88-9.27]
<b>GC Stenocerinae + Echinocereae</b>	7.55 (Mioceno Tardío)	[5.88-9.27]
<b>GT Stenocerinae + Echinocereae</b>	9.07 (Mioceno Tardío)	[7.55-10]
<b>CC Echinocereus</b>	6.19 (Mioceno Tardío)	[4.6-7.79]
<b>GT Echinocereus</b>	7.55 (Mioceno Tardío)	[5.88-9.27]
<b>GT género Myrtillocactus</b>	4.77 (Plioceno)	-

<b>GC género <i>Stenocereus</i></b>	2.39 (Plioceno)	[2.35,6.61]
<b>GT género <i>Stenocereus</i></b>	3.68 (Plioceno)	-
<b>GC <i>Pachycereus</i></b>	4.26 (Plioceno)	[2.8,5.97]
<b>GT <i>Pachycereus</i></b>	5.22 (Plioceno)	[3.35,6.97]
<b>GC <i>Peniocereus</i> subgen. <i>Peniocereus</i></b>	3.41 (Plioceno)	[1.99,5.00]
<b>GT <i>Peniocereus</i> subgen. <i>Peniocereus</i></b>	5.22 (Plioceno)	[3.35,6.97]
<b>GC <i>Neobuxbaumia</i></b>	1.7 (Pleistoceno)	-
<b>GT <i>Neobuxbaumia</i></b>	2.85 (Plioceno)	-

GC = Grupo Corona, GT= Grupo Troncal

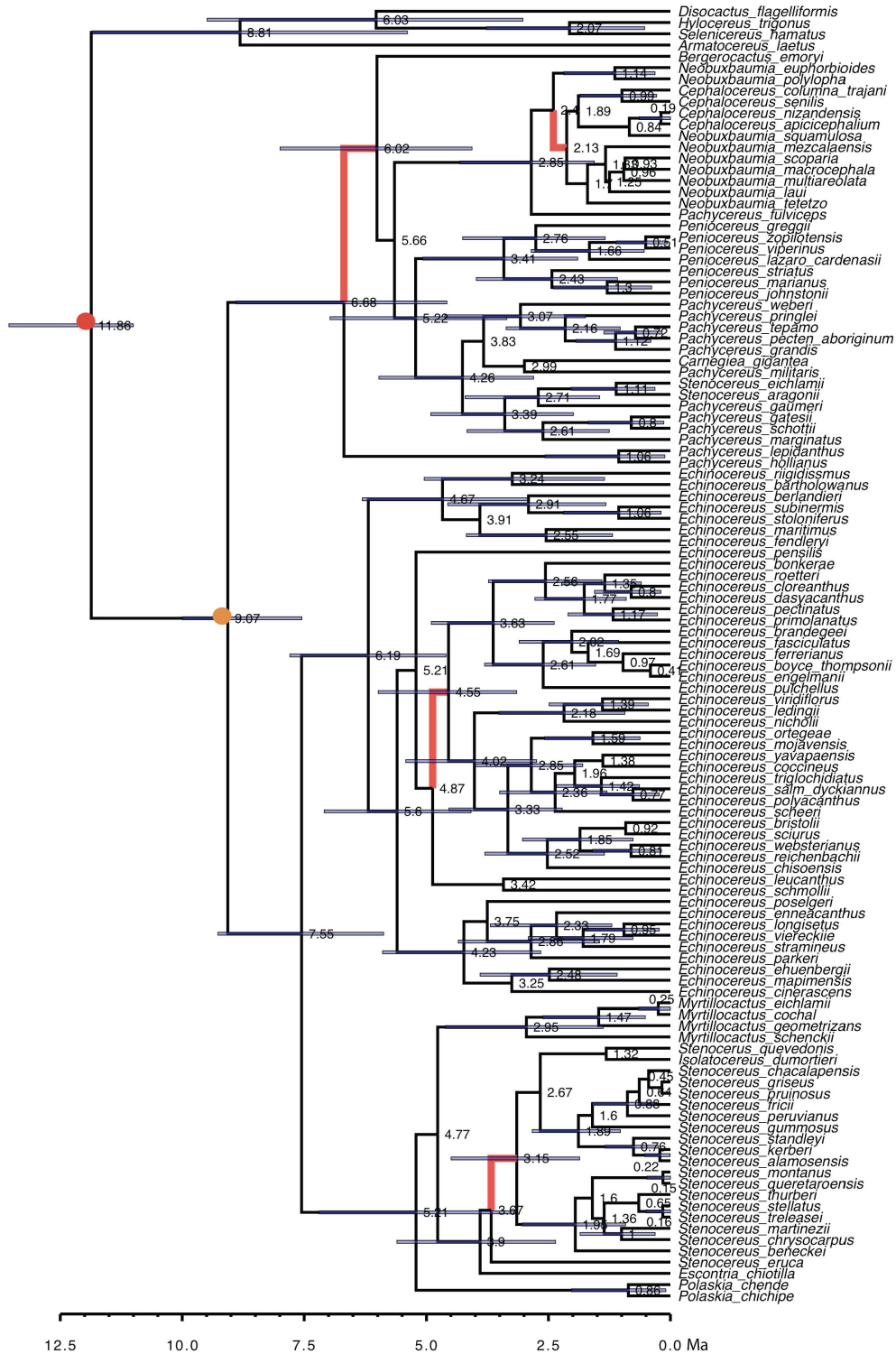


Fig. 11. Cronograma de Pachycereae-centrales obtenido a partir del árbol de máxima credibilidad de clados estimado con el método uncorrelated lognormal en BEAST. Los números asociados a los nodos indican las edades estimadas con inferencia Bayesiana y las barras indican un intervalo de credibilidad (95% HPD). El nodo naranja representa el nodo de calibración. El nodo rojo representa una restricción de edad asignada a la raíz del árbol. Las ramas marcadas en rojo fueron identificadas por SymmeTREE como ramas que tienen incremento marginalmente significativo de diversificación.

## VI.V Tasas de diversificación de Pachycereeae-centrales

Las tasas de diversificación calculadas para Pachycereeae-centrales y algunos clados pertenecientes a este grupo basadas en la edad del grupo troncal y el grupo corona derivadas de las edades obtenidas en el programa BEAST 1.6.1, y la tasa de extinción relativa  $\varepsilon=0.0$  y  $\varepsilon=0.9$  se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 7. Tasa de diversificación de Pachycereeae-centrales y de algunos clados pertenecientes al grupo.

Clado	#especies	edad estimada (Ma)		Tasas de diversificación absoluta (sp/Ma)			
		Grupo troncal	Grupo corona	Ec..2, Grupo troncal $\varepsilon=0.0$	Ec..2, Grupo troncal $\varepsilon=0.9$	Ec. 1, Grupo corona $\varepsilon=0.0$	Ec.1 Grupo corona $\varepsilon=0.9$
<b>Pachycereeae-centrales</b>	110	-	11.86	NA	NA	0.3379	0.2045
<b>Pachycereinae</b>	36	9.07	6.68	0.3951	0.1658	0.4327	0.2174
<b>Stenocerinae + Echinocereus</b>	96	9.07	7.55	0.5032	0.2592	0.5127	0.3046
<b>Stenocereinae</b>	32	7.55	5.21	0.4590	0.1869	0.5322	0.2608
<b>Echinocereus</b>	47	7.55	6.19	0.5100	0.2282	0.5100	0.2669
<b>Stenocereus</b>	25	3.9	3.67	0.8254	0.3138	0.6882	0.3192
<b>Myrtillocactus</b>	4	4.77	2.95	0.2906	0.0550	0.2350	0.0687
<b>Echinocereus</b>	47	7.55	6.19	0.5100	0.2282	0.5100	0.2699
<b>Pachycereus</b>	13	5.22	4.26	0.4914	0.1510	0.4394	0.1726
<b>Peniocereus subgen. Peniocereus</b>	7	5.22	3.41	0.3728	0.0900	0.3674	0.1216
<b>Neobuxbaumia</b>	6	2.13	1.7	0.8412	0.1904	0.6462	0.2054
<b>Cephalocereus</b>	4	2.13	1.89	0.6508	0.1232	0.3667	0.1072

De los clados analizados el género *Myrtillocactus* es el que presenta las tasas de diversificación más bajas tanto para el grupo corona (0.0687-0.2350 sp/Ma) como para el grupo troncal (0.0550-0.2906 sp/Ma) y los géneros *Neobuxbaumia* y *Stenocereus* presentan las tasas más altas para el grupo corona 0.2054-0.6462 sp/Ma y 0.3192-0.6882 sp/Ma y para el grupo troncal 0.1904-0.8412 sp/Ma y 0.3138.-0.8254 sp/Ma

respectivamente. Las tasas de diversificación son mayores en la subtribu Stenocereinae que en Pachycereinae.

Utilizamos una gráfica de las especies a través del tiempo (Figura 12) para ilustrar el patrón general de diversificación de Pachycereae-centrales, lo que es posibilitado por contar con una filogenia fechada casi a nivel de especie. Podemos observar cómo el número de especies aumenta conforme pasa el tiempo, también se pudo observar que Pachycereae-centrales sufrió una aceleración en la diversificación de especies hace aproximadamente 6 millones de años, en el Mioceno Tardío y de manera interesante, no se observa una disminución en la acumulación de especies en el presente.

La gráfica de los linajes a través del tiempo se construyó a partir del árbol fechado de Pachycereae-centrales, mostrando el aumento exponencial en el número de linajes. La línea negra es el número de especies a lo largo del tiempo, y cada punto gris representa la aparición de una nueva especie.

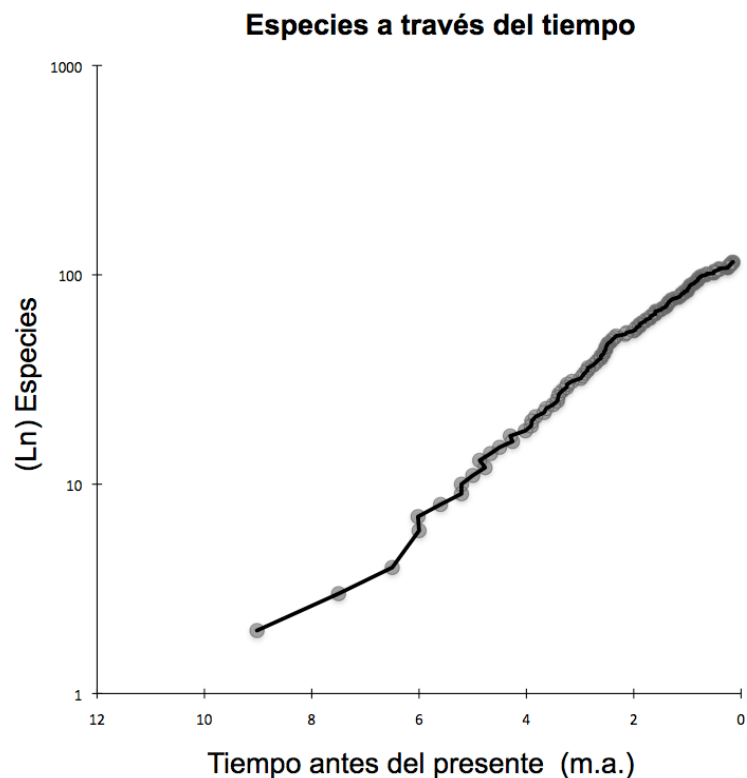


Fig. 12. Análisis de diversificación de Pachycereae-centrales, muestra la acumulación de especies a través del tiempo. La línea negra indica las especies a través del tiempo derivado de los tiempos de divergencia de los nodos obtenidos en BEAST mediante la fechación lognormal no-correlacionada.

## VI.VI Medición de correlación entre mecanismo de polinización y tasas de diversificación

El estadístico  $M\pi$  en SymmeTREE v1.1 (Chan y Moore, 2005) detectó heterogeneidad significativa en las tasas de diversificación en el árbol con probabilidad de colas de 0.04861 para los percentiles 0.025 y 0.0975. El estadístico  $\Delta_1$  detectó cuatro ramas donde hubo incrementos marginalmente significativos en las tasas de diversificación (Figura 10): (1) la rama que subyace al MRCA de la subtribu Pachycereinae ( $P=0.0528$ ), (2) la rama que subyace al MRCA de los géneros *Neobuxbauma* y *Cephalocereus* ( $P=0.0272$ ), excluyendo *Neobuxbaumia euphurbioides* y *Neobuxbaumia polylopha*, (3) la rama que subyace al grupo más grande del género *Echinocereus* ( $P=0.0580$  y excluyendo a 18 especies del mismo género y (4) la rama que subyace al MRCA del género *Stenocereus* ( $P=0.0727$ ) y excluye a *Stenocereus eruca*.

Con la reconstrucción de estados ancestrales de carácter realizada en Mesquite v2.74 (Madison y Madison, 2010) obtuvimos un árbol que muestra la distribución de los estados de carácter de especies (terminales) observadas y la probabilidad proporcional de cada tipo de polinizador en cada nodo del árbol (Figura 12). El estado ancestral del tipo de polinizador en Pachycereae-centrales, con una probabilidad proporcional muy alta, son abejas. De los cuatro incrementos marginalmente significativos que se detectaron en la filogenia con el programa SymmeTREE v1.1 (Chan y Moore, 2005), únicamente el (2) y el (4) coinciden con el cambio de polinizador de abeja a murciélago, con una probabilidad proporcional de 0.97 y 0.90 respectivamente. (Figura 13).

