



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE BIOLOGÍA
SISTEMÁTICA

SISTEMÁTICA FILOGENÉTICA DE *ECHINOCEREUS* (CACTACEAE)

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

DANIEL SÁNCHEZ CARBAJAL

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. SALVADOR ARIAS MONTES,
INSTITUTO DE BIOLOGÍA.

COMITÉ TUTOR: DRA. TERESA TERRAZAS SALGADO,
INSTITUTO DE BIOLOGÍA.
DRA. ISOLDA LUNA VEGA,
FACULTAD DE CIENCIAS.

MÉXICO, D.F.

AGOSTO, 2015.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE BIOLOGÍA
SISTEMÁTICA

SISTEMÁTICA FILOGENÉTICA DE *ECHINOCEREUS* (CACTACEAE)

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

DANIEL SÁNCHEZ CARBAJAL

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. SALVADOR ARIAS MONTES,
INSTITUTO DE BIOLOGÍA.**

**COMITÉ TUTOR: DRA. TERESA TERRAZAS SALGADO,
INSTITUTO DE BIOLOGÍA.
DRA. ISOLDA LUNA VEGA,
FACULTAD DE CIENCIAS.**

MÉXICO, D.F.

AGOSTO, 2015.

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

Me permito informar a usted que en la reunión del Subcomité por Campo de Conocimiento de Biología Experimental y Biomedicina del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 11 de mayo de 2015, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTOR EN CIENCIAS** del alumno **SÁNCHEZ CARBAJAL DANIEL** con número de cuenta **98097807** con la tesis titulada: **"Sistemática filogenética de Echinocereus (Cactaceae)"**, realizada bajo la dirección del **DR. ÁNGEL SALVADOR ARIAS MONTES**:

Presidente:	DRA. MARTHA JUANA MARTINEZ GORDILLO
Vocal:	DRA. ROSAURA GREYHER GONZALEZ
Secretario:	DRA. TERESA MARGARITA TERRAZAS SALGADO
Suplente:	DRA. JENY SOLANGE SOTUYO VAZQUEZ
Suplente	DR. DAVID NAHUM ESPINOSA ORGANISTA

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F. a 10 de junio de 2015.

M. del Coro Arizmendi

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA

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

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Posgrado en Ciencias Biológicas UNAM por las facilidades académicas, administrativas y apoyo financiero (PAEP) que permitieron terminar mis estudios de Doctorado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca de manutención otorgada (no. beca. 210585).

A PAPIIT por el financiamiento brindado (IN204512) al proyecto "Filogenia y sistemática de Echinocereae (Cactaceae)".

Agradezco al Dr. Salvador Arias Montes por fungir como tutor principal de esta tesis.

A la Dra. Teresa Terrazas Salgado por ser miembro del comité tutorial de este proyecto.

A la Dra. Isolda Luna Vega por formar parte del comité tutorial de este proyecto.

RECONOCIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

ACADÉMICOS

Agradezco al Dr. Salvador Arias Montes, director de esta tesis, quien puso su conocimiento, experiencia y recursos para que este proyecto llegara a buen fin. Por guiar de manera precisa la discusión y corrección de las ideas aquí expuestas. Por el mutuo aprendizaje.

A la Dra. Teresa Terrazas quien asesoró cercanamente el desarrollo de este proyecto. Por los consejos académicos y personales que me permitieron continuar con este proyecto. Por las ideas y correcciones aportadas. Por la confianza para seguir trabajando en colaboración.

A los miembros del jurado quienes revisaron este trabajo, sus sugerencias permitieron mejorar este escrito: Dra. Jeny Solange Sotuyo Vázquez (I. Biología, UNAM); Dra. Martha Juana Martínez Gordillo (F. Ciencias, UNAM); Dra. Rosaura Grether González (UAM-Iztapalapa); Dr. David Nahum Espinosa Organista (FES-Zaragoza, UNAM).

A los herbarios ARIZ, ASU, BCMEX, CIIDIR, IBUG, MEXU y UNM.

A la Dra. Lidia Cabrera (I. Biología, UNAM) por su apoyo en el trabajo molecular.

A la Biol. Dalia Grego Valencia (FES Iztacala, UNAM) por su ayuda y enseñanza en las técnicas de anatomía vegetal.

Al Dr. José Delgadillo (F. Ciencias, UABC) por su confianza y apoyo durante el trabajo de campo.

A la M. en C. Berenit Mendoza (I. Biología, UNAM) por su ayuda en el MEB.

A la Dra. Sonia Vázquez Santana (F. Ciencias, UNAM) por su interés en mi trabajo y por confiar en mí para seguir trabajando juntos.

Al Dr. Mark Baker, Wolfgang Blum y Michael Lange por la información otorgada y las discusiones generadas acerca del género *Echinocereus*.

PERSONALES

Agradezco a Dalia por su confianza y apoyo para que terminara esta tesis. Por su compañía a lo largo de estos años, por su cariño sincero y la paciencia brindada. Por la estabilidad y la familia que me ha dado. Por ser una admirable pareja y madre. Por el voto de confianza para los asuntos fuera del escritorio.

A Sofía que ha hecho mi vida más feliz. Por su infinita paciencia al verme horas y horas tras la computadora y entender que tenía que escribir un “artículo”. Por extrañarme durante las salidas al campo. Por estar en sintonía conmigo.

A mis padres Guadalupe y Calixto por su ayuda infinita, porque siempre piensan en mí.

A Juanito, Javi, Ángel, Gus y mis sobrinos.

A la familia Grego Valencia por abrirme las puertas de su casa.

A mis amigos: Alma por ser la mejor colega en el aula, en el campo y la cantina; Fernanda quien siempre se preocupa por mí y mi familia; Pedro por su compañerismo; Luis que no deja de ser divertido.

A Balbina Vázquez y Ulises Guzmán por su amistad y ejemplo académico y familiar.

ESTE TRABAJO ESTÁ DEDICADO A SOFÍA Y DALIA.

CONTENIDO

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	5
CAPÍTULO 1:	
Phylogenetic relationships in <i>Echinocereus</i> (Cactaceae, Cactoideae)	11
CAPÍTULO 2:	
How and why does the areole meristem move in <i>Echinocereus</i> (Cactaceae)?	26
CAPÍTULO 3:	
Análisis filogenético de <i>Echinocereus</i> (Cactaceae, Cactoideae, Echinocereae) basado en caracteres morfológicos y moleculares	35
CAPÍTULO 4:	
Patrones de distribución del género <i>Echinocereus</i> (Cactaceae) y su contribución a la biogeografía histórica del norte de México	101
CONCLUSIONES	138
LITERATURA CITADA	140

RESUMEN

Echinocereus Engelm. es el tercer género más diverso (64 spp.) en Cactaceae. Se distribuye en Norteamérica, desde el centro de México al centro de Estados Unidos. Análisis filogenéticos previos sugieren que la delimitación actual de *Echinocereus* representa un grupo polifilético. Esos análisis no fueron contundentes debido al muestreo incompleto de taxones y relaciones filogenéticas sin soporte, por lo que fue necesaria una reevaluación de la monofilia del género y su clasificación infragenérica. Para abordar este problema se analizaron seis regiones del ADN de cloroplasto para 59 especies de *Echinocereus*. El análisis filogenético apoyó soportó la monofilia de *Echinocereus* si *E. pensilis* es excluido y reestablecido como el género *Morangaya* y se recuperaron nueve clados principales en *Echinocereus* s. s.