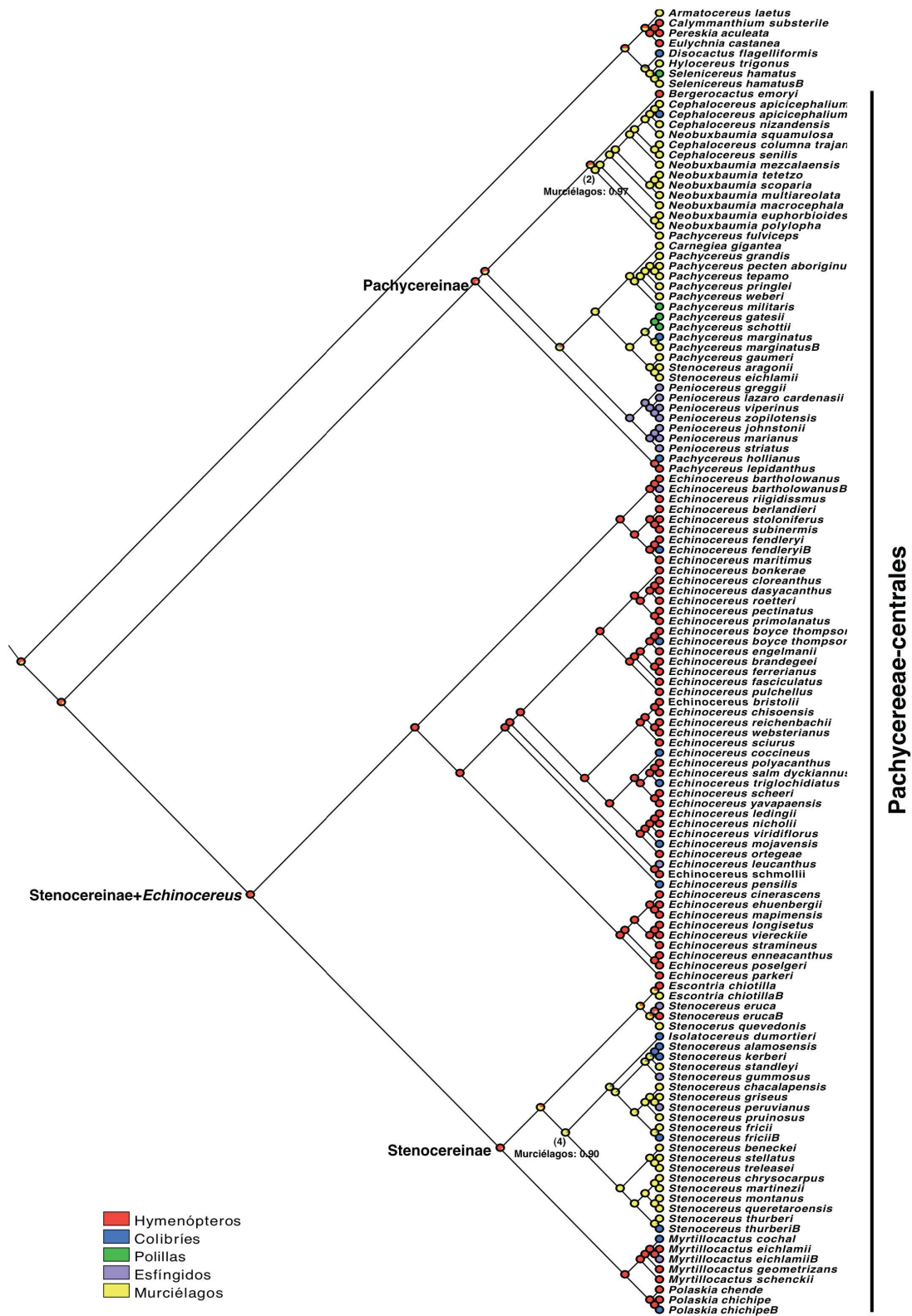


Fig. 13. Reconstrucción de cambios en el tipo de polinizador en Pachycereae-centrales. El modelo reconstruyó el síndrome de polinización por abejas como estado ancestral y para la mayoría de los nodos internos en la filogenia. Los cambios a polinización por murciélago ocurrieron independientemente en algunos clados de Pachycereae-centrales así como los cambios a polinización por esfíngidos, colibríes y polillas.

## VI.VII Correlación entre los tiempos de origen de Pachycereae- centrales y los murciélagos polinizadores Glossophaginae (Phyllostomidae)

El árbol filogenético de ML con longitudes de ramas resultado de la matriz con 1140pb para los 122 taxa de murciélagos Phyllostomydae se representa en la Figura 14. La familia Phyllostomidae constituye un clado monofilético con apoyo de bootstrap de 100%, lo cual coincide con las relaciones de estudios previos (e.g., Baker et al, 2003; Datzmann et al, 2010). La subfamilia Glossophaginae aparece como grupo monofilético aunque con un apoyo de bootstrap de 5%, lo cual también es coincidente con los estudios previos de Baker et al. (2003) y Datzmann et al. (2010). Glossophagine está conformada por los géneros *Leptonycteris*, *Glossophaga*, *Monophyllus*, *Anoura*, *Platina*, *Lionycteris*, *Lonchophylla*, *Brachyphylla*, *Trachops*, *Lophostoma*, *Tonatia*, *Erophylla* y *Phyllonyctoris*, de los cuales *Leptonycteris* es monofilético con un apoyo de bootsrap de 99%. *Brachyphylla* es monofilético con un apoyo de bootstrap de 100%, *Erophylla* también es monofilético con un apoyo de 100%, al igual que *Glossophaga* que es monofilético con un apoyo de bootsrap de 99% y *Monophyllus* también es monofilético con un apoyo de 90%. El género *Lonchophylla* es el grupo hermano de Glossophaginae con un valor de apoyo de 15%, esto coincide con el estudio previo Baker et al. (2003), pero no con el Datzmann et al. (2010), *Lonchophylla* es conformado en su mayoría por especies nectarívoras y es un grupo monofilético con un valor de apoyo de 93%. El grupo externo está conformado por el género *Pteronotus*.

Por su parte el cronograma (Figura 15) realizado en BEAST 1.6.1 no conserva todas estas relaciones debido a la pérdida de resolución en la subfamilia Glossophaginae. Sin embargo conserva la monofilia de Phyllostomidae y Glossophaginae aunque *Lonchophylla* se recupera formando parte de esta subfamilia. Las edades estimadas para los murciélagos nectarívoros Glossophaginae incluyendo al género *Lonchophylla* y los intervalos de confianza al 95% se presentan en la Tabla 8. La edad estimada para la subfamilia Glossophaginae+*Lonchophylla* es de 24.8 Ma para el grupo corona y 26.07 Ma para el grupo troncal, para el género *Leptonycteris* es de 7.76



Ma para el grupo corona y 17.12 para el grupo troncal, para el género *Glossopghaga* es de 10.15 Ma para el grupo corona y 17.12 para el grupo troncal y para *Brachyphylla* es de 3.14 Ma para el grupo corona y 20.77 para el grupo troncal.

Tabla 8. Edades e intervalos (95% HPD) obtenidos en BEAST

<b>Clado</b>	<b>Edad (Ma)</b>	<b>Intervalo (95%HPD)</b>
<b>GC Glossophaginae +Lonchophylla</b>	24.8 (Oligoceno Tardío)	-
<b>GT Glossophaginae +Lonchophylla</b>	26.07 (Oligoceno Tardío)	[17.54-37.05]
<b>GC Leptonycteris</b>	7.76 (Mioceno Tardío)	[4.46-12.3 ]
<b>GT Leptonycteris</b>	17.12 (Mioceno Temprano)	[10.85-24.76 ]
<b>GC Glossopghaga</b>	10.19 (Mioceno Tardío)	[ 6.45-15.46]
<b>GT Glossopghaga</b>	17.12 (Mioceno Temprano)	[10.85-24.76 ]
<b>GCBrachyphylla</b>	3.14 (Plioceno)	[ 1.72-5.16]
<b>GT Brachyphylla</b>	20.72 (Mioceno Temprano)	-



Fig. 14. Árbol de máxima verosimilitud de Phyllostomidae obtenido con RAxML, derivado de un análisis del marcador mitocondrial *cytb*. Los números asociados a las ramas representan los valores de apoyo bootstrap (5000 rep.). Mostrando en color azul el grupo de los murciélagos polinizadores de Pachycereae-centrales.

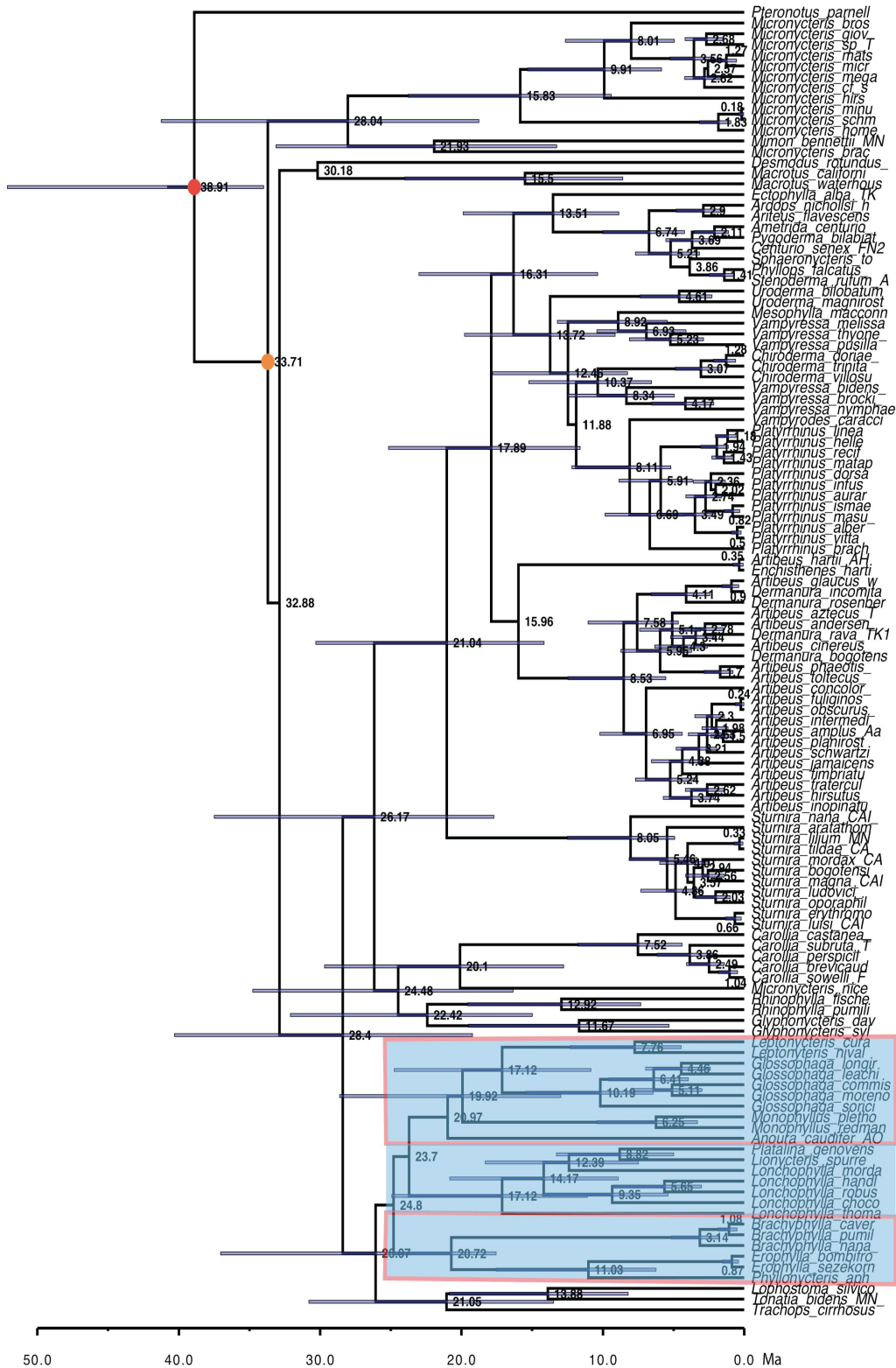


Fig. 15. Cronograma de Phyllostomyidae obtenido a partir del árbol de máxima credibilidad de clados estimado con el método uncorrelated lognormal en BEAST. Los números asociados a los nodos indican las edades estimadas con inferencia Bayesiana y las barras indican un intervalo de credibilidad (95% HPD). El nodo naranja representa el nodo de calibración. El nodo rojo representa una restricción de edad.

## VII. DISCUSIÓN

### VII.I Muestreo taxonómico

El muestreo taxonómico en este tipo de estudios es sumamente importante, pues se sabe que tiene un efecto en la estimación biológica, en la fechación (Linder et al. 2005) y en el análisis de sus tasas de diversificación (Wendel y Doyle, 1998; Sanderson y Doyle, 2001). Asimismo un muestreo inadecuado tiene un efecto en la reconstrucción de estados ancestrales de carácter (Cunningham, et al., 1998; Madison y Madison, 2010) y en el análisis de los cambios de tasas de diversificación (Chan y Moore, 2002). Por estas razones, una parte importante de este trabajo fue el mayor esfuerzo de inclusión en el muestreo de Pachycereae-centrales hasta alcanzar casi el total de las especies del grupo, y todos los géneros que componen a Pachycereae-centrales, buscando incluir la mayor diversidad morfológica, ecológica y geográfica dentro del territorio mexicano. El interés principal fue construir una filogenia lo suficientemente robusta para permitirnos fecharla y obtener las edades de ciertos nodos y también comprobar que existe heterogeneidad de tasas de diversificación dentro de Pachycereae-centrales y lograr una reconstrucción de estados ancestrales de carácter realista.

La filogenia que se obtuvo para Phyllostomidae tiene una representación muy alta de las especies que componen la familia, aproximadamente del 65%. En este caso la principal motivación de la reconstrucción filogenética fue obtener fechas confiables, sobre todo para los géneros que potencialmente pudieran haber desempeñado un papel relevante en la diversificación de Pachycereae-centrales, lo que implica que tengan una dieta basada en polen y néctar y que compartan la distribución geográfica. De esta manera se incluyeron todos los representantes posibles de la subfamilia Glossophaginae, así como miembros de Phyllostomidae de los que se tuviera información temporal del registro fósil o de estimados moleculares. (Flores-Abreu, 2007).

## VII.II Reconstrucción e Interpretación de la filogenia de Pachycereeae-centrales

Elegimos los marcadores moleculares *trnL-trnF* y *rpl16* para la reconstrucción filogenética, debido a que han sido reportados anteriormente como marcadores que proporcionan estimados de las relaciones filogenéticas en cactáceas (Arias et al., 2003, 2005; Hernández-Hernández et al., 2010) y en otros grupos de plantas (Mes, et al., 1994; Downie, 2000). Esto se debe a que como son fragmentos no codificantes, su baja presión de selección incrementa la posibilidad de que tengan una alta tasa de sustitución. También fueron elegidos debido a que las secuencias de muchas de las especies de interés se encontraban disponibles en GenBank.

Para poder lograr los objetivos de este proyecto fue necesario realizar un estudio filogenético de secuencias de los marcadores de cloroplasto *trnL-trnF* y *rpl16* incluyendo estimaciones de fechas de origen de Pachycereeae-centrales y la tasa de diversificación del grupo y de algunos clados dentro de este. Posteriormente fue necesario hacer un estudio de heterogeneidad de tasas y una reconstrucción de estados ancestrales de carácter.

Para poder hacer estas inferencias fue necesario contar con una filogenia resuelta. Para obtenerla obtuvimos una hipótesis de las relaciones filogenéticas entre las secuencias mediante el método de máxima verosimilitud. Adicionalmente realizamos un cladograma mediante parsimonia para constatar que las relaciones de parentesco fueran congruentes entre los dos métodos. Ambas filogenias son congruentes en cuanto a que se encuentran las subtribus Pachycereineae, y Stenocerineae como grupo hermano de *Echinocereus*. Sin embargo las relaciones a nivel intra e intergenérico no son muy claras en el árbol de parsimonia debido al notable número de politomías.

Asimismo aprovechamos nuestros datos para calibrar un reloj molecular relajado para realizar estimaciones nuevas de las fechas de divergencia de Pachycereeae-centrales y de algunos clados dentro de este grupo. El clado Pachycereeae-centrales ha tenido una amplia diversificación de plantas columnares y arbustivas que han sido objeto de estudios de morfología de la semilla (Barthlott y Hunt, 1993), anatomía sistemática (Gibson & Horak 1978), anatomía del xilema secundario (Gibson 1978; Terrazas et al., 2005; Terrazas y Loza-Cornejo, 2002) y sistemática (Gibson et al., 1986;

Cornejo y Simpson, 1997; Terrazas y Loza-Cornejo, 2002; Wallace, 2002; Arias et al., 2003; 2005; Hernández-Hernández et al., 2011). Sin embargo, aun no hay estudios moleculares y anatómicos comparativos de las especies de cada uno de los géneros clasificados en Pachycereeae-centrales en busca de caracteres que apoyen la circunscripción genérica y específica (Terrazas y Loza-Cornejo, 2002).

A pesar de que utilizamos el concepto de Anderson (2001) como parámetro de referencia inicial para delimitar al clado Pachycereeae-centrales, la filogenia que estimamos tiene un alta coincidencia con estudios moleculares anteriores que se han realizado para el grupo (Arias et al., 2003 y 2005; Bárcenas et al., 2011; Hernández-Hernández et al., 2011). A continuación se compara la filogenia estimada en este trabajo mediante ML con la filogenia obtenida por Arias et al. (2005) y por Bárcenas et al. (2011). El árbol de Arias et al., (2005) se derivó de un análisis de parsimonia basado en los marcadores *rpl16* y *trnL-trnF* de 98 especies representativas de Pachycereeae *sensu* Anderson (2001) y el de Bárcenas et al. (2011) se derivó de un análisis Bayesiano basado en el marcador *trnK-matK* de 532 especies representativas de la familia Cactaceae.

Aunque la filogenia estimada en este trabajo presenta valores de soporte bajos en algunos nodos, coincide con la filogenia de Pachycereeae publicada por Arias et al. (2005) en la formación de las dos subtribus Pachycereinae y Stenocereinae. También coinciden en que el género *Neobuxbaumia* grupo hermano de *Cephalocereus* que forma un grupo monofiléticos. Al igual que *Echinocereus*, estos géneros forman parte de la subtribu Stenocereinae en la filogenia estimada en este trabajo, inclusive en la filogenia de Arias et al. (2005) *Echinocereus* es considerado el grupo hermano de la subtribu Stenocereinae.

Las géneros de hábito columnar y que se distribuyen en México (*Carnegia*, *Cephalocereus*, *Escontria*, *Myrtillocactus*, *Neobuxbaumia*, *Pchycereus* y *Stenocereus*) se agrupan en ambas filogenias dentro de las subtribus Stenocereinae y Pachycereinae. La posición filogenética de los géneros *Peniocereus*, *Pseudoachantocereus* y *Acanthocereus* como miembros de la tribu Hylocereeae (Brabvo-Hollis, 1978), Echinocereae (Buxbaum,1969), o Pachycereeae (Anderson 2001) ha sido muy debatida. Nyffeler (2002) propone que las tribus *Hylocereeae*,

*Pachycereeae* y *Leptocereeae* junto con los géneros *Austrocactus* y *Corryocactus* forman un clado monofilético al que nombra *ACHLP*, el cual contiene 25 géneros y 250 especies con hábito predominantemente columnar y trepador, y dos diferentes grupos de epífitas (*Pfeiffera* y la tribu *Hylocereeae*). Este grupo fue denominado como *Echinocereeae* por Bárcenas et al. (2011).

Asimismo la filogenia que obtuvimos coincide con la filogenia obtenida por Bárcenas et al. (2011) en que ambas recuperan como grupo monofilético a las dos subtribus *Pachycereinae* y a *Stenocereinae* con su grupo hermano *Echinocereus*, este grupo monofilético es el que aquí nombramos *Pachycereeae*-centrales. Sin embargo es muy importante realizar un trabajo taxonómico detallado para el género *Peniocereus* pues existen especies que son clasificadas dentro de la tribu *Hylocereeae* y otras dentro de *Pachycereeae*-centrales (Arias et al., 2005; Bárcenas et al., 2011) de esta manera *Pachycereeae*-centrales es parafilético.

La filogenia de Bárcenas et al. (2011) también coincide con la obtenida en este trabajo mediante ML en que los géneros *Myrtillocactus* y *Polaskia* forman grupos monofiléticos. No se pueden hacer más comparaciones a nivel inter e intra genérico entre estas dos filogenias debido a que la filogenia de Bárcenas et al. (2011) tiene muchas politomías, es decir muchos nodos sin resolver.

Las diferencias que encontramos con las demás filogenias (Arias et al., 2005; Bárcenas et al., 2011) probablemente se deben a los marcadores moleculares que utilizamos y al método de estimación filogenética, que es diferente tanto en la de Arias et al (2005), ya que ellos utilizaron estimados basados en parsimonia y esto puede ocasionar atracción de ramas largas, como en la de Bárcenas et al., (2011) que utilizaron el método Bayesiano y únicamente un solo marcador. También el muestreo es diferente entre las filogenias, por lo que las agrupaciones de las especies se pueden ver afectadas.

Aunque los clados más importantes se recuperan en el análisis realizado, algunos con valores de apoyo altos, las relaciones entre todos los linajes dentro de *Pachycereeae*-centrales aún no son, pues encontramos varias ramas terminales que no están resueltas. Entender las relaciones evolutivas entre los linajes del grupo sería de gran interés en la interpretación de la evolución de los caracteres que se asocian a la

evolución de las formas florales, así como los factores que han conducido estas diferencias al interior del grupo. El muestreo taxonómico tiene un efecto importante en la estimación de las filogenias (Felsenstein, 1978), es por eso que debe ser re-evaluado en el contexto de un aumento en el número de marcadores para realizar análisis combinados que nos permitan resolver las relaciones de este gran clado. (Nyffeler, 2002).

### VII.III Estimación de las edades en las filogenia de Pachycereeae-centrales

Utilizamos como punto de calibración para realizar la fechación de Pachycereeae-centrales el intervalo de edades obtenido por Hernández-Hernández (2010), que utilizó dos fósiles de familias cercanas a Cactaceae: el primero es una infrutecencia asignada a la familia Phytolacaceae (Ceballos-Ferriz et al., 2008) del Campaniano tardío (72.3-71.3 Ma) y el segundo fue una calibración puntual de edad mínima en el que utilizó un fósil de una inflorescencia de la familia Caryophyllaceae (Collinson et al., 1993) del Eoceno medio-tardío (40-43 Ma.) La edad estimada para la familia Cactaceae fue 29.97 Ma para el grupo troncal y de 17.39 Ma para el grupo corona, y obtuvo la edad de origen del grupo corona de Pachycereeae-centrales dentro de un intervalo de 1.71-9.93 Ma. Debido a que las cactáceas tienen un registro fósil muy pobre y poco confiable, no es posible usar este tipo de datos para hacer una calibración del origen de la familia y ni al interior de la familia. Por esta razón se utilizaron puntos de calibración en grupos cercanos a la familia.

Según el método de fechación que utilizamos en el programa BEAST1.6.1, Pachycereeae-centrales inició la diversificación que originó las especies actuales hace 9.07 Ma. Esta edad de diversificación estimada para Pachycereeae-centrales coincide con la edad estimada para los géneros de murciélagos nectarívoros *Glossophaga* y *Leptonycteris* con una edad de 10.19 y 7.76 Ma respectivamente, lo cual apoya nuestra hipótesis que plantea que parte de la diversidad Pachycereeae-centrales está dada por una coevolución (simple o difusa) con murciélagos polinizadores de la subfamilia



Glossogphaginae (Phyllostomidae, Chiroptera, Mammalia). Como en todos los casos de evolución difusa, es probable que los murciélagos hayan tenido una relación más antigua con las cactáceas como dispersores de semillas a través de la frugivoría.

Asimismo, la edad de diversificación estimada para Pachycereae-centrales coincide con un incremento en las condiciones secas en el centro de México, ya que evidencias geológicas sugieren que hubo actividad volcánica hace 23-15 Ma (Graham, 2010) incrementando las zonas de aridez en el centro de México, lo anterior sugiere, junto con la gran diversidad morfológica del grupo y el alto número de especies que alberga, que es resultado de una rápida diversificación. También el centro de diversificación de Pachycereae-centrales coincide con el levantamiento de la Sierra Madre Occidental a lo largo de la costa Oeste de México y a el Eje Volcánico Transversal en el centro de México (Graham, 2010), el levantamiento y la complejidad topográfica de estas áreas debieron generar condiciones ecológicas locales muy particulares y aislamiento geográfico que contribuyó al aumento en la diversificación de Pachycereae-centrales (Hernández-Hernández, 2010)

La fecha de divergencia estimada para Pachycereae-centrales también coincide con un aumento en las tasas de especiación hace aproximadamente 8-10 Ma de *Agave sensu lato* (Good-Ávila et al., 2006) y con el origen del género *Yucca* hace aproximadamente 13-18 Ma (Good-Ávila et al., 2006). Varios estudios sugieren que las especies de plantas adaptadas a zonas semi-áridas de América han sufrido radiaciones paralelas en los últimos 10 millones de años (Good-Ávila et al., 2006; Gómez, 2010 y Graham, 2010).

La edad estimada para las subtribus Pachycereinae y Stenocereinae son de 6.68 Ma y de 5.21 Ma respectivamente, (para su grupo corona). La mayoría de las especies de estas dos subtribus se distribuyen en México, únicamente dos especies no se encuentran en el territorio nacional (*Pachycereus lepidanthus* y *P. hirschtianus* en Guatemala, *Stenocereus peruvianus*, en Puerto Rico; y *S. aragonii* en Costa Rica). La mayoría de las especies que conforman estas dos subtribus son de hábito columnar o candelabriforme. Sin embargo la edad estimada del inicio de la diversificación de *Echinocereus* es de 6.19 Ma. Este grupo está conformado por especies que no son de hábito columnar, o columnares enanas (*Echinocereus*) que se distribuyen hasta los

lugares más fríos de América del Norte. Es probable que la reducción en tamaño esté relacionada a la utilización de sitios más xericos y fríos (Comentario personal. Dr. Búrquez).

Las tasas de diversificación fueron estimadas con base en la riqueza de especies y la edad del clado. Dado un número de especies de un clado, si se le asigna una edad equivocada puede sobreestimar o subestimar las tasas de diversificación (Magallón y Castillo, 2009). El muestreo taxonómico tiene un efecto importante en la estimación de las tasas y edades de los clados (Sanderson y Doyle, 2001). En lo que se refiere a la estimación de las fechas, la sensibilidad a un muestreo deficiente varía entre los diferentes métodos. Debido a que el punto de calibración tiene una influencia directa en los estimados de edad y consecuentemente en las tasas de diversificación, es importante considerar las alternativas más sólidas para obtener edades de calibración confiables en los análisis de fechación.