El análisis filogenético también sugirió que la yema errumpente, probablemente represente la sinapomorfía de *Echinocereus*. Por lo tanto, el desarrollo de la aréola fue investigado en 50 especies de *Echinocereus* a través de tres técnicas histológicas para entender las modificaciones anatómicas que implica el desarrollo de una yema errumpente. Los resultados mostraron que la aréola se sella de peridermis y el meristemo de la aréola se mueve y se encierra por crecimiento diferencial de la epidermis y córtex que lo rodean. El meristemo de la aréola se diferencia en una yema vegetativa o floral, la cual se desarrolla internamente y rompe la epidermis del tallo. Este carácter se interpreta como una adaptación que protege al meristemo de las bajas temperaturas.

Se sugiere que la inclusión de todas las fuentes de evidencia en un análisis filogenético produce una hipótesis mejor soportada. En este sentido, se realizó un análisis combinado de las secuencias de ADN de cloroplasto disponibles y un conjunto de 41 caracteres morfológicos. Este análisis corroboró la monofilia de *Echinocereus* s. s., el cual incluyó ocho grupos monofiléticos.

La filogenia recuperó a los taxones que se encontraban en clados no resueltos en el análisis previo (p. ej. *E. longisetus*) en grupos monofiléticos o cambió la hermandad de algunos clados reconocidos (sección *Wilcoxia*, sección *Erecti* y sección *Triglochidiati*). Los clados recuperados en *Echinocereus* fueron propuestos como secciones del género, apoyadas por una combinación de caracteres morfológicos y moleculares.

Echinocereus se distribuye en 18 provincias biogeográficas de Norteamérica. A partir del árbol de consenso estricto del análisis combinado y los datos de distribución de las especies del género, se realizaron análisis biogeográficos para inferir la distribución ancestral de *Echinocereus* y sus secciones, así como las relaciones históricas de las provincias biogeográficas. Los análisis mostraron que la Sierra Madre Occidental fue el área ancestral de *Echinocereus*, mientras que las secciones presentaron como áreas ancestrales a tres provincias del norte de México. Las provincias del sur de México formaron un grupo monofilético, mientras que las provincias del norte de México y sur de los Estados Unidos formaron un grupo monofilético con tres subclados. Los patrones de distribución en *Echinocereus* están relacionados con los cambios geológicos y climáticos documentados en los últimos diez millones de años.

ABSTRACT

Echinocereus Engelm. is the third richest genus (64 spp.) in Cactaceae. It is distributed in North America from central Mexico to central U. S. A. Previous phylogenetic analyses suggest that *Echinocereus* is a polyphyletic group. These analyses were weak due to incomplete taxon sampling and lack of support, thus a reevaluation of the genus monophyly and its infrageneric classification was necessary. To address these issues, six chloroplast DNA markers in a phylogenetic analysis that included 59 species of *Echinocereus* were analyzed. The phylogenetic analysis supported the monophyly of *Echinocereus* only if *E. pensilis* is excluded and reestablished as the genus *Morangaya*. The topology recovered nine main clades in *Echinocereus* s. s.

This phylogenetic analysis suggested that erumpent buds represent a synapomorphy of *Echinocereus*. Therefore, the areole development was investigated in 50 species of *Echinocereus* through three histological techniques in order to understand the anatomical modifications that lead to the development of erumpent buds. The results showed that the areole is sealed by periderm and the areole meristem moves and gets enclosed by differential growth of epidermis and cortex around. The areole meristem differentiates in vegetative or floral bud, which develops internally and breaks through stem epidermis. This character is interpreted as an adaptation that protects the meristem of low temperatures.

It has been suggested that inclusion of several kinds of evidence produces a better support hypothesis. On this sense, we performed a combined phylogenetic analysis that included the chloroplast DNA regions and a set of 41 morphological characters. The analysis corroborated the monophyly of *Echinocereus* s. s., which included eight monophyletic groups. This phylogeny recovered the taxa in unsolved clades of the previous analysis (e. g. *E. longisetus*) in

monophyletic clades or modified the relationships of some clades previously recognized (e. g. section *Wilcoxia*, section *Erecti* and section *Triglochidiati*). The genus is supported by the presence of erumpent buds and green stigma lobes. The recovered clades in *Echinocereus* are proposed as sections of the genus. Each section is supported by a unique combination of morphological and molecular characters.

Echinocereus is distributed in 18 biogeographic provinces of North America. From the phylogeny of the combined analysis and the distributional data of the *Echinocereus* species we performed biogeographic analyses to infer its ancestral distribution including the sections, as well as the historical relationships of the North America provinces. Analyses showed that Western Sierra Madre was the ancestral area for *Echinocereus*, while the sections presented as ancestral areas the provinces of northern Mexico. The provinces of southern Mexico formed a monophyletic group, whereas the provinces of northern Mexico and southern U. S. A. built up a monophyletic group with three subclades. The distribution patterns of *Echinocereus* are related to the geological and climatic changes of the last 10 mya.

INTRODUCCIÓN

Echinocereus Engelm. (Cactaceae, Cactoideae) fue descrito por Engelmann a partir de muestras colectadas por F. A. Wislizenus en el suroeste de los Estados Unidos y norte de México (en Wislizenus, 1848). El género agrupó a especies columnares cortas, con flores diurnas, con tubo receptacular no muy largo y semillas tuberculadas. Posteriormente, *Echinocereus* fue tratado como un subgénero de *Cereus* Mill. (Salm-Dyck, 1850; Engelmann, 1859) compuesto por especies norteamericanas y sudamericanas. Sin embargo, Schumann (1899) retomó el rango de género para *Echinocereus* y lo integró con especies distribuidas en Norteamérica. Esta propuesta de delimitación norteamericana del género fue seguida por autores posteriores, aunque la mayor discusión respecto a su circunscripción ha sido la inclusión o exclusión de *Wilcoxia* Britton & Rose (Britton y Rose, 1920, 1922) y *Morangaya* G. D. Rowley (Rowley, 1974) en *Echinocereus*. Revisiones taxonómicas basadas en morfología reconocen a *Morangaya*, *Wilcoxia* y *Echinocereus* como géneros distintos (Bravo-Hollis, 1978; Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991); o bien, los incluyen como secciones dentro de *Echinocereus* (Taylor, 1985; Hunt *et al.*, 2006). También, algunos análisis filogenéticos basados en caracteres moleculares sugieren que *Wilcoxia* pertenece a *Echinocereus* (Arias *et al.*, 2005; Hernández-Hernández *et al.*, 2011). Sin embargo, la relación de *Morangaya* con *Echinocereus* es controversial; los resultados de Wallace y Fourquer (1995) y Barba (2012) sugieren que *Morangaya* es parte de *Echinocereus*; mientras que Bárcenas *et al.* (2011) sugieren su exclusión.