#### VII.IV Análisis de tasas de diversificación de Pachycereeae-centrales

Las Pachycereeae-centrales no solo tiene una diversidad muy alta en número de especies, sino que también presenta mucha diversidad ecológica y morfológica. (Barthlott y Hunt, 1993). También presenta una diversidad mayor en número de especies en comparación con otros cactus de hábito columnar como la tribu Brownigneae (Barthlott y Hunt, 1993) de América del Sur.

Las Pachycereeae-centrales tiene una alta tasa de diversificación (0.3379-0.2045 sp/Ma) si se compara con la tasa de diversificación promedio de las angiospermas (0.0781-0.0909 sp/Ma; Magallón y Castillo, 2009). Esta tasa es cercana a la tasa de diversificación de promedio de *Agave sensu lato* (0.53sp/Ma; Good-Ávila et al.2006) y es mayor a la del subgénero *Acacia* (0.294-0.186 sp/Ma; Gómez, 2010). Este valor se encuentra dentro del intervalo observado para géneros de plantas que han sido identificados como grupos que experimentan tasas rápidas en una relativa diversificación reciente (Good-Ávila et al., 2006). La tasa de diversificación de

Pachycereeae-centrales también está cerca de altas tasas en otros grupos en periodos de radiación elevada como 0.56 sp/Ma en silversword alliance (*Argyroxiphium*, *Dubautia*, *Wilkesia*; Compositae) 0.717-0.832 sp/Ma en *Gaertera* (arbustos de islas oceánicas) y 0.85sp/Ma. en la radiación en América del Sur de *Gentianella* (Baldwin y Sanderson, 1998) (Tabla 9)

Lo anterior, aunado a la edad de origen del clado, nos hace pensar que el alto número de especies de Pachycereeae-centrales es resultado de una radiación reciente y no de la acumulación de especies en un largo periodo de tiempo. Entendiendo por radiación una rápida diversificación de especies caracterizada por el incremento en la diversidad morfológica y ecológica de un linaje (Linder, 2008), en el caso de Pachycereeae-centrales existen diferentes formas de vida como es la columnar, la candelabroform, la arbustiva, la columnar enana y la trepadora; así como una gran diversidad de formas florales que sin embargo pueden reducirse a una forma básica.

Las tasas de diversificación no son constantes dentro de la tribu, por ejemplo la tasa de diversificación más baja es la del género *Myrtillocactus* (0.2350- 0.0687 sp/Ma) para el grupo corona, mientras que la más alta comprende al género *Stenocereus* es (0.6682-0.3192 sp/Ma) también para el grupo que inició la diversificación que originó las especies vivientes (grupo corona) (Tabla 9).

La gráfica de linajes a través del tiempo provee aproximaciones a las tasas de diversificación y puede ser instructivo en un marco comparativo (Ricklefs et al., 2007). En la gráfica de linajes a través del tiempo de la tribu Pachycereeae observamos que el número de linajes aumenta conforme pasa el tiempo. También observamos cambios en las tasas de acumulación de especies como variaciones en la pendiente de la curva en distintos tiempos. Por ejemplo, se pudo observar que Pachycereeae-centrales tuvo una aceleración en la acumulación de especies hace aproximadamente 6 millones de años lo cual probablemente está relacionado con el origen del género *Echinocereus* (6.19 Ma) que tiene una tasa de diversificación alta y un gran número de especies, y también con el origen del género *Leptonycteris* (7.76 Ma) Esto coincide con que hace aproximadamente 5.3-1.8 Ma el clima en México comenzó a ser más húmedo y tropical, seguido de una glaciación que hizo en la cual el clima se hizo más seco y frío durante este periodo (Good-Ávila et al., 2006).. Lo cual pudo haber aumentado la diversificación

del grupo en esa época (Good-Ávila et al., 2006). Esto nos demuestra que no solo existe heterogeneidad de tasas de diversificación entre los clados internos en Pachycereeae-centrales, sino que también a lo largo del tiempo.

Existen factores que sesgan los estimados de tiempos de divergencia, como el muestreo taxonómico, el cual tiene una influencia significativa (Sanderson y Doyle, 2001) y los diferentes genes con diferentes tasas relativas, ya que se ha observado que las tasas de evolución molecular son heterogéneas entre linajes, entre genes y a través del tiempo, que pueden resultar en estimaciones substancialmente distintas (Sanderson y Doyle, 2001). Uno de los puntos más sensibles se refiere a la fechación de Cactaceae y Pachycereeae-centrales debido a la ausencia de puntos de calibración independientes filogenéticamente cercanos. Por lo tanto cabe la posibilidad de que una reconstrucción de la fechación de Cactaceae modifique el punto de calibración usado para fechar Pachycereeae-centrales, con consecuencias en las edades estimadas, y en las tasas de diversificación. Sin embargo, esto quedará pendiente a la disponibilidad de mejores puntos de calibración.

Tabla 9. Tasas de diversificación estimadas en este y otros estudios.

<b>Clado</b>	<b>Tasas de diversificación absoluta (sp/Ma)</b>	
<b>Angiospermas</b> Magallón y Castillo, 2009)	0.0781-0.0909	
<b>Eudicotiledoneae</b> (Magallón y Sanderson, 2001)	0.0811-0.0948	
<b>Core-Eudicots</b> (Magallón y Sanderson, 2001)	0.1016-0.1189	
<b>Agave sensu lato</b> (Good-Ávila et al., 2006)	0.53	
<b>Silversword Alliance</b> (Baldwin y Sanderson, 1998)	0.56	
<b>Gentianella</b> (Baldwin y Sanderson, 1998)	0.717-0.832	
<b>Acacia</b> (Gómez, 2010)	0.294-0.186	
<b>Caryophyllales</b> (Magallón y Castillo, 2009)	0.0739-0.0915	
<b>Cactaceae</b> (Hérendez-Hernández 2010)	0.285-0.380	
	<b>GC</b>	<b>GT</b>
<b>Pachycereeae-centrales</b>	0.3379-0.2045	-
<b>Neobuxbaumia</b>	0.2054-0.6462	0.1904-0.8412
<b>Stenocereus</b>	0.3192-0.6882	0.3138.-0.8254
<b>Myrtillocactus</b>	0.0550-0.2906	0.0687-0.2350

## VII.V Correlación entre mecanismos de polinización y tasas de diversificación.

Los resultados sugieren una asociación débil entre la diversificación de Pachycereae-centrales y la polinización por murciélagos sustentada en los resultados de SymmeTREE v11 y la correlación que existe entre las fechas de origen estimadas para Pachycereae-centrales y sus murciélagos polinizadores, la cual apoya la hipótesis de una coevolución difusa entre estos linajes. Sin embargo los resultados también señalan la posibilidad de que diferentes factores bióticos y abióticos ejerzan un efecto combinado que determina la diversificación del grupo. Esto debido a que únicamente en dos ramas de las cuatro que fueron detectadas en SymmeTREE v1.1 por tener un aumento marginalmente significativo de tasa de diversificación (Figura 11) están relacionadas al cambio de tipo de polinizador hacia murciélagos. Sin embargo, la alta dependencia de los murciélagos polinizadores en las cactáceas columnares, y las largas distancias que éstos recorren favorecen por un lado la ampliación de intervalos de distribución de una alta heterogeneidad ambiental como es el territorio mexicano, y por el otro, un incremento en el flujo genético entre poblaciones distantes entre si. Esto lleva a hipotetizar un equilibrio entre la dispersión a larga distancia acompañada de deriva genética por efecto fundados, y un mayor flujo genético direccional debido a los hábitos migratorios de los murciélagos. Estos dos factores evolutivos son los probables responsables de las altas tasas de diversificación de los clados polinizados principalmente por murciélagos.

Una visión sobre los sistemas de polinización es que estos tienden a la especialización. Esta visión está implícita en muchas discusiones de la evolución de las angiospermas y la coevolución planta-polinizador dentro del concepto de síndromes de polinización. Pero en realidad los sistemas de polinización son a veces más generalizados y dinámicos que lo que sugiere esta visión de pensamiento (Waser et al., 1996; Bustamante y Búrquez, 2010)

Los incrementos observados en las tasas de diversificación son atribuidos a una serie de factores como los atributos morfológicos intrínsecos y su interacción

con un ambiente particular; reestructuración del ecosistema, cambios ambientales, asociaciones mutualistas y ocupación de diferentes áreas geográficas, ya sea independientemente o en combinación (McConway y Sims, 2004; Smith et al., 2008; Moore y Donoghue, 2007; Yoder y Nuismer, 2010; Vamosi y Vamosi, 2011; Swenson, 2011), siendo las asociaciones mutualistas las de particular interés en este trabajo.

## VII.VI Correlación entre murciélagos nectarívoros y Pachycereae-centrales

Las fechas estimadas de diversificación de los murciélagos nectarívoros de los géneros *Glossophaga* entre 6.45 y 15.46 Ma (grupo corona) y *Leptonycteris* entre 4.46 y 12.3 Ma (grupo corona), coinciden con la fecha estimada de origen de Pachycereae-centrales entre 7.55 y 10 Ma. Esto apoya la hipótesis de una coevolución difusa entre estos linajes. Al aplicar el término coevolución difusa se entiende que las relaciones entre los participantes son laxas y que por lo tanto no existe una fuerte presión de selección hacia el otro participante. Por esta razón Thompson (2003) propone que una alternativa que permite explicar de una manera más precisa la interacción y evolución simultánea entre dos especies, es la llamada “Teoría del mosaico geográfico”. En esta teoría propone básicamente que el proceso evolutivo es altamente dinámico, por lo que las adaptaciones pueden aparecer o desaparecer debido a que algunas poblaciones se vuelven sumamente especializadas con respecto a un interactuante mientras que en otras tal interacción puede ser menos especializada. Asimismo, algunas de estas poblaciones podrían estar fuera del área de distribución geográfica de su especie interactuante, lo cual ocasiona la probable pérdida de algunas de las adaptaciones que le permitan interactuar, o el surgimiento de nuevas adaptaciones para establecer relaciones con otras especies. Por lo tanto, el curso

global de la coevolución entre dos o más linajes está impulsada por un mosaico geográfico, de interacciones siempre cambiantes.

Se ha propuesto que la relación entre los murciélagos de los géneros *Leptonycteris* y *Glossophaga* y las plantas de las que se alimentan (agaves y cactáceas columnares en zonas semi-áridas) es asimétrica (Sluason, 2001), ya que mientras ellos dependen del néctar y del polen (Mandujano et al, 2009, las cactáceas columnares se benefician de su polinización, pero la acción de los murciélagos no es indispensable. Sin embargo en los bosques secos los murciélagos de los géneros *Leptonycteris* y *Glossophaga* se alimentan principalmente de especies pertenecientes al clado Bombacoideae (Malvaceae), por lo que la dependencia del murciélago polinizador por las cactáceas columnares de Pachycereae-centrales presenta una gran variación poblacional al interior de las especies involucradas (Arita y Ceballos, 1997). Existen muchas semejanzas entre las cactáceas columnares y los agaves, desde la abundancia y diversidad que presentan en ambientes áridos neotropicales, hasta el tipo de interacción con los murciélagos polinizadores, el cual en ambos casos se cree que es menor mientras más al norte de su distribución se encuentren (Flores-Abreu, 2007), inclusive presenta semejanzas en el tipo de flor y en que presentan flores “altas” a sus polinizadores en zonas semi-áridas. Otro ejemplo muy claro de las semejanzas entre las cactáceas columnares y los agaves es el caso de la *Yucca* y *Pachycereus schottii* (senita), ambos polinizados por polillas específicas, *Teguetícula* “yucca-moth” y *Upigia virscense* “senita-moth” respectivamente. (Fleming y Holland, 1998; Armstrong, 1999).

El que los murciélagos sean polinizadores impredecibles se ha planteado como una de las mayores fuerzas ecológicas en la evolución del síndrome de polinización generalista de Pachycereae-centrales (Valiente-Baunet, 2002), constituyendo potencialmente un caso de coevolución difusa entre los linajes. Se han documentado cambios sutiles en la polinización de Pachycereae centrales y agaves, mientras más al norte se encuentren menor es la dependencia a murciélagos polinizadores y existe un mayor grado de polinización diurna, especialmente colibriés como en el caso de *Stenocereus alamosensis* (Bustamante y Búrquez, 2005). Estos cambios se ven reflejados en su síndrome de polinización: se pueden observar cambios de color en las

flores, cambio del horario de antesis, recorrimiento en el horario de pico de producción del néctar, así como la concentración de azúcares del néctar (Fleming, 2002).

Es probable que la coevolución difusa con murciélagos polinizadores de los géneros *Glossophaga* y *Leptonycteris* haya sido un factor importante pero no único en la diversificación de Pachycereae-centrales. Los resultados sugieren una asociación débil entre la diversificación de Pachycereae-centrales y la polinización por murciélagos, y más bien señalan la posibilidad de que diferentes factores bióticos y abióticos, por ejemplo, aridificación, asociación con otros polinizadores y desarrollo de cierta forma de crecimiento, ejerzan un efecto combinado que determina la diversificación del grupo.



## VIII. CONCLUSIONES

Según el método de fechación que utilizamos Pachycereae-centrales inició la diversificación de la cual derivan sus especies vivientes hace aproximadamente 9.07 Ma, por lo que es un clado que se originó recientemente. Lo anterior sugiere, junto con la gran diversidad morfológica y el alto número de especies, que es resultado de una radiación que ocurrió en relación con el aumento de zonas semi-áridas en México hace aproximadamente 23-15 Ma (Graham, 2010).

La tasa de diversificación calculada para al grupo corona de Pachycereae-centrales es de 0.3379-0.2045 sp/Ma, que es muy alta si se le compara con la tasa promedio obtenida para las angiospermas, y con otros grupos dentro de las angiospermas tanto de zonas semi-áridas como de otros ambientes. Los resultados muestran que la tasa de diversificación no es constante dentro de Pachycereae-centrales ni en el tiempo. Los estimados del tiempo de origen de Pachycereae-centrales son relativamente recientes, y junto con las altas tasas de diversificación estimadas, sugieren un proceso de radiación reciente.

La detección de incrementos significativos en las tasas de diversificación es un criterio objetivo para determinar los factores que promueven la diversificación de un linaje. Después de detectar dicho patrón y de conocer los estados ancestrales en una filogenia, se puede encontrar apoyo circunstancial a una hipótesis sobre posibles explicaciones causales de la diversificación de un linaje. Las causas pueden ser extrínsecas, como por ejemplo los cambios climáticos, o interacciones o relaciones o intrínsecas, como la evolución de atributos morfológicos determinados, en este caso el síndrome de polinización. En el caso de las Pachycereae-centrales los incrementos en las tasas de diversificación al interior del clado están débilmente relacionados con la adquisición de polinización por murciélagos.

Los miembros de Pachycereae-centrales son elementos constitutivos de los paisajes florísticos en zonas semi-áridas de América, y determinantes en los procesos ecológicos en sus diferentes ecosistemas. Es posible que su diversificación responda a elementos extrínsecos como la aridificación de las regiones geográficas en donde se distribuyen, a la evolución de características florales que permiten tipos de polinización particulares y a la evolución de formas particulares de crecimiento.

Las fechas estimadas de los murciélagos nectarívoros de los géneros *Glossophaga* entre 6.45 y 15.46 Ma (grupo corona) y *Leptonycteris* entre 4.46 y 12.3 Ma (grupo corona), coinciden con la fecha estimada de origen de Pachycereae-centrales entre 7.55 y 10 Ma, lo cual apoya la hipótesis de una coevolución difusa entre estos linajes. Esta coevolución difusa con murciélagos polinizadores no parece ser el único factor promotor de la diversificación de Pachycereae-centrales, ya que nuestros resultados sugieren una asociación débil entre la diversificación de Pachycereae y la polinización por murciélagos. Más bien señalan la posibilidad de que diferentes factores bióticos y abióticos ejerzan un efecto combinado que determina la diversificación del grupo, aunque la polinización por murciélagos tuvo un efecto importante.

## IX. REFERENCIAS

- Aguirre-Planter, E., J. P. Jaramillo-Correa, S. Gómez-Acevedo, D. P. Khasa, J. Bousquet, L. E. Eguiarte. 2012. Phylogeny, diversification rates and species boundaries of Mesoamerican firs (abies, Pinaceae) in genus-wide context. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 62: 263, 274.
- Anderson, E. F. 2001. The cactus family. Portland Timber Press, Oregon, EUA.
- Avise, J.C. 2000. Phylogeography: the history and formation of species. Harvard University Press. EUA
- Arias, S., T. Terrazas y K. Cameron. 2003. Phylogenetic analysis of *Pachycereus* (Cactaceae, Pachycereeae) based on Chloroplas and Nuclear DNA Sequences. *Systematic Botany* 28 (3) 547-557.
- Arias, S., T. Terrazas, H. J. Arreola-Nava, M. Vázquez- Sánchez y K. Cameron. 2005. Phylogenetic Relationships in *Peniocereus* (Cactaceae) Inferred from Plastid DNA Sequence Data. *Journal of Plant Research*. 118: 317-328.
- Arita, H. T. y S. R. Humphrey. 1998 Revisión taxonómica de los murciélagos magueyeros del género *Leptonycteris* (Chiroptera: Phyllostomidae) *Acta Zoológica de México*. 29: 60-1
- Arita, H. T. y G. Ceballos. 1997. Los mamíferos de Mexico: distribución y estado de conservación. *Revista Mexicana de Mastozoología*. 2 23-71.
- Armstrong, W.P. 1999. The *Yucca* and Its Moth. *Zoonoos*. 72 (4): 28-31.
- Baker R., C. S. Hood y R. Honeycutt. 1989. Phylogenetic relationship and classification of the higher categories of the New World bat family Phyllostomidae. *Syst Zool*. 38:228-238.
- Baker, R. J., S. R. Hooper, C. A. Porter, R. A. Van Den Bussche. 2003. Diversification among New World leaf-nosed bats: an evolutionary hipótesis and classification inferred from digenomic congruente of DNA sequence. *Occ Pap Mus Tex Tech Univ*. 230: 1-32
- Bakker, F. T. 2000. Patterns of nucleotide substitution in angiosperm cpDNA *trnL*(UAA)–*trnF*(GAA) regions. *Mol Biol Evol* 17: 1146-1155.

- Baldwin, B. G. y M. Sanderson. 1998. Age and rate of diversification of the Hawaiian silversword Alliance (Compositae). *Proc. Nat. Acad. Sci.* 95: 9402-9406.
- Barbier, E. B. 1997. Ecológica economics, uncertainty and implications for policy setting priorities for diversity conservation. In Investing in Biological Diversity: The Cairns Conference. Organization for Economic Co-operation and Development, Paris 115-140.
- Barba-Montoya, J. A. 2009. Origen y diversificación de la tribu Pachycereeae (Cactaceae). Tesis de Licenciatura. UNAM. D.F. México.
- Bárcenas, R. T., C. Yesson y J. A. Hawkins. 2011. Molecular systematics of the Cactaceae. *Cladistics*. 27: 1-20.
- Barraclough T. G., A. T. Vogler y P. H. Harvey. 1998. Revealing the factors that promote speciation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B* 353: 241-250.
- Barraclough T. G y S. Nee. 2001. Phylogenetics and speciation. *TRENDS in Ecology and Evolution*. 16 No. 7.
- Barthlott, W. y D. R. Hunt. 1993. Cactaceae. In K. Kubitski [ed.], The Families and genera of vascular plants, 161-197. Springer-Verlag, Heidelberg, Alemania.
- Becerra, J. X. 1997. Insects on Plants: macroevolutionary chemical trends in host use. *Science*. (276) 253-256.
- Becerra, J. X. 2003. Synchronous coadaptation in an ancient case of herbivory. *PNAS*. 100 (22) 12804-12807.
- Berlocher, S. H. 1998. Can sympatric speciation be proven from phylogenetic evidence? En Howard, D. J. Y S. H. Berlocher. (Eds.) Endless Forms: Species and Speciation. Oxford University Press
- Bravo-Hollis, H. 1978. Las Cactáceas de México. Volumen I. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Bravo-Hollis, H. y L. Sheinvar. 1999. El interesante mundo de las cactáceas. Fondo de Cultura Económica. México.
- Bustamante, E. & A. Búrquez. 2005. Fenología y biología reproductiva de cactáceas columnares. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. 50(3): 68-88.

- Búrquez, A. y E. Bustamante. 2007. How to be ornitophilous: hummingbird pollination of the sonoran desert cactus *Stenocereus*. Poster Instituto de Ecología UNAM.
- Bustamante, E., Casas, A. y Búrquez, A. 2010. Geographic variation in reproductive success of *Stenocereus thurberi* (Cactaceae): effects of pollination timing and pollinator guild. *American Journal of Botany*. 97(12):2020-2030.
- Buxbaum, F. 1969. Die entwicklungswege der Kakteen in Sudamerika. En E. J. Fittkau, J. Illies, H. Klineg, G. H. Schwabe, and H. Sioli [eds.], Biogeography and ecology in South America, 583–623. W. Junk, The Hauge, Netherlands.
- Chan, K. M.A. & B. R. Moore. 2001. Whole-tree Methods for detecting diferencial diversification rates. *Syst. Biol.* 51(6):855-865.
- Chan, K. M.A. & B. R. Moore. 2005. SymmeTREE: whole-tree methods of differential diversification rates. *Bioinformatics* 21-8 1709-1710.
- Cevallos-Ferriz, S. R., E. Estrada-Ruiz y B. R. Pérez-Hernández. 2008. Phytolacaceae infrutescence from Cerro del Pueblo Formation, Upper, Cretaceous (late Campanian), Coahuila, México. *American Journal of Botany* 95:77-83
- Cervantes, A. 2008. Reconstrucción filogenética del clado mexicano de Manihot (Euphorbiaceae). Tesis de Maestría. UNAM. D.F. México.
- Cornejo, D. O. y B. B. Simpson. 1997. Análisis of form and function in north american columnar cacti (tribe Pachycereeae). *American Journal of Botany* 84(11): 1482-1501.
- Collinson, M. E., M. C. Boulter y P. L. Holmes. 1993. Magnoliophyta (“Angiospermae”). pp 809-841 en M. J. Benton, ed. The fossil record. Vol.2. Chapman and Hall, London.
- Crick, F. 1979. Split genes and RNA splicing. *Science* 204:264-271
- Cunningham, C. W., Omland, K. E. y Oakley, T. H. 1998. Reconstructing ancestral character states: a critical reappraisal. *TREE* 13(9): 361-366.
- Dafni, A., et al. 2003. Pollen and Pollination. Springer Wein New York. EUA.
- Dávila-Aranda P., Arias-Montes S, Lira-Saade R, Villaseñor JL, Valiente- Banuet A 2002. Phytogeography of the columnar cacti (tribe Pachycereeae) in México: a cladistic approach. En Fleming, T. H. y A. Valiente-Banuet. 2002. Columnar Cati and

Their Mutualists Evolution, Ecology and Conservation. The University of Arizona Press. EUA.

- Datzmann, T., et al. 2010. Evolution of nectarivory in phyllostomid bats (Phyllostomidae Gray, 1825, Chiroptera: Mammalia). *BMC Evolutionary Biology* 10:165.
- De-Nova, A., R. Medina, J. C. Montero, A. Weeks, J. Rosell, M. Mark, L. E. Eguiarte, S. Magallon. 2011. Insights into the historical construction of species-rich Mesoamerican Seasonally Dry Tropical Forest: the diversification of *Bursera* (Burceraceae, Sapindales). *New Phytologist*. En prensa.
- Downie, S. R., D. S. Katz-Downie y M. F. Watson. 2000. A phylogeny of the flowering plant family Apiaceae based on chloroplast DNA rpl16 and rpoC1 intron sequences: towards a supergeneric classification of subfamily Apioideae. *American Journal of Botany* 87(2): 373-292.
- Drummond, A.J. y A. Rambaut. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* 7:214.
- Drummond, A. J., S. Y. W. Ho, M. J. Phillips y A. Rambaut. 2006. Relaxed Phylogenetics and Dating with Confidence. *PLoS Biology* 4(5): 0699-0710.
- Durante, G., F. Quiaglino, P. Atillio-Bianco y P. Casati. 2007. Sequencing of the ribosomal protein gene rpl16 from 'Candidatus Phytoplasma ulmi' infecting a historic *Ulmus minor*. *Bulletin of Insectology* 60 (2) 361-362.
- Edgar, R. C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research* 32(5), 1792-97.
- Edwards, E. J., R. Nyffeler y M. J. Donoghue. 2005 Basal Cactus Phylogeny: implications of *Pereskia* (Cactaceae) Paraphyly For The Transition For The Cactus Life Form. *American Journal of Botany* 92(7): 1177-1188.
- Egan, A. N. y K. A. Crandall. 2008. Divergence and diversification in North American Psoraleeae (Fabaceae) due to climate change. *BMC Biology*. 6:55 doi:10.1186/1741-7007-6-55.
- Farias, I. P., G. Ortí; I. Sampaio, H. Schneider y A. Meyer. 2001. The cytochrome b gene as a phylogenetic marker. The limits of resolution for analyzing relationships among cichid fishes. *Journal of Molecular Evolution* 53:89-103.

- Faegri, K. y L. van der Pijl. 1979. The principles of pollination ecology. 3<sup>a</sup> ed. Pergamon, Oxford. Reino Unido.
- Felstenstein J. 1978. Cases in which parsimony or compatibility methods will be positively misleading. *Systematic Zoology* 27:401-410.
- Fleming T.H. 1993. Plant-visiting bats. *American Scientist*. 81: 460-467.
- Fleming, T. H. y J. N. Holland. 1998. The evolution of obligate pollination mutualisms: sentia cactus and seita moth. *Oecología* 144:368-375.
- Fleming T. H., C. T. Sahley, J. N. Holland, J. D. Nason, J. L. Hamrick. 2001. Sonoran Desert Columnar Cacti and the Evolution of Generalized Pollination Systems. *Ecological Monographs* 71(4): 511-530.
- Fleming, T. H. y A. Valiente-Banuet. 2002. Columnar Cacti and Their Mutualists Evolution, Ecology and Conservation. The University of Arizona Press. EUA.
- Fleming, T. H., C. Geiselman y W. John Krees. 2009. The evolution of bat pollination: a filogenetic perspective. *Annals of Botany* 104(6): 1017-1043.
- Flores-Abreu, I. N. 2007. Coevolución entre *Agave sensu lato* y sus murcielagos polinizadores (Phyllostomidae). Tesis de Maestría. UNAM. D.F. México.
- Frankel, R. y E. Galum. 1977. Pollination Mechanisms, Redproduction and Plant Breeding. Springer Verlag. E.U.A.
- Futuyma, D.J y M. Slatkin. 1983. Coevolution. Sinauer Associates, Inc. EUA.
- Futuyma, D. J. 1987. On role of species in anagénesis. *American Naturalist* 130:465-473.
- Futuyma, D. J. 1998. Evolutionary Biology. 3<sup>a</sup> ed. Sinauer. EUA.
- Gaut, B., L. Yiang, S. Takuno y L. E. Eguiarte. 2011. The patterns and causes of variation in plant nucleotide substitution rates. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 42: 245-266.
- Gibson, A. C., K. C. Spencer , R. Bajaj y J. L. McLaughlin. 1986. The ever-changing landscape of cactus systematics. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 73: 532-555.
- Gibson, A. C. y K. E. Horak. 1978. Systematic Anatomy and Phylogeny of Mexican Columnar Cacti. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 65: 999-1057.