Debido a la diversidad morfológica encontrada en las especies de *Echinocereus*, varios autores han dividido el género en diferentes entidades infragenéricas. Engelmann (1859) dividió *Echinocereus* en dos secciones, mientras que Schumann (1899) propuso cuatro series; los planteamientos de ambos autores están basados principalmente en caracteres vegetativos.

Posteriormente, con base en una revisión importante de los caracteres florales y vegetativos dentro de *Echinocereus* se han reconocido entre siete (Taylor, 1985) y ocho (Taylor, 1993; Hunt *et al.*, 2006) secciones o tres subgéneros, uno de ellos compuesto por siete secciones (Blum *et al.*, 1998). Hasta el momento, sólo el trabajo filogenético de Barba (2012), basado en dos regiones de ADN de cloroplasto, presenta un buen muestrero de las especies de *Echinocereus*, aunque sus resultados no son concluyentes respecto a su clasificación infragenérica.

A principio de la década pasada, las filogenias en Cactaceae basadas en caracteres moleculares mostraron poca resolución a nivel genérico, debido a que estos trabajos se enfocaban en identificar los linajes mayores (subfamilias y tribus) en la familia (Nyffeler, 2002; Wallace y Gibson, 2002; Crozier 2004). Recientemente, se han publicado análisis filogenéticos dirigidos a la delimitación de diversos géneros de Cactaceae, basados en muestreos más completos y en el uso de una mayor cantidad de marcadores moleculares. Por ejemplo, las filogenias moleculares publicadas para *Pereskia* (Butterworth y Wallace, 2005; Edwards *et al.*, 2005); *Gymnocalycium* Pfeiff. (Demaio *et al.*, 2011); *Opuntia* Mill. (Majure *et al.*, 2012); *Peniocereus* (A. Berger) Britton & Rose (Arias *et al.*, 2005); varios géneros de la tribu Rhipsalideae (Korotkova *et al.*, 2011; Calvente *et al.*, 2011) y la tribu Cacteae (Vázquez-Sánchez *et al.* 2013), presentaron una buena resolución y linajes bien soportados. Por lo tanto, un análisis filogenético que incluya un muestrero extenso de las especies de *Echinocereus* y de géneros relacionados, así como una mayor cantidad de marcadores moleculares permitiría resolver los problemas de delimitación de *Echinocereus* y su clasificación infragenérica, ya que los estudios sistemáticos basados en caracteres moleculares proveen de una mayor cantidad de caracteres, se obtienen fácilmente, y pueden ser analizados bajo modelos de transformación (Scotland *et al.*, 2003), por lo que representan un medio rápido y eficaz para estudiar aspectos evolutivos.

Sin embargo, los resultados de las filogenias moleculares han sido pobremente integrados a la clasificación de la familia Cactaceae (Nyffeler y Egli, 2010; Hunt, 2012). La falta de análisis de caracteres morfológicos ha promovido que muchos de los linajes monofiléticos propuestos no contengan información de las sinapomorfías o caracteres diagnósticos de cada taxón. Aunque estos taxones están apoyados y diagnosticados por caracteres moleculares, su interpretación es abstracta y carece de fines prácticos. No obstante, en Cactaceae existe una gran cantidad de monografías de la familia basadas en morfología (p.ej. Schumann, 1899; Berger 1926, 1929; Britton y Rose, 1919-1923; Backeberg, 1966; Bravo-Hollis, 1978; Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991) y revisiones detalladas de los caracteres vegetativos y reproductivos en la familia (Buxbaum, 1951-1955; Gibson y Nobel, 1986). Las clasificaciones propuestas en las revisiones y monografías de la familia representan hipótesis de la distribución de los caracteres en cada taxón y dan la pauta para proponer caracteres que puedan evaluarse en análisis filogenéticos. Particularmente, los trabajos de Taylor (1985, 1988, 1989, 1993) y Blum *et al.* (1998) representan monografías detalladas de la variación morfológica y clasificación de *Echinocereus*, que aportan un antecedente importante para la evaluación de los caracteres morfológicos dentro del género.

Scotland *et al.* (2003) proponen que la mayoría de los caracteres morfológicos son ambiguos y presentan problemas de conceptualización y codificación de los mismos. En este sentido, la conceptualización de los caracteres no depende sólo de los organismos, también de la habilidad del investigador, operacional o conceptual, para descomponer al organismo en unidades entendibles y asignar la similitud de estas unidades entre los taxones (Richards, 2003). Por ejemplo, el carácter morfológico más distintivo de *Echinocereus* se observa en sus yemas florales y vegetativas, las cuales no surgen justo en las aréolas como en el resto de las cactáceas,

sino que brotan rompiendo la epidermis adyacente a la aréola (Britton y Rose, 1922). Este carácter es reconocido por Taylor (1985) como yemas errumpentes y probablemente represente una sinapomorfía para el género. Sin embargo, el mismo Taylor (1985) menciona que no todas las especies de *Echinocereus* presentan dicho carácter. En este contexto, es necesaria la revisión exhaustiva de todas las especies incluidas en el concepto más amplio del género (Taylor 1985; Hunt *et al.* 2006), para corroborar la presencia de este carácter y su importancia en la delimitación de *Echinocereus*. Aún más importante es caracterizar el desarrollo anatómico de las yemas florales o vegetativas para entender esta modificación, única en la familia, en un contexto ecológico y evolutivo, y presentar una conceptualización adecuada del carácter.

Además, Farris (1983) sugiere la inclusión de todas las fuentes de evidencia para realizar un análisis filogenético, por lo que Nixon y Carpenter (1996) señalan que los datos deben ser combinados para analizarse simultáneamente. El análisis simultáneo produce una hipótesis mejor apoyada, ya que maximiza la congruencia entre diferentes fuentes de datos y permite emerger la señal secundaria. Si bien los caracteres morfológicos fueron descartados en un principio en la reconstrucción filogenética basada en análisis probabilísticos (máxima verosimilitud e inferencia bayesiana), debido a que no se habían incorporado modelos de evolución para estos caracteres; recientemente se han incluido nuevos algoritmos en los programas de reconstrucción filogenética probabilísticos (Lewis 2001; Nylander *et al.*, 2004) que permiten realizar un análisis simultáneo para ambos tipos de datos. En Cactaceae, la morfología ha sido utilizada bajo el marco de filogenias moleculares para mapear caracteres (Edwards *et al.*, 2005; Ritz *et al.*, 2007), en la reconstrucción de estados ancestrales (Hernández-Hernández *et al.*, 2010) y en análisis filogenéticos morfológicos (Arias y Terrazas, 2006). Por lo tanto, además de una buena representación de las especies de *Echinocereus* y un mayor número de marcadores moleculares,

es necesario un buen conjunto de caracteres morfológicos que proporcionen un mejor soporte a las hipótesis filogenéticas y provean de atributos que permitan identificar los linajes recuperados.