- Gibson, A. C. 1982. Phylogenetic Relationships of Pachycereae. In *Ecological Genetics and Evolution*. Sydney Academic Press EUA.
- Gibson, A. C. y P. S. Nobel. 1986. *The Cactus Primer*. Harvard University Press. EUA.
- Gómez, S. 2010. Estudio comparativo de las tasas de diversificación de los subgéneros neotropicales de *Acacia* (Leguminosae: Mimosidae) en México. Tesis de Doctorado. UNAM. D.F. México.
- Good-Avila S. V., V. Sousa, B. Gaut y L. Eguiarte. 2006. Timing and rate of speciation in *Agave* (*Agavaceae*). *PNAS* 103(24)
- Griffiths, T. A. 1982. Systematics of the New World nectar-feeding bats (Mammalia: Phyllostomidae) based on the morphology of the hyoid and lingual regions. *Am Mus Novit* 27(42):1-45.
- Graham, A. 2010. *Late Cretaceous and Cenozoic History of Latin American Vegetation and Terrestrial Environments*. Missouri Botanical Garden Press. EUA.
- Hernández-Hernández, T. 2010. Radiaciones evolutivas de linajes de plantas suculentas en el orden Caryophyllales, con énfasis en la familia Cactaceae. Tesis de Doctorado. UNAM. D.F. México.
- Hernández-Hernández, T., H. M. Hernández, J. A. De-Nova, R. Puente, L. E. Eguiarte y S. Magallón. 2011. Phylogenetic relationships and evolution of growth form in Cactaceae (Caryophyllales, Eudicotyledoneae). *American Journal of Botany* 98(1): 44-61.
- Hillis, D. M., C. Moritz y B. K. Mable. 1996. *Molecular Systematics*. Second Edition. Sinauer Associates, Inc. EUA.
- Holder M. y P. O. Lewis. 2003. Phylogeny estimation: traditional and Bayesian approaches. *Nature Reviews*. 4: 275-284.
- Holland, J. N., D. L. DeAngelis, and J. L. Bronstein. 2002. Population dynamics and mutualism: Functional responses of benefits and costs. *The American Naturalist* 159: 231-244.
- Howell, D. J. 1974. Bats and pollen: physiological aspects of syndrome of chiropterophily. *Comparative Biochemistry and Physiology* 48 A: 263-276



- Huelsenbeck, J. P y F. Ronquist. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of filogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 745-755.
- Hunt, D. R. 1999. CITES. Cactaceae checklist. 2º ed. Milborne Port: Royal Botanical Gardens and International Organization for Succulent Plant Study. Reino Unido.
- Hunt, D., N. Yaylor y G. Charles. 2006 The New Cactus Lexicon. D. H Books. Reino Unido.
- Kendall, D. G. 1948. On the generalized “birth-death” proces. *Annals of Mathematical Statistics* 19: 1-15.
- Linder, H. P., C. R. Hardy y F. Rutschmann. 2005. Taxon sampling effects in molecular clock dating: An example from the African Resionaceae. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 35: 569-582.
- Maddison, D. R. y W. P. Maddison. 2005. MacClade 4.08. Sinauer Associates, Inc. EUA.
- Maddison, W. y D. Maddison. 2010. Mesquite: A modular system for evolutionary analysis, versión 2.73.
- Magallón, S. 2004. Dating Linages: Molecular and Paleontological Approaches to the Temporal Framework of Clades. *International Journal of Plant Science*. 165(4 Suppl.):S7-21.
- Magallón, S. y A. Castillo. 2009. Angiosperms diversification through time. *American Journal of Botany* 96(1): 1-17.
- Magallón, S. A. 2009. Informe anual del proyecto PAPIIT-UNAM 202310.
- Mandujano, M., C. Montaña, M. Franco, J. Golubov y A. Flores-Martínez. 2001. Integration of demographic annual variability in a clonal desert cactus. *Ecology* 82(2): 344-359.
- Mandujano, M., I. Carrillo-Angeles, C. Martínez-Peralta, y J Golubov. 2010. Reproductive Biology of Cactaceae. En Ramawat, K. G. Desert Plants . Springer. EUA.
- McConway, K. J. y H. J. Sims. 2004. A likelihood-based method for casting for non-stochastic variation of diversification rates in phylogenies. *Evolution*. 48: 12-23
- McKenna, M. C. Y S. K. Bell. 1997 Classification of mammals above the species level. Columbia Univ. Press. EUA

- Mes, T. H. y T. H. Hart. 1994. *Sedum surculosum* and *S. jaccardianum* (Crassulaceae) share a unique 70 bp deletion in the chloroplast DNA *trnL* (UAA)–*trnF*(GAA) intergenic spacer *PI Syst Evol* 193: 213-221.
- Meyers, N., R. A. Mittermeier, C. G. Mittermeier, G. A. B. da Fonseca y J. Kent. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403.
- Morgan, G. S. 2002. New bats in the Neotropical families Emballonuridae and Mormoopidae from the Oligocene and Miocene of Florida, and the biochronology of Florida Whitneyan, Arikareean, and Hemingfordian faunas. *J Vert Paleont.* 22(Suppl 3): 90.
- Moore, B. R. y M. J. Donoghue. 2007. Correlates of Diversification in Plant Clade Dipscales: Geographic movement and evolution of innovations. *The American Naturalist* 170: S28-S55.
- Nassar, J. M., N. Ramírez y O. Linares. 1997. Comparative pollination biology of venezuelan columnar cacti and the role of nectar-feeding bats and their sexual reproduction. *American Journal of Botany.* 84(7): 918-927.
- Nee, S., A. Mooers y P. H. Harvey. 1992. Tempo and mode of evolution revealed from molecular phylogenies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89(17):8322–8326.
- Nee, S., E. C. Holmes, R. M. May y P. H. Harvey. 1994. Extinction rates can be estimated from molecular phylogenies. *Philosophal transactions of the Royal Society of London.* B 344, 77-82.
- Nicholson, S. W., et al. 2007. *Nectaries and Nectar*. Springer. Holanda.
- Nixon, P. y C. Davies. 1991. Polymorphic taxa, missing values and cladistic analysis. *Cladistics* 7:233-241
- Nobel, P. S. 2002. *Cacti Biology and Uses*. University of California Press, Berkley, California, EUA.
- Nyffeler, R. 2002. Phylogenetic relationships in the cactus family (Cactaceae) based on evidence from *TRNK/ MATK* and *TRNL-TRNF* sequences. *American Journal of Botany* 89(2): 312-326.
- Nelson D. L. y M. M. Cox. 2005. *Lehninger Principles of Biochemistry* (4<sup>a</sup> edición). W. H. Freeman. EUA

- Ollerton, J., R. Alarcón, N.M. Waser, M.V. Price, S. Watts, L. Cranmer, A. Hingston, C.I. Peter y Rotenberry, J. 2009. A global test of the pollination syndrome hypothesis. *Annals of Botany* doi:10.1093/aob/mcp031
- Pagel., M. 1999. Inferring the historical patterns of biological evolution. *Nature* 401.
- Posada, D y K. A. Crandall. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bionformatics* 14(9): 817-818.
- Posada, D y K. A. Crandall. 2001. Selecting the Best-Fit Model of Nucleotide Substitution. *Systematic Biology*. 50(4):580-601.
- Posada, D y T. R. Burckley. 2004. Model Selection and Model Averaging in Phylogenetics: Advantages of Akaike Information Criterion and Bayesian Approaches Over Likelihood Ratio Test. *Systematic Biology*. 55(5):793-808.
- Rabosky D. L. 2006 Likelihood methods for detecting temporal shifts in diversification rates. *Evolution* 60:1152-1164.
- Rambaut, A. 2002. *Se-Align* sequence alignment editor, v2.0a11. Department of Zoology, University of Oxford, Oxford.
- Rambaut, A . <http://tree.bio.ed.ac.uk/>
- Real, L. 1983. *Pollination Biology*. Academic Press, INC. Florida, EUA.
- Ricklefs R. E., et al. 2007. Evolutionary diversification of clades of squamate reptiles. *J. Evol. Biol.* 20: 1751-1762.
- Rojas-Sandoval, J. E. Meléndez-Ackerman. 2009. Pollination Biology of *Harrisia Portoricensis* (Cactaceae), an endangered Caribbean Species. *American Journal of Botany* 96(12) 2270-2278.
- Rzedowski, J. 1993. Diversity and origins of the phanerogamic flora in Mexico, pp 129-144. En: Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot y J. Fa (eds.) *Biological Diversity of Mexico*. Oxford University Press. New York, USA.
- Sahley, C. T. 1996. Bat and hummingbird pollination of an autotetraploid columnar cactus, *Weberbauerocereus weberbaueri* (Cactaceae). *American Journal of Botany* 83(10): 1329-1336.
- Sanderson, M. J. 1997. A nonparametric approach to estimating divergence times in the absence of rate constancy. *Mol. Biol. Evol* 14: 1218–1231.

- 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(8): 1499-1516.
- Sanderson, J. M. 2003. r8s: Inferring absolute rates of molecular evolution and divergence times in the absence of molecular clock. *Bioinformatics* 19(2): 301-302.
- Sanderson, J. M. 2004. r8s, version 1.70. Section of Evolution and Ecology, University of California, Davis, USA.
- Schnabel, A. y J. F. Wendel. 1998. Cladistic biogeography of Gleditsia (Leguminosae) based on ndhF and rpl16 chloroplast gene sequences. *American Journal of Botany* 85(12): 1753-1765.
- Silva-Montellano, A. y L. E. Eguiarte. 2003. Geographic patterns in the reproductive ecology of *Agave lechuguilla* (Agavaceae) in Chihuahuan desert: Floral characteristic, visitors, and fecundity. *American Journal of Botany*. 90: 377-387.
- Sluason, L. A. 2001. Insights of the pollination biology of Agave (Agavaceae). *Haseltonia* 8: 10-23.
- Smith, C. I., O. Pellmyr, D. M. Althoff, M. Balcazar-Lara, J. Leebens-Mack y K. A. Segraves. 2007. Pattern and timing of diversification in Yucca (Agavaceae): specialized pollination does not escalate rates of diversification. *Proc. R. Soc B*. 275: 249-258.
- Soriano, P. J. y A. Ruiz. 2002. The role of bats and birds on the reproduction of columnar cacti in northern Andes. Pp. 241-263, *in*: Fleming, T.H. & A. Valiente-Banuet (eds.). Evolution, Ecology and Conservation of columnar cacti and their mutualists. Arizona University Press, Tucson
- Sosa, M. y P. J. Soriano. 1991. Dieta del murciélago *Glossophaga longirostris* y su relación con los patrones fenológicos de las cactáceas columnares. II Simposio - Taller: Frugivoría y Dispersión de Semillas. Los Tuxtlas, México.
- Stamatakis, A. 2006. RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics* 22 (21): 2688-2690.
- Stanley, G. L. 1979. Macroevolution. Freeman, San Francisco, California, USA.

- Stebbins, G. D. 1951. Natural selection and the differentiation of angiosperm families. *Evolution* 5: 299-324.
- Stebbins, G. D. 1970. Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms. I. Pollination mechanisms. En: *Annual Review of Ecology and Systematics* 1.
- Swenson, N. G. 2011. The role of evolutionary process in producing biodiversity patterns, and the interrelationship between taxonomic, functional and phylogenetic biodiversity. *American Journal of Botany* 93(3): 000-000.
- Swofford, D. 2002. PAUP\*. Phylogenetic analysis using Parsimony (\*and other methods. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, EUA.
- Taberlet, P., L. Gielly, G. Pautou y J. Bouvet. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology* 17:1105-1109.
- Thompson, J. N., 2003. El proceso Coevolutivo. México.
- Thorne, J.L., H. Kishino. e I. S. Painter. 1998. Estimating the rate of evolution of the rate of molecular evolution. *Mol. Biol. Evol.* 15: 1647–1657.
- Terrazas, T. y S. Loza-Cornejo. 2002. Phylogenetic relationships of Pachycereeae: a cladistic analysis based on anatomical-morphological data. In: Evolution, ecology and conservation of the columnar cacti and their mutualists (Fleming, T.H. & A. Valiente-Banuet, eds.), pp. 66-86. Arizona Univ. Press, Arizona.
- Terrazas, T., Loza-Cornejo, S. y Arreola-Nava, H. J. 2005. Anatomía caulinar de las especies del género *Stenocereus* (Cactaceae). *Acta Bot. Venez* 28(2): 321-336.
- Vamosi J. C. y S. M. Vamosi. 2011. Factors influencing diversification in Angiosperms: At the crossroads of intrinsic and extrinsic traits. *American Journal of Botany* 98 (3): 460-471.
- Valiente-Banuet, A., M. Arizmendi, A. Rojas-Martínez y L. Domínguez-Canseco. 1996. Ecological relationships between columnar cacti and nectar-feeding bats in Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 12:103-109.
- Valiente-Banuet A., A. Rojas-Martínez, M. Arizmendi, P. Dávila. 1997 Pollination Biology of the Columnar Cacti (*Neobuxbaumia mezcalensis* and *Neobuxbaumia*

*macrocephala*) in the Tehuacan Valley, Central México. *American Journal of Botany* 84(4): 452-455.