Finalmente, *Echinocereus* es uno de los géneros más diversos en la tribu Echinocereae con 64 especies (Hunt *et al.*, 2006). El género es nativo de las regiones áridas y semiáridas del centro y norte de México y del sur de los Estados Unidos y se encuentra en matorrales xerófilos, bosques de encinos y bosques de coníferas; se distribuye en al menos diez regiones biogeográficas propuestas para México (Morrone, 2006). La biogeografía histórica propone dos principales factores para explicar la diversidad biológica: la dispersión y la vicarianza. Por lo que a partir de una filogenia sólida, la historia evolutiva de este grupo taxonómico permitirá conocer la historia de las áreas de distribución (Luna-Vega, 2008), a través de la aplicación de los métodos de biogeografía cladista. También, es importante reconocer la historia de la distribución de ciertos grupos recuperados en la filogenia, por medio de un método que considere los eventos de dispersión, vicarianza y extinción (Ronquist, 1997); por lo que un análisis de reconstrucción de áreas ancestrales basado en filogenia permitirá reconocer, mediante una probabilidad, el área ancestral de cada taxón.

Este trabajo de investigación está dividido en cuatro capítulos, y tiene como objetivos: 1) resolver los problemas taxonómicos de delimitación del género *Echinocereus*, a través de un análisis filogenético que incluya varios marcadores moleculares del ADN de cloroplasto (capítulo 1: Phylogenetic relationships in *Echinocereus* (Cactaceae, Cactoideae)); 2) explicar detalladamente el desarrollo de las yemas errumpentes en *Echinocereus*, que representa uno de sus caracteres diagnósticos y posiblemente se trate de una sinapomorfía para el género (capítulo 2: How and why does the areole meristem move in *Echinocereus* (Cactaceae)?); 3) generar una propuesta de clasificación infragenérica con la filogenia resultante del análisis simultáneo de los

caracteres moleculares y morfológicos (capítulo 3: Análisis filogenético de *Echinocereus* (Cactaceae, Cactoideae, Echinocereae) basado en caracteres morfológicos y moleculares; 4) generar un cladograma resuelto de áreas que represente una hipótesis robusta de la historia de las áreas biogeográficas del norte de México, así como la posible área ancestral de cada clado recuperado (capítulo 4: Patrones de distribución del género *Echinocereus* (Cactaceae) y su contribución a la biogeografía histórica del norte de México).

CAPÍTULO 1

Phylogenetic relationships in *Echinocereus* (Cactaceae, Cactoideae).

Autores: Daniel Sánchez, Salvador Arias y Teresa Terrazas.

Fuente: Systematic Botany, 39 (4): 1183-1196. 2014.

Fecha de publicación: septiembre 2014.

Publicado por: The American Society of Plant Taxonomists.

URL: <http://www.bioone.org/doi/full/10.1600/036364414X683831>

Phylogenetic Relationships in *Echinocereus* (Cactaceae, Cactoideae)

Daniel Sánchez,¹ Salvador Arias,^{1,3} and Teresa Terrazas²

¹Jardín Botánico, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México Distrito Federal 04510, México.

²Departamento de Botánica, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México Distrito Federal 04510, México.

³Author for correspondence (sarias@ib.unam.mx)

Communicating Editor: Rachel Levin

Abstract—*Echinocereus* is the third most species-rich genus in the Cactaceae. It is distributed in North America from Mexico to the central U. S. A. Previous molecular phylogenetic studies have indicated that the genus is polyphyletic, but incomplete taxon sampling and unclear resolution have hindered the formal re-evaluation of generic and infrageneric circumscriptions. To address this problem, we analyzed six plastid regions (*matK*, *rbcl*, *psbA-trnH*, *trnQ-rps16*, *rpl16*, and *trnL-F*) using maximum parsimony and Bayesian inference criteria for 59 species, including all previously proposed infrageneric entities and representing the full range of morphological variation known in the genus. Our results support the monophyly of *Echinocereus* if *E. pensilis* is excluded and reestablished as the monotypic genus *Morangaya*. Two additional morphological characters, erumpent flower buds and green stigma lobes, further support the circumscription of *Echinocereus* sensu stricto. Phylogenetic analyses recovered nine main clades in *Echinocereus* s. s., one of which corresponds to the *Triglochidiati* section; the remaining clades did not correspond to any other recognized sections. We suggest a re-evaluation of previously proposed infrageneric entities.

Keywords—Bayesian inference, cpDNA, erumpent floral bud, *Morangaya*, parsimony.

Echinocereus Engelm. (Cactoideae, Cactaceae) is a genus that includes between 44 and 71 species (Taylor 1985, 1993; Blum et al. 1998; Hunt et al. 2006). It is distributed from the central U. S. A. (South Dakota) to southern Mexico (Oaxaca) (Taylor 1985), where it has diversified in xeric scrubland, and in pine-oak and deciduous tropical forests. *Echinocereus* is morphologically heterogeneous, as seen in its growth forms, stem thickness, root types, and flower size and shape (Fig. 1).

Engelmann (1848) described the genus *Echinocereus* as including species with short, single or branched stems, few to several ribs, lateral and diurnal flowers, a medium-length receptacular tube with trichomes and spines, and black and tuberculate seeds, assigning *E. viridiflorus* Engelm. as the species type. The classification of *Echinocereus* within the Cactoideae subfamily has been unstable. Schumann (1899) placed *Echinocereus* in the tribe Echinocactaeae, composed of South American and North American genera. Britton and Rose (1922) classified *Echinocereus* in the subtribe Echinocereinae, while Berger (1926) placed it in the Nyctocerei group within the tribe Cereaeae. Buxbaum (1958) grouped *Echinocereus*, *Bergerocactus* Britton & Rose, *Machaerocereus* Britton & Rose, *Rathbunia* Britton & Rose, and *Wilcoxia* Britton & Rose in the tribe Echinocereaeae based on their cylindrical or globose stems and their diurnal flowers with scales and spines on the pericarpel and receptacular tube. Phylogenetic analyses derived from molecular data suggest that *Echinocereus* is in tribe Pachycereaeae (sensu Gibson and Horak, 1978; Echinocereaeae sensu Hunt et al. 2006) and sister to the clade composed of *Escontria* Rose, *Myrtillocactus* Console, *Polaskia* Backeb., and *Stenocereus* (A. Berger) Riccob. (Wallace 2002; Wallace and Gibson 2002; Arias et al. 2005; Hernández-Hernández et al. 2011).