- Valiente-Banuet, A. 2002. Vulnerabilidad de los sistemas de polinización de las cactáceas columnares de México. *Revista Chilena de Historia Natural* 75: 99-104.
- Van der Pijl. 1936. Fledermaus and Blumen Flora 11:1-40.
- Van Devender, T. R. 1990. Late Quaternary vegetation and climate of the Sonoran Desert, United States and México in Packrat middens. The last 40000 years of Biotic changes. University of Arizona Press. EUA.
- Villaseñor, J.L. (2003) Diversidad y distribución de las Magnoliophyta de México. *Interciencia* 28(3):160-166.
- Wallace R. S. 2002. The Phylogeny and Systematics of Columnar Cacti: An Overview. In *Columnar Cacti and Their Mutualists Evolution, Ecology and Conservation*. Pp 43-62 The University of Arizona Press. E.U.A.
- Wswe, N. M., L. Chittka, M. V. Price, N. M. Williams, y Jollerton. 1996, Generalization in pollination Systems, and why it matters. *Ecology* 77(4): 1043-1060.
- Waser, N., L. Chittka, M. V. Price, N.M. Williams y J. Ollerton. 1996. Generalization in pollinations Systems, and why it matters. *Ecology*. 77(4) 1043-1060.
- Waser, N. and J. Ollerton 2006. From Specialization to generalization. University Chicago Press. EUA.
- Welch, J. J. y L. Bromham. 2005. Molecular Dating When Rates Vary. *Trends in Ecology and Evolution* 20(6): 320-32.
- Wendel, J. F. y Doyle, J. J. 1998. Phylogenetic incongruente: Windows into genome history and molecular evolution. En: Soltis, D. E., Soltis, P. S., Doyle, J. J. (Eds.), *Molecular Systematics of plants II*. Kluwer Academic. EUA.
- Wertheim, J. O., M. J. Sanderson, M. Worobey, y A. Bjork. 2010. Relaxed Molecular Clocks, the Bias-Variance Trade-off, and the Quality of Phylogenetic Inference. *Syst. Biol* 59(1):1-8.
- Wetterer A., M. Rockman. y N. Simmons. 2000. Phylogeny of phyllostomid bats (Mammalia: Chiroptera): Data from diverse morphological systems, sex chromosomes, and restriction sites. *Bull Amer Mus Nat Hist* 248:1-200.

- Wong, D. H-J. 2007 An exploration of models of diversification and the tempo of diversification using lineages through time plots. Tesis de la Universidad de New Brunswick.
- Yoder, J. B., C. I. Smith y O. Pellmyr. 2010. How to become a yucca moth: minimal trait evolution needed to establish the obligate pollination mutualismo. *Biological Journal of The Linnean Society* 100, 847-855.
- Yoder J. B. y S. L. Nuismer. 2010. When does coevolution promote diversification? *The American Journalist* 176 (6): 802-817.
- Zhang, W. 2000. Phylogeny of the Grass Family Poaceae from rpl16 Intron Sequence Data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 15(1): 135-146.

## X. ANEXOS

Anexo 1. Listado de especies que componen el muestreo de Pachycereae-centrales.

<b>Género y especie</b>	<b>rpL16</b>	<b>trnL-F</b>	<b>Distribución</b>
<i>Bergerocactus emory</i>	DQ099994	DQ099925	Mx (Baja Cal.)
<i>Carnegiea gigantea</i>	AY181591	AY181619	US(Az) MX( Son)
<i>Cephalocereus apicicephalium</i>	DQ099996	DQ099927	MX (Oax)
<i>C. columna-trajani</i>	AY181599	AY181648	Mx (Oax, Pue)
<i>C. nizandensis</i>	DQ099997	DQ099928	MX (Oax)
<i>C. senilis</i>	AY181616	AY181638	Mx(Hgo, Ver)
<i>E. barthelowanus</i>	LAB	LAB	Baja California S. Méx
<i>E.berlandieri</i>	LAB	LAB	N.L y Tamps Méx
<i>E.bonkeræ</i>	LAB	LAB	Arizona, Sonora Méx
<i>E. boyce-thompsonii</i>	LAB	LAB	Arizona
<i>E. brandegeei</i>	LAB	LAB	Península B.C, islas del golfo
<i>E. bristolii</i>	LAB	LAB	Sonora, Méx
<i>E. chisoensis</i>	LAB	LAB	Coahuila y Durango Méx
<i>E. cinerascens</i>	LAB	LAB	DF, Hidalgo, Quér, Gto, Zac, SLP.
<i>E. coccineus</i>	LAB	LAB	Arizona, Sonora, Coahuila, Chihuahua
<i>E. cloreantus</i>	LAB	LAB	DBG
<i>E. dasyacanthus</i>	LAB	LAB	DBG
<i>E. ehuenbergii</i>	LAB	LAB	DBG
<i>E. engelmannii</i>	LAB	LAB	Arizona, BC y Sonora
<i>E. enneacanthus</i>	DQ100000	DQ099931	Mx (N.L.)
<i>E. fasciculatus</i>	LAB	LAB	Arizona , Sonora
<i>E. fendleri</i>	LAB	LAB	Arizona, Chihuahua y Son
<i>E. ferreirianus</i>	LAB	LAB	Baja California,
<i>E. ledingii</i>	LAB	LAB	Arizona
<i>E. leucanthus</i>	DQ100001	DQ099932	Mx (Son)
<i>E. longisetus</i>	LAB	LAB	Coahuila y Nuevo León
<i>E. mapimensis</i>	LAB	LAB	Coahuila
<i>E. maritimus</i>	LAB	LAB	NL, Tamps, SNP, Zac
<i>E. mojavensis</i>	LAB	LAB	DBG
<i>E. nicholii</i>	LAB	LAB	DBG
<i>E. nivosus</i>	LAB	LAB	DBG
<i>E. ortegae</i>	LAB	LAB	DBG
<i>E. parkeri</i>	DQ100002	DQ099933	Mx (N.L.)
<i>E. pectinatus</i>	DQ100003	DQ099934	Mx (San Luis P.)
<i>E. pentalophus</i>	LAB	LAB	Coa, Tamps, SLP, Hgo Quér, Gto, Nuevo León
<i>E. poselgeri</i>	DQ100004	DQ099935	Texas, Coah, N.L. Tamps
<i>E. primolanatus</i>	LAB	LAB	Coahuila
<i>E. pulchellus</i>	LAB	LAB	Oax, Pue, Hgo Quér, SLP, Zac, N.L.
<i>E.reichenbachii</i>	LAB	LAB	Texas, Colorado, norte de Mex.
<i>E. rigidissimus</i>	LAB	LAB	Chihuahua
<i>E. roetteri</i>	LAB	LAB	Texas y Norte de Méx
<i>E. rusanthus</i>			Texas, Chihuahua
<i>E. salm-dyckiannus</i>	LAB	LAB	
<i>E. scheeri</i>	LAB	LAB	Sonora Chihuahua
<i>E. schmollii</i>	DQ100005	DQ099936	Mx (Quér)



<i>E. sciurus</i>	LAB	LAB	Sinaloa
<i>E. stoloniferus</i>	LAB	LAB	Sonora Chihuahua
<i>E. stramineus</i>	LAB	LAB	Texas, Durango
<i>E. subinermis</i>	LAB	LAB	Sinaloa
<i>E. trigochliadius</i>	DQ10006	DQ099937	Sureste EU hasta México
<i>E. viereckii</i>	LAB	LAB	Tamaulipas y Nuevo León
<i>E. viridiflorus</i>	LAB	LAB	Texas, Colorado
<i>E. yavapaensis</i>	LAB	LAB	
<i>E. websterianus</i>	LAB	LAB	California y Sonora
<i>Escontria chiotilla</i>	AY181608	AY181622	MX(Gro, Mich, Oax, pue)
<i>Myrtillocactus cochal</i>	LAB	LAB	JB UNAM
<i>M. eichlamii</i>	LAB	LAB	Olson
<i>M. geometrizzans</i>	DQ100012	DQ099943	Mx (Quér)
<i>M. schenckii</i>	AY181607	AY181633	Mx(Pue, Oax)
<i>Neobuxbaumia euphorbioides</i>	AY181595	AY181635	Mx(SLP, Tamps, Ver)
<i>N. laui</i>	LAB	LAB???	Mx (Oax)
<i>N. macrocephala</i>	DQ100013	DQ099944	Mx (Pue)
<i>N. mezcalensis</i>	AY181600	AY181645	Mx(gro,Jal,Mich,Mor, Oax,Pue)
<i>N. multiareolata</i>	AY181594	AY181636	MX(Gro)
<i>N. polylopha</i>	AY181597	AY181644	Mx(Gto,Hgo,Qro, SLP)
<i>N. scoparia</i>	AY181596	AY181625	Mx (Oax, Ver)
<i>N. squamulosa</i>	LAB	LAB???	
<i>N. tetetzo</i>	AY181592	AY181632	Mx (Oax,Pue)
<i>Pachycereus fulviceps</i>	AY181602	AY181621	Mx (Oax, Pue)
<i>P. grandis</i>	AY181605	AY181646	Mx(Mex, Mich, Mor, Pue, Oax)
<i>P. gaumeri</i>	AY181606	AY181626	Mx(Chis, Ver, Yuc)
<i>P. gatesii</i>	AY181601	AY181637	Mx (BCS Isla Margarita)
<i>P. hollianus</i>	AY181603	AU181623	Mx(Oax, Pue)
<i>P. lepidanthus</i>	AY181598	AY181627	Guatemala
<i>P. marginatus</i>	AY181618	AY181627	Mx(Gro, Gto, Hgo, Jal, Mex, Mich, Mor, Oax, Pue, Qro, SLP, Zac)
<i>P. militaris</i>	AY181609	AY181628	Mx(Gro, Mich, Jal)
<i>P. pecten-aboriginium</i>	AY181615	AY181624	Mx(BCS, Chih, Chis, Jal, Mich, Gro, Nay, Oax, Sin, Son)
<i>P. pringlei</i>	AY181589	AY181642	Mx (BC,BCS, Son)
<i>P. shottii</i>	AY181613	AY181620	Mx (BCS)
<i>P. tepamo</i>	AY181593	AY181647	Mx (Mich)
<i>P. weberi</i>	AY181614	AY181631	Mx(Gro, Mor, Oax, Pue)
<i>Peniocereus. Greggii</i>	DQ100017	DQ099948	Mx (Coah)
<i>P. jhonsonii</i>	DQ100020	DQ099951	Mx (BCS)
<i>P. lazaro-cardenasii</i>	DQ100021	DQ099952	Mx(Mich)
<i>P. marianus</i>	DQ100024	DQ099955	Mx(Sin)
<i>P. striatus</i>	DQ100031	DQ099962	Mx (Son)
<i>P.viperinus</i>	DQ100033	DQ099964	Mx (Pue)
<i>P. zopilotensis</i>	DQ100034	DQ099965	Mx (Guer)
<i>Polaskia chende</i>	LAB	LAB	J.B UNAM
<i>P. chichipe</i>	DQ100035	DQ099966	Mx (Pue)
<i>Stenocereus alamosensis</i>	DQ100041	DQ099972	Mx (Son)
<i>S. aragonii</i>	AY181611	AY181630	CR(Guanacaste, Puntarenas)
<i>S. beneckei</i>	DQ100042	DQ099973	Mx (Guer)
<i>S. chachalapsensis</i>	DQ100043	DQ099974	Mx (Oax)
<i>S. chrysocarpus</i>	AY181617	AY181643	Mx(Mich)
<i>Isolatocereus dumortieri</i>	LAB	LAB	Mx(Gto, Gro, Hgo, Jal, Mex, Mich, Mor, Oax, Pue, Qro,

			Ver)
<i>S. eichlamii</i>	AY181610	AY181629	Mx(Chis, Yuc), GT(El Progreso), Hn(Yoro),ES(Sonsonate), NC(Esteli)
<i>S. eruca</i>	LAB	LAB	
<i>S. fricci</i>	AY181612	AY181634	Mx(Col, Jal, Mich)
<i>S. griseus</i>	DQ100044	DQ099975	Mx (Ver)
<i>S. gummosus</i>	DQ100045	DQ099976	Mx (BCS)
<i>S. kerberi</i>	DQ100047	DQ099977	Mx(Sin)
<i>S. martinezii</i>	AY181604	AY181641	Mx(Sin)
<i>S. montanus</i>	DQ100048	DQ099978	Mx (Son)
<i>S. peruvianus</i>	DQ100046	DQ099979	PR cult
<i>S. pruinus</i>	DQ100049	DQ099980	Mx (Quér)
<i>S. queretaroensis</i>	DQ100050	DQ099981	Mx (Quér)
<i>S. quevedonis</i>	LAB	LAB	
<i>S. standleyi</i>	DQ100051	DQ099982	Mx (Jal)
<i>S. stellatus</i>	AY181590	AY181640	Mx (Pue)
<i>S. thurberi</i>	DQ100052	DQ099983	Mx(BC,BCS,Sin,Son) US(Az)
<i>S. trelasei</i>	DQ102362	DQ102361	Mx (Oax)
<b>Grupo externo</b>			
<i>Calymmanthium substerile</i>	DQ099995	DQ099926	Cult.
<i>Armatocereus laetus</i>	DQ099992	DQ099992	Cult.
<i>Disocactus Flagelliformis</i>	DQ099999	DQ099930	Mx (Hgo)
<i>Eulychnia castanea</i>	DQ100007	DQ099938	Cult.
<i>Hylocereus trigonus</i>	DQ100009	DQ099940	P. R. (Guayanila)
<i>Rhipsalis baccifera</i>	LAB	LAB	
<i>Pereskia acculeata</i>	LAB	LAB	
<i>Selenicereus hamatus</i>	DQ099971	DQ100040	Mx (Pue)

Anexo 2. Especies que fueron incluidas en este trabajo para completar casi a nivel de especie el muestreo de Pachycereeae-centrales.

<b>Especies agregadas al muestreo en esta tesis</b>	
<i>Echinocereus bartholowanus</i>	<i>E. pentalophus</i>
<i>E. berlandieri</i>	<i>E. primolanatus</i>
<i>E. bonkerae</i>	<i>E. pulchellus</i>
<i>E. boyce-thompsonii</i>	<i>E. reichenbachii</i>
<i>E. brandegeei</i>	<i>E. rigidissimus</i>
<i>E. bristolii</i>	<i>E. roetteri</i>
<i>E. chisoensis</i>	<i>E. salm-dyckiannus</i>
<i>E. cinerascens</i>	<i>E. scheeri</i>
<i>E. coccineus</i>	<i>E. sciurus</i>
<i>E. cloreantus</i>	<i>E. stoloniferus</i>
<i>E. dasyacanthus</i>	<i>E. stramineus</i>
<i>E. ehuenbergii</i>	<i>E. subinermis</i>
<i>E. engelmannii</i>	<i>E. viereckii</i>
<i>E. fasciculatus</i>	<i>E. viridiflorus</i>
<i>E. fendleri</i>	<i>E. yavapaensis</i>
<i>E. ferreirianus</i>	<i>E. websterianus</i>

<i>E. ledingii</i>	<i>Myrtillocactus cochal</i>
<i>E. longisetus</i>	<i>M. eichlamii</i>
<i>E. mapimensis</i>	<i>Neobuxbaumia laui</i>
<i>E. maritimus</i>	<i>N. squamulosa</i>
<i>E. mojavenis</i>	<i>Polaskia chende</i>
<i>E. nicholii</i>	<i>Isolatocereus dumortieri</i>
<i>E. nivosus</i>	<i>Stenocereus eruca</i>
<i>E. ortegae</i>	<i>S. quevedonis</i>

### Anexo 3. Tipos de polinizador en Pachycereae-centrales

Espece	Polinizador efectivo
<i>Bergerocactus Emory</i>	Abejas (Rowley, 1994; Moran, 1962)
<i>Carnegiea gigantea</i>	Murciélago (Fleming et al., 1996; Fleming et al., 2001).
<i>Cephalocereus apicicephalium</i>	Murciélago y colibrí (Comentario del Dr. Búrquez).
<i>C. columna-trajani</i>	Murciélago.
<i>C. nizandensis</i>	Murciélago.
<i>C. senilis</i>	Murciélago (tesis Nicolás Palleiro).
<i>Echinocereus barthelowanus</i>	En general el género Echinocereus es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E.berlandieri</i>	En general el género Echinocereus es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E.bonkeræ</i>	En general el género Echinocereus es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. boyce-thompsonii</i>	Abeja y colibrí (Hauser, (A. Scott. 2008 ).
<i>E. brandegeei</i>	Abejas (Comentario del Dr. Búrquez).
<i>E. bristolii</i>	Abejas (Comentario del Dr. Búrquez).
<i>E. chisoensis</i>	Abejas (Comentario del Dr. Búrquez).
<i>E. cinerascens</i>	Abejas (Comentario del Dr. Búrquez).
<i>E. coccineus</i>	Abejas y colibrí (Scott y Scobell.2002).
<i>E. cloreantus</i>	Abejas (comentario del Dr. Búrquez).
<i>E. dasyacanthus</i>	Abejas (Breckendige. 1982).
<i>E. ehuenbergii</i>	En general el género Echinocereus es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. engelmannii</i>	En general el género Echinocereus es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. enneacanthus</i>	Himenópteros (Breckendige. 1982).
<i>E. fasciculatus</i>	Abejas (Grant y Grant. 1979).
<i>E. fendleri</i>	Abejas (Cockerell 1900) pero probablemente colibrís como secundarios.
<i>E. ferreirianus</i>	En general el género Echinocereus es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. ledingii</i>	En general el género Echinocereus es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. leucanthus</i>	En general el género Echinocereus es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. longisetus</i>	En general el género Echinocereus es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. mapimensis</i>	En general el género Echinocereus es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. maritimus</i>	En general el género Echinocereus es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. mojavenis</i>	Colibrí (comentario del Dr. Búrquez).
<i>E. nicholii</i>	En general el género Echinocereus es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).

<i>E. nivosus</i>	En general el género <i>Echinocereus</i> es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. ortegae</i>	En general el género <i>Echinocereus</i> es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. parkeri</i>	Abejas (Comentario del Dr. Búrquez).
<i>E. pectinatus</i>	Colibrí (Cota. 1993).
<i>E. pensilis</i>	Colibrí (Comentario del Dr. Arias)
<i>E. polyacanthus</i>	En general el género <i>Echinocereus</i> es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. poselgeri</i>	En general el género <i>Echinocereus</i> es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. primolanatus</i>	En general el género <i>Echinocereus</i> es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. pulchellus</i>	En general el género <i>Echinocereus</i> es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E.reichenbachii</i>	En general el género <i>Echinocereus</i> es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. rigidissimus</i>	En general el género <i>Echinocereus</i> es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. roetteri</i>	En general el género <i>Echinocereus</i> es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. salm-dyckiannus</i>	En general el género <i>Echinocereus</i> es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. scheeri</i>	En general el género <i>Echinocereus</i> es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. schmollii</i>	En general el género <i>Echinocereus</i> es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. sciurus</i>	En general el género <i>Echinocereus</i> es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. stoloniferus</i>	Abejas (comentario del Dr. Búrquez).
<i>E. stramineus</i>	Halitoantófila (Breckendige. 1982).
<i>E. subinermis</i>	En general el género <i>Echinocereus</i> es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. trigochlidiatus</i>	Colibrí (Brown y Brown. 1979; Ferguson, David J. 1989).
<i>E. viereckii</i>	En general el género <i>Echinocereus</i> es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. viridiflorus</i>	En general el género <i>Echinocereus</i> es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. yavapaensis</i>	En general el género <i>Echinocereus</i> es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>E. websterianus</i>	En general el género <i>Echinocereus</i> es polinizado por himenópteros (Comentario del Dr. Hernández).
<i>Escontria chiotilla</i>	Abejas (Oaxaca-Villa 2006).
<i>Myrtillocactus cochal</i>	Probablemente abejas (Bustamante y Búrquez, 2005).
<i>M. eichlamii</i>	Probablemente abejas Ver Anderson_esfingidos-Himenóptero (Bustamante y Búrquez, 2005).
<i>M. geometrizzans</i>	probablemente abejas (Bustamante y Búrquez, 2005).
<i>M. schenckii</i>	Abejas (Ortiz et al. 2010).
<i>Neobuxbaumia euphorbioides</i>	Murciélago (Bustamante y Búrquez, 2005).
<i>N. macrocephala</i>	Murciélago (Valiente et al. 1997).
<i>N. mezcalaensis</i>	Murciélago (Valiente et al. 1997).
<i>N. multiareolata</i>	Probablemente murciélago.
<i>N. polylopha</i>	Probablemente murciélago (Bustamante y Búrquez, 2005).
<i>N. scoparia</i>	Probablemente murciélago (Bustamante y Búrquez, 2005).
<i>N. squamulosa</i>	Probablemente murciélago. (comentario del Dr. Búrquez).
<i>N. tetetzo</i>	Probablemente murciélago (Bustamante y Búrquez, 2005).
<i>Pachycereus fulviceps</i>	Probablemente murciélago (Bustamante y Búrquez, 2005).
<i>P. grandis</i>	Probablemente murciélago (Arias 2009.)(Bustamante y Búrquez, 2005).
<i>P. gaumeri</i>	Murciélago (Méendez et al 2005).

<i>P. gatesii</i>	Polillas (Bustamante y Búrquez, 2005).
<i>P. hollianus</i>	Probablemente Colibrí (Bustamante y Búrquez, 2005)
<i>P. lepidanthus</i>	Abejas (Comentario del Dr. Búrquez).
<i>P. marginatus</i>	Murciélago (Dar et al. 2006), Colibrí (Bustamante y Búrquez, 2005).
<i>P. militatris</i>	Polillas ( <a href="http://www.cactuspro.com/articles/backebergia_militaris">http://www.cactuspro.com/articles/backebergia_militaris</a> ), Murciélago (Bustamante y Búrquez, 2005).
<i>P. pecten-aboriginium</i>	Murciélago (Bustamante y Búrquez, 2005; Arias 2009; Moliina-Freaner et al. 2004).
<i>P. pringlei</i>	Murciélago (Fleming et al., 1994; Fleming et al., 1996)
<i>P. shottii</i>	Polilla (Holland et al) polilla Fleming et al., 2001; Fleming & Holland, 1998) (Parker & Hamrick 1992)
<i>P. tepamo</i>	probablemente murciélagos: ver Arias 2009. Syst Bot 34: 65-83
<i>P. weberi</i>	Murciélago (Valiente et al. 1997).
<i>Peniocereus greggii</i>	Esfíngidos.
<i>P. johnsonii</i>	Esfíngido (Obs personal del Dr. Búrquez).
<i>P. lazaro-cardenasii</i>	Esfíngidos.
<i>P. marianus</i>	Esfíngidos.
<i>P. striatus</i>	Esfíngido (Obs personal Búrquez).
<i>P. viperinus</i>	Esfíngidos.
<i>P. zopilotensis</i>	Esfíngidos.
<i>Polaskia chende</i>	Himenóptero (Bustamante y Búrquez, 2005; Cruz y Casas, 2002).
<i>P. chichipe</i>	Himenóptero (Bustamante y Búrquez, 2005) y colibrí (Otero-Arnaiz, et al. 2003) .
<i>Stenocereus alamosensis</i>	Colibrí (obs personal Búrquez).
<i>S. aragonii</i>	Probablemente murciélagos (comentario del Dr. Búrquez).
<i>S. beneckeii</i>	Murciélago (Bustamante y Búrquez, 2005).
<i>S. chacalapensis</i>	Muy probablemente murciélagos (comentario del Dr. Búrquez).
<i>S. chrysocarpus</i>	Murciélagos (Stoner, et al., 2003).
<i>Isolatocereus dumortieri</i>	Colibrí (Bustamante y Búrquez, 2005).
<i>S. eichlamii</i>	Probablemente murciélagos (comentario del Dr. Búrquez).
<i>S. eruca</i>	Esfíngido Clark y Molina, 2004 (Clarck-Tapia y Molina)
<i>S. fricci</i>	Murciélagos y quizá colibris (comentario del Dr. Búrquez).
<i>S. griseus</i>	Murciélagos: Nassar et al. 1997; Petit y Freeman. 1997; Hemrick et al 2002).
<i>S. gummosus</i>	Esfíngidos: Clark-Tapia y Molina-Freaner. Heredity (2003) 90, 443–450 (Clarck-Tapia 200).
<i>S. kerberi</i>	Colibris (Gibson y Nobel.).
<i>S. martinezii</i>	Murciélagos.
<i>S. montanus</i>	Murciélagos.
<i>S. peruvianus</i>	Esfíngido (Silva y Sazima, 1995).
<i>S. pruinosus</i>	Murciélago (Arias-Coyotl 2006; Cortes-Díaz, 1997).
<i>S. queretaroensis</i>	Murciélago (Ibarra-Cerdeña 2005).
<i>S. quevedonis</i>	Murciélago (Comentario del Dr. Búrquez).
<i>S. standleyi</i>	Esfíngido (Gibson y Nobel, 1986), murciélagos. (Stoner, 2003)
<i>S. stellatus</i>	Murciélago (Arias-Coyotl 2006) (Casas et al., 1999)
<i>S. thurberi</i>	Murciélago (Bustamante, 2010; Fleming et al., 1996; Bustamante, 2003; Sahley 2001).
<i>S. trelasei</i>	Murciélago (comentario del Dr. Búrquez).
<b>Grupo externo</b>	
<i>Calymmanthium substerile</i>	Abejas( <a href="http://www.cactuspro.com/articles/backebergia_militaris">http://www.cactuspro.com/articles/backebergia_militaris</a> ),
<i>Armatocereus laetus</i>	Murciélago ( <a href="http://www.cactuspro.com/articles/backebergia_militaris">http://www.cactuspro.com/articles/backebergia_militaris</a> )
<i>Disocactus flagelliformis</i>	Colibrí ( <a href="http://www.cactuspro.com/articles/backebergia_militaris">http://www.cactuspro.com/articles/backebergia_militaris</a> )
<i>Eulychnia castanea</i>	Abejas ( <a href="http://www.cactuspro.com/articles/backebergia_militaris">http://www.cactuspro.com/articles/backebergia_militaris</a>
<i>Hylocereus trigonus</i>	Murciélago <a href="http://www.cactuspro.com/articles/backebergia_militaris">http://www.cactuspro.com/articles/backebergia_militaris</a> )
<i>Pereskia acculeata</i>	Abejas ( <a href="http://www.cactuspro.com/articles/backebergia_militaris">http://www.cactuspro.com/articles/backebergia_militaris</a>
<i>Selenicereus hamatus</i>	Murciélago y polilla ( <a href="http://www.cactuspro.com/articles/backebergia_militaris">http://www.cactuspro.com/articles/backebergia_militaris</a>