The circumscription of *Echinocereus* has changed since it was described by Engelmann (1848). This genus was originally thought to include species in both North and South America (Lemaire 1868; Rümpler 1886), but Schumann (1899) later defined the genus as being limited to North America. Subsequently, Purpus (1908) transferred *Cereus pensilis* K. Brandege to *Echinocereus* based on flower similarity. Britton and Rose (1909) separated *E. poselgeri* Lem. as the genus *Wilcoxia* Britton & Rose, but agreed with Purpus's

proposal and retained *E. pensilis* in *Echinocereus* (Britton and Rose 1922). In contrast, Rowley (1974) separated *E. pensilis* (K. Brandege) J. A. Purpus and proposed the monotypic genus *Morangaya* G.D. Rowley. The recognition of *Morangaya* and *Wilcoxia* as independent genera has been supported by various authors (Moran 1977; Bravo-Hollis 1978; Bravo-Hollis and Sánchez-Mejorada 1991). However, Taylor (1985) recognized them as sections of *Echinocereus*, a proposal that has been accepted in recent literature (Blum et al. 1998; Anderson 2001; Guzmán et al. 2003; Hunt et al. 2006). The generic circumscription proposed by Taylor (1985) was corroborated by phylogenetic analysis (Wallace and Fourquer 1995) inferred from restriction enzymes and few taxa, where *E. pensilis* was recovered as the sister taxon to the remaining *Echinocereus* species. Recently, using a single marker (*trnK-matK*), Bárcenas et al. (2011) recovered *E. pensilis* as related to *Stenocereus*, *Polaskia*, *Myrtillocactus*, and *Escontria*. Finally, using *rpl16* and *trnL-F*, Barba (2012) recovered *E. pensilis* as a member of *Echinocereus*.

The recognition and comparison of the morphological diversity of *Echinocereus* have generated various infrageneric classification proposals since the end of the 19th century (Table 1). With a reduced sample, Miller (1988) analyzed the systematic value of the floral pigments in *Echinocereus*; however, he concluded that these characters only allow close species from certain sections to be grouped (sensu Taylor 1985). Presently, there are no studies that confirm whether the infrageneric entities proposed for *Echinocereus* are monophyletic (Bárcenas et al. 2011). Within this context, the most recent treatment of Cactaceae (Hunt et al. 2006) included 65 species of *Echinocereus* in eight sections (Table 1). This classification, based on morphological comparisons, represents a useful hypothesis to test the monophyly of the genus and sections proposed through phylogenetic analysis of a large number of molecular characters.

Phylogenetic studies based on molecular characters have contributed to the classification of subfamilies, tribes and genera of Cactaceae (Butterworth et al. 2002; Nyffeler 2002; Arias et al. 2003; Crozier 2004; Arias et al. 2005; Edwards et al. 2005; Ritz et al. 2007; Griffith and Porter 2009; Hernández-Hernández et al. 2011; Bárcenas et al. 2011;

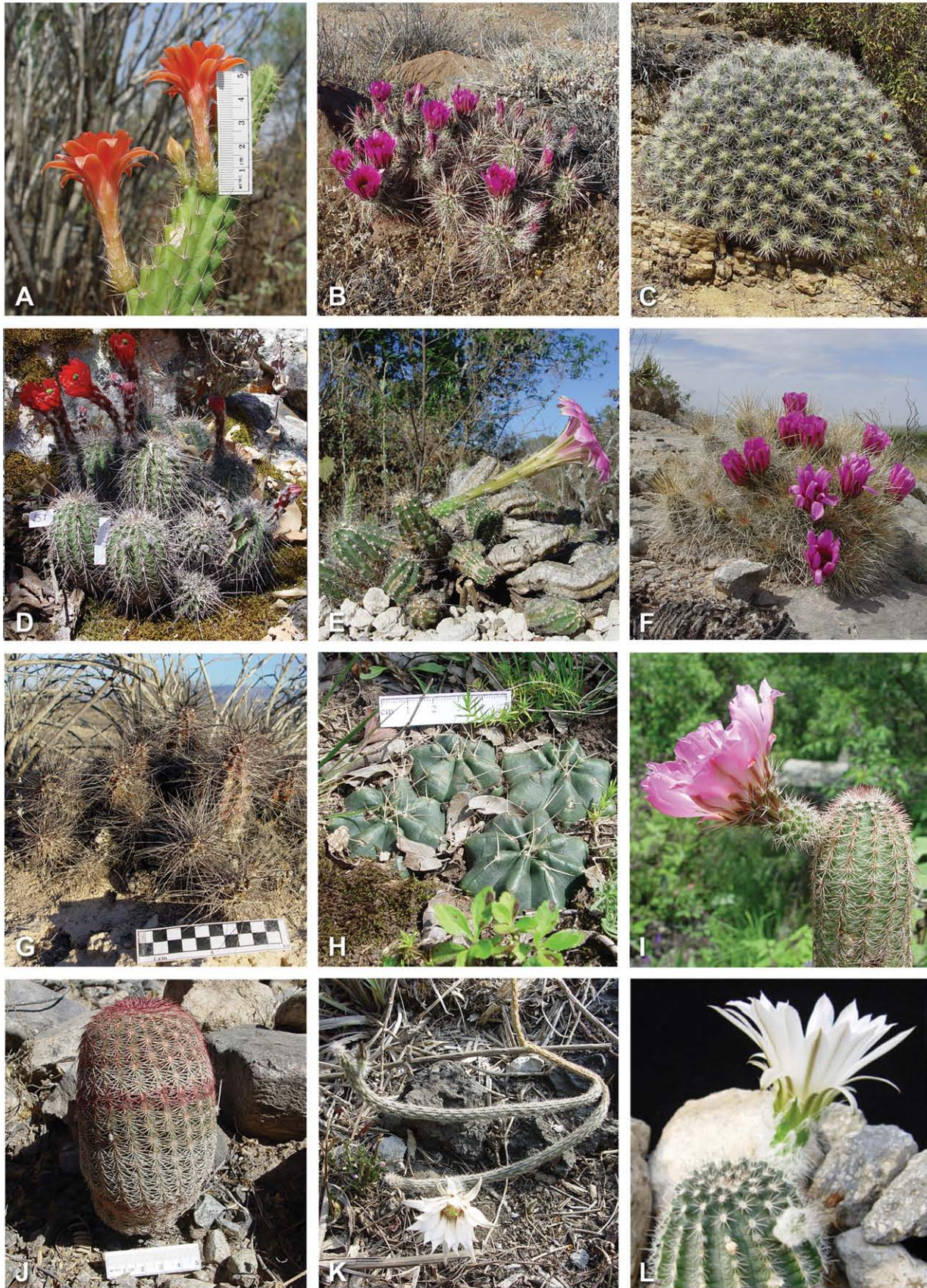


FIG. 1. Morphology of selected *Echinocereus* species based on sections proposed by Hunt et al. (2006) (Table 1). A. *Echinocereus pensilis* (Sect. *Morangaya*; Arias 1295, MEXU). B. *E. engelmannii* (Sect. *Erecti*; Arias 1813, MEXU). C. *E. maritimus* (Arias 1799, MEXU). D. *E. acifer* (Sect. *Triglochidiati*; Sánchez 51, MEXU). E. *E. scheeri* (Sect. *Triglochidiati*; Sánchez 36, MEXU). F. *E. stramineus* (Sect. *Costati*; Arias 2049, MEXU). G. *E. mapimiensis* (Sect. *Echinocereus*; Sánchez 84, MEXU). H. *E. knippelianus* (Sect. *Echinocereus*; Arias 1938, MEXU). I. *E. bristolii*; Arias 1836, MEXU). J. *E. rigidissimus* (Sect. *Reichenbachii*; Arias 2021, MEXU). K. *E. leucanthus* (Sect. *Wilcoxia*; Arias 2011, MEXU). L. *E. pulchellus* (Sect. *Pulchellus*; Arias 1442, MEXU).

TABLE 1. Historical infrageneric classification in *Echinocereus*.

Author	Infrageneric entities
Schumann (1899)	Four series: <i>Graciles</i> Engelm., <i>Subinermes</i> (K. Schum.), <i>Prostrati</i> K. Schum., <i>Erecti</i> K. Schum.
Taylor (1985, 1988, 1989)	Eight sections: <i>Morangaya</i> (G. D. Rowley) N. P. Taylor, <i>Erecti</i> (K. Schum.) Bravo, <i>Costati</i> (Engelm.) N. P. Taylor, <i>Echinocereus</i> , <i>Triglochidiati</i> Bravo, <i>Reichenbachii</i> N. P. Taylor, <i>Wilcoxia</i> (Britton & Rose) N. P. Taylor, <i>Pulchellus</i> N. P. Taylor
Bravo-Hollis and Sánchez-Mejorada (1991)	Six sections: <i>Subinermes</i> , <i>Scheera</i> Backeb., <i>Triglochidiati</i> , <i>Prostrati</i> , <i>Echinocereus</i> , <i>Erecti</i>
Taylor (1993)	Eight sections: <i>Morangaya</i> , <i>Erecti</i> , <i>Costati</i> , <i>Echinocereus</i> , <i>Triglochidiati</i> , <i>Reichenbachii</i> , <i>Wilcoxia</i> , <i>Pulchellus</i>
Blum et al. (1998)	Three subgenera: <i>Morangaya</i> (G. D. Rowley) Lange, <i>Triglochidiati</i> (Bravo) W. Blum, Mich.Lange & Rutow, <i>Echinocereus</i> (seven sections): <i>Erecti</i> , <i>Costati</i> , <i>Subinermes</i> , <i>Echinocereus</i> , <i>Reichenbachii</i> , <i>Wilcoxia</i> , <i>Pulchellus</i>
Hunt et al. (2006)	Eight sections: <i>Morangaya</i> , <i>Erecti</i> , <i>Triglochidiati</i> , <i>Costati</i> , <i>Echinocereus</i> , <i>Reichenbachii</i> , <i>Wilcoxia</i> , <i>Pulchellus</i>

Vázquez-Sánchez et al. 2013), but studies at the infrageneric level are still scarce (Butterworth and Wallace 2004; Demaio et al. 2011; Korotkova et al. 2011; Majure et al. 2012). This study uses six coding and non-coding chloroplast molecular markers to obtain the best possible resolution at different taxonomic levels. These markers have proven their usefulness in phylogenetic studies within Cactaceae. The *matK* and *rbcl* coding regions, combined with other chloroplast markers, were previously used by Vázquez-Sánchez et al. (2013) to infer the phylogeny of tribe Cactaeae. Korotkova et al. (2011) and Calvente (2012) demonstrated the usefulness of the *psbA-trnH* and *trnQ-rps16* intergenic spacers (IGS), in combination with other chloroplast markers, to resolve phylogenetic relationships in *Rhipsalis* (Cactaceae). The *rpl16* intron has been used often in phylogenetic studies of Cactaceae (e.g. Butterworth et al. 2002; Arias et al. 2005), and the region composed of the *trnL* intron and the *trnL-trnF* IGS (referred to here as *trnL-trnF*) has been widely used in phylogenetic reconstruction in Cactaceae due to a high percentage of informative sites (e.g. Nyffeler 2002; Arias et al. 2003, 2005; Edwards et al. 2005).

In addition to including several plastid regions, this study is also the first to include a broad sampling of the species recognized in *Echinocereus* that encompass the morphological variation observed in the genus. Therefore, the objectives of this work are as follows: (1) to test the monophyly of *Echinocereus*, (2) to resolve the relationship between *E. pensilis* and the other Stenocereinae genera (*Escontria*, *Myrtillocactus*, *Polaskia*, *Stenocereus*), and (3) to test whether the infrageneric entities recognized by Hunt et al. (2006) represent natural groups within *Echinocereus*.

MATERIALS AND METHODS

Taxon Sampling—The *Echinocereus* sampling included representatives from the eight sections recognized by Hunt et al. (2006). We sampled 59 of the 65 species of *Echinocereus* recognized by Hunt et al. (2006), Baker (2006a, 2006b), and Sánchez et al. (2013), as well as 10 representative species of *Escontria*, *Myrtillocactus*, *Polaskia*, and *Stenocereus* because a possible relationship with all of these genera was suggested by Arias et al. (2005), Hernández-Hernández et al. (2011), and Bárcenas et al. (2011). The analyses included a total of 81 terminals. The ingroup consisted of 71 individuals; whenever possible, a second sample for each species of *Echinocereus* with two subspecies was included in the phylogenetic analyses (Appendix 1). The functional outgroup consisted of 10 individuals that include representatives of other genera of Echinocereae and Hylocereae. The analyses included 459 new DNA sequences of *Echinocereus*, as well as 25 sequences that were previously deposited in GenBank by Arias et al. (2005), Butterworth and Wallace (2005), Hernández-Hernández et al. (2011), and Korotkova et al. (2011). Voucher information and the GenBank accession numbers of the samples used in this study are provided in Appendix 1.

DNA Extraction, Amplification, and Sequencing—Samples from 1 cm³ stems were silica gel-dried, frozen and pulverized. The extraction was achieved using the DNeasy plant mini kit (Qiagen, Inc., Valencia,

California). The total DNA was stored at -20°C. The sequences were PCR-amplified in volumes of 25 µL. The following primers and profiles of thermal cycles were used. For *matK*, we used the primers KIM3F and KIM1R (CBOL Plant Working Group 2009), with a reaction profile of 94°C for 2 minutes; 30 cycles of 94°C for 30 sec, 48°C for 40 sec, and 72°C for 40 sec; and a final extension of 72°C for 7 minutes. For *psbA-trnH*, we used the primers *psbA* (Sang et al. 1997) and *trnH* (Tate and Simpson 2003), with a reaction profile of 94°C for 2 minutes; 29 cycles of 94°C for 30 sec, 52°C for 30 sec, and 72°C for 2 minutes; and a final extension of 72°C for 7 minutes. For *rbcl*, we used the primers *rbclA-F* and *rbclA-R* (CBOL Plant Working Group 2009), with a reaction profile of 94°C for 2 minutes; 29 cycles of 94°C for 1 minute, 48°C for 1 minute, and 72°C for 2 minutes and 30 sec; and a final extension of 72°C for 7 minutes. For *rpl16*, we used the primers *rpl161R* and *rpl163F* (Hernández-Hernández et al. 2011), and for *trnL-F* we used the primers *c*, *d*, *e*, and *f* (Taberlet et al. 1991). For these two markers we used a reaction profile of 94°C for 2 minutes; 30 cycles of 94°C for 1 minute, 50–55°C for 30 sec, and 72°C for 1 minute and 30 sec; and a final extension of 72°C for 7 minutes. Finally, for *trnQ-rps16*, we used the primers *trnQ2* and *rps16X1* (Korotkova et al. 2010) with a reaction profile of 95°C for 2 minutes; 33 cycles of 95°C for 30 sec, 55°C for 1 minute, and 72°C for 1 minute; and a final extension of 72°C for 10 minutes. The PCR products were sequenced at the High Throughput Genomics Unit at the University of Washington (<http://www.htseq.org>).

Phylogenetic Analyses—The sequences for each marker were assembled using Sequencher v. 4.8 (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI, USA). The matrices were pre-aligned with Muscle (Edgar 2004) using MEGA 5 (Tamura et al. 2011) and manually adjusted afterward with Mesquite v. 2.75 (Maddison and Maddison 2010). Insertion-deletion events (indels) were identified (Ochoterena 2009) and coded using the simple coding method proposed by Simmons and Ochoterena (2000). A concatenated matrix including the six markers and indels was created for the phylogenetic analyses. A maximum parsimony (MP) analysis was performed with TNT v. 1.1 (Goloboff et al. 2008), using only parsimony-informative characters from the concatenated matrix. A heuristic search was conducted with 100,000 random-addition sequence replicates, retaining 10 trees from each replicate, exchanging branches using “TBR” (tree-bisection-reconnection). Branch support values were calculated by bootstrap (BS) (Felsenstein 1985) and jackknife (JK) resampling with 10,000 replicates (Farris et al. 1996) following the same search strategy used in the MP analysis with TNT (Goloboff et al. 2008). For the Bayesian analysis (BI), three molecular partitions were generated from the concatenated matrix. DNA evolution models for partitions were estimated using the Akaike information criterion (AIC) in jModelTest v. 0.1.1 (Posada 2008), resulting in a TIM1 + Γ model for the coding marker partition (*matK* and *rbcl*), a GTR + Γ model for the non-coding marker partition (*psbA-trnH*, *rpl16*, *trnL-F*, and *trnQ-rps16*), and an Mk model (Lewis 2001) for the indels partition. A partitioned BI analysis was performed in MrBayes v. 3.2 (Ronquist and Huelsenbeck 2003) and consisted of two runs of four chains for five million iterations, saving one tree every 100 generations, and beginning with one random tree. The burn-in parameter was fixed at generation 750,000 using Tracer v. 1.5 (Rambaut and Drummond 2007). With the remaining trees, a 50% majority-rule consensus tree was generated. The trees obtained from the MP and BI analyses were edited using FigTree v. 1.3.1 (Rambaut 2009). To identify the contribution of INDELs to the tree resolution and support of branches, we performed additional MP and BI analyses with a concatenated matrix that did not include the previously coded INDELs. Analyses were performed with identical parameters as described above. The combined matrix and trees are available from TreeBASE (study accession number 13983).

Ancestral States Reconstruction—The strict consensus tree from the MP analysis of the concatenated data was used for assessing character

evolution in *Echinocereus*. Some of these characters have been used in the most comprehensive taxonomic treatments (Taylor 1985, 1988, 1989; Blum et al. 1998) to circumscribe the genus and sections. The character state assignments were based on our field study, the examination of herbarium specimens, and the literature (Moran 1977; Taylor 1985, 1993; Blum et al. 1998; Arias and Terrazas 2006; Vázquez-Sánchez et al. 2012). The following characters were analyzed: 1) growth form: globose, globose-depressed, broadly cylindrical, narrowly cylindrical, and phylloclade; 2) root type: fibrous, taproot, and tuberous; 3) floral bud origin: non-erumpent and erumpent; 4) stigma lobe color: white, pale yellow, and green; and 5) flower shape: funnel-shaped, broadly funnel-shaped, and tubular funnel-shaped. The likelihood ancestral state reconstruction method was implemented in Mesquite v. 2.75 (Maddison and Maddison 2010) using the unordered states assumption and the Mk1 model for discrete morphological characters. This analysis estimates the proportional likelihood (P) of the morphological states on each node of a given topology. The *p* value ranges from 0–1, where a value near 1 is more likely to have been the ancestral state.

RESULTS

Data Matrices—The complete matrix with six markers included 4,995 bases, of which only 305 were parsimony informative. We coded 44 informative INDELs that included single sequence repetitions, deletions, and inversions (Ochoterena 2009). Sequence statistics for each marker are given in Table 2.

Phylogenetic Analyses—The MP analysis that included informative sites and indels had 349 characters and resulted in 36 equally parsimonious trees with a length of 768 steps (Fig. 2). The BI analysis included 5,039 characters including INDELs (Fig. 3). The MP strict consensus and BI majority-rule consensus trees were congruent in their topologies. However, the MP strict consensus tree was less resolved in terms of species relationships than the BI majority-rule consensus tree. The MP strict consensus tree showed a grade for the clades V, VI, and a polytomy between VII, VIII, and IX, while the BI majority-rule consensus tree showed a polytomy for the clades V, VI, VII, and VIII + IX (Figs. 2, 3). Moreover, the position of *E. longisetus* is somewhat uncertain; in the MP strict consensus tree, this species is a poorly supported sister taxon of clades V through IX, while in the BI majority-rule consensus tree, *E. longisetus* plus clade IV are sister to clades V through IX. The MP and BI analyses calculated using the matrix without INDELs resulted in trees with lower branch support (results not shown).

Both the MP and BI consensus trees revealed two significant results. The relationships between *Echinocereus pensilis*, *Escontria*, *Myrtillocactus*, *Polaskia*, and *Stenocereus* are strongly supported (Figs. 2, 3; 97% MP BS / 99% MP JK, 1.00 BI PP). Our results also indicate that *E. pensilis* is sister to *Stenocereus eruca*, *Escontria chiotilla*, *S. montanus*, *S. alamosensis*, *S. pruinosus*, *Polaskia chichipe*, *Myrtillocactus schenckii*, *M. cochal*, and *M. geometrizzans*. This clade of 10 species is defined in this work as the *Stenocereus* group.

The remaining species of *Echinocereus* form a well-supported clade (*Echinocereus* s. s.) that is sister to the *Stenocereus* group (Figs. 2, 3; 100% MP BS / 100% MP JK, 1.00 BI PP). Two main groups are recovered within the *Echinocereus* s. s. Group A has 11 taxa with weak to moderate support (<50% MP BS / 52% MP JK, 0.94 BI PP), while group B includes the remaining 49 taxa, supported by <50% MP BS / 62% MP JK, 1.00 BI PP. The affinities of *E. longisetus* are unresolved, as it is the only species that differs in its placement in the MP and BI trees. The nine clades in both groups A and B are well supported in the BI majority-rule consensus tree (Fig. 3); but, in the MP strict consensus tree, the same clades receive from strong (e.g. clade III, 99% MP BS / 99% MP JK; Fig. 2) to weak branch support (e.g. clade IX, 65% MP BS / 70% MP JK; Fig. 2). These nine clades do not correspond to the sections recognized by Hunt et al. (2006), with the exception of clade IX in which all of the species from the *Triglochidiati* section are grouped.

Ancestral States Reconstruction—Parsimony optimization of six morphological characters on the MP consensus tree is shown in Figs. 4 and 5. The narrowly cylindrical growth form is the ancestral state for *Echinocereus* s. s., with a reduction to globose and globose-depressed stems that can be found throughout *Echinocereus* s. s. lineages (Fig. 4A). Fibrous roots are ancestral for *Echinocereus* s. s., whereas taproots have arisen independently six times in *Echinocereus*, one time within group A (*E. knippelianus*) and five within group B (*E. chisosensis*, *E. palmeri*, *E. pulchellus*, *E. schmollii*, and *E. sciurus*) (Fig. 4B). The erumpent origin of the floral bud is an apomorphy of *Echinocereus* s. s.; however, within group A, a reversal occurred in a subclade that includes five species with non-erumpent floral buds (Figs. 4C, 6). Green stigma lobes clearly represent an apomorphy for the *Echinocereus* s. s. clade; this feature has long been diagnostic for this genus (Figs. 1 B–L, 4D). Figure 5 shows the reconstruction of floral shape, where funnel-shaped was inferred to be the plesiomorphic state in *Echinocereus* s. s.

DISCUSSION

Relationships of *Echinocereus* Within the Subtribe *Echinocereinae*—The MP and BI topologies confirm that *Echinocereus* s. s. (excluding *E. pensilis*) is sister to the genera comprising the *Stenocereus* group (Figs. 2, 3). The molecular phylogenies inferred here are consistent with Wallace (2002), Arias et al. (2005), Hernández-Hernández et al. (2011), and Bárcenas et al. (2011). Results of these studies are similar to the evolutionary relationships suggested by Berger (1926) and Buxbaum (1958), who recognized a certain “affinity” between *Echinocereus* and *Stenocereus* (e.g. *Machaerocereus*, *Rathbunia*) due to the shared presence of a low columnar growth form and the presence of diurnal flowers with scales and spines on the pericarpel and receptacular tube; however,

TABLE 2. Summary description of the various datasets and parsimony tree statistics.

	<i>matK</i>	<i>psbA-trnH</i>	<i>rbcL</i>	<i>rpl16</i>	<i>trnL-F</i>	<i>trnQ-rps16</i>	Combined
Length	800	530	579	1,240	1,191	655	4,995
Constant characters	696	395	483	954	920	515	3,963
Variable characters	104	135	96	286	271	140	1,032
Informative characters	32	44	25	86	80	38	305
% informative characters	4.00	8.30	4.31	6.93	6.71	5.80	6.10
Indels	-	10	2	10	16	6	44

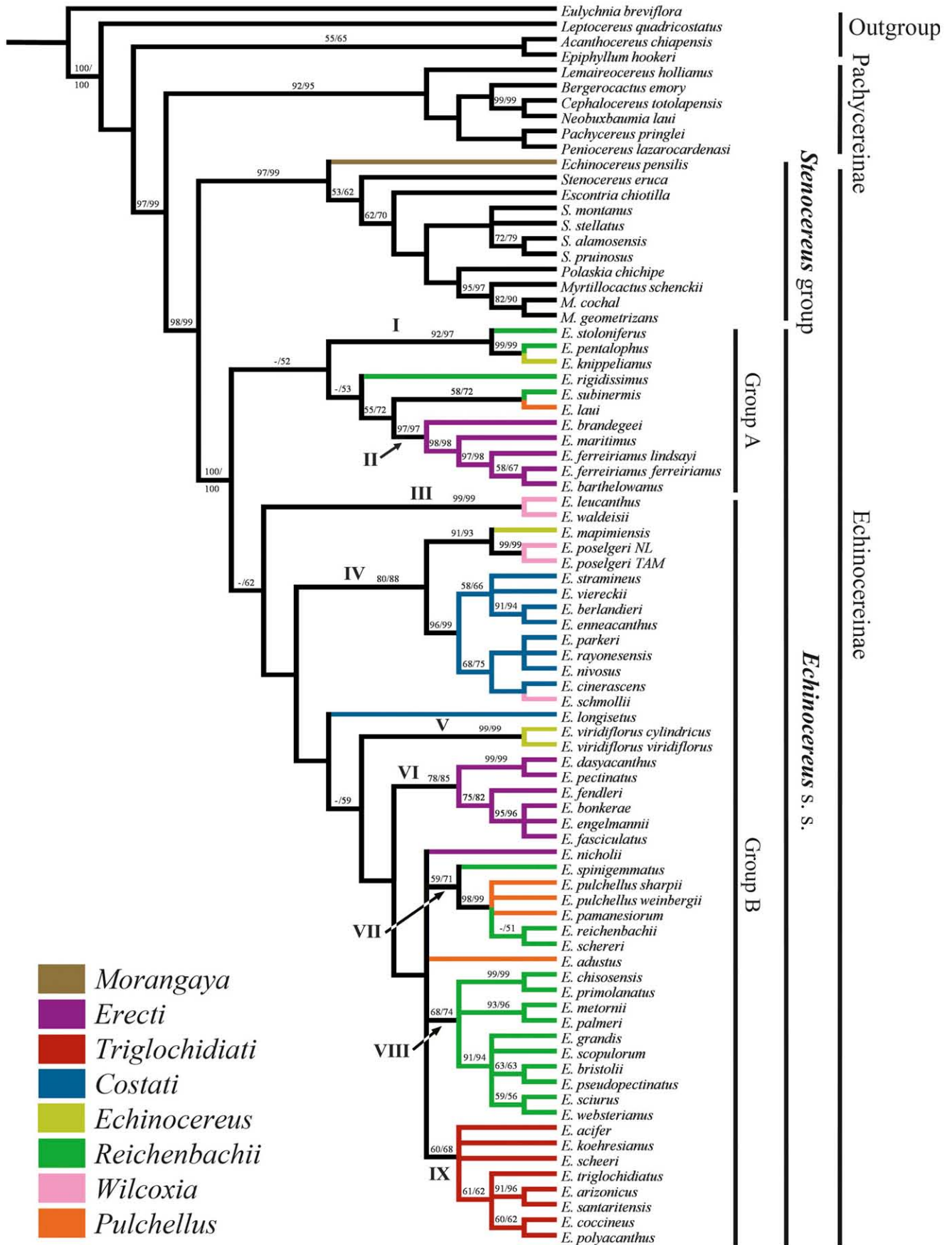


FIG. 2. Strict consensus cladogram of 36 most parsimonious trees resulting from concatenated sequences of *matK*, *rbcl*, *psbA-trnH*, *trnQ-rps16*, *rpl16*, *trnL-F*, and INDELS. Numbers above branches are maximum parsimony bootstrap/jackknife values. Tree length = 774; CI = 0.55; RI = 0.80. Different colors represent sections according to Hunt et al. (2006).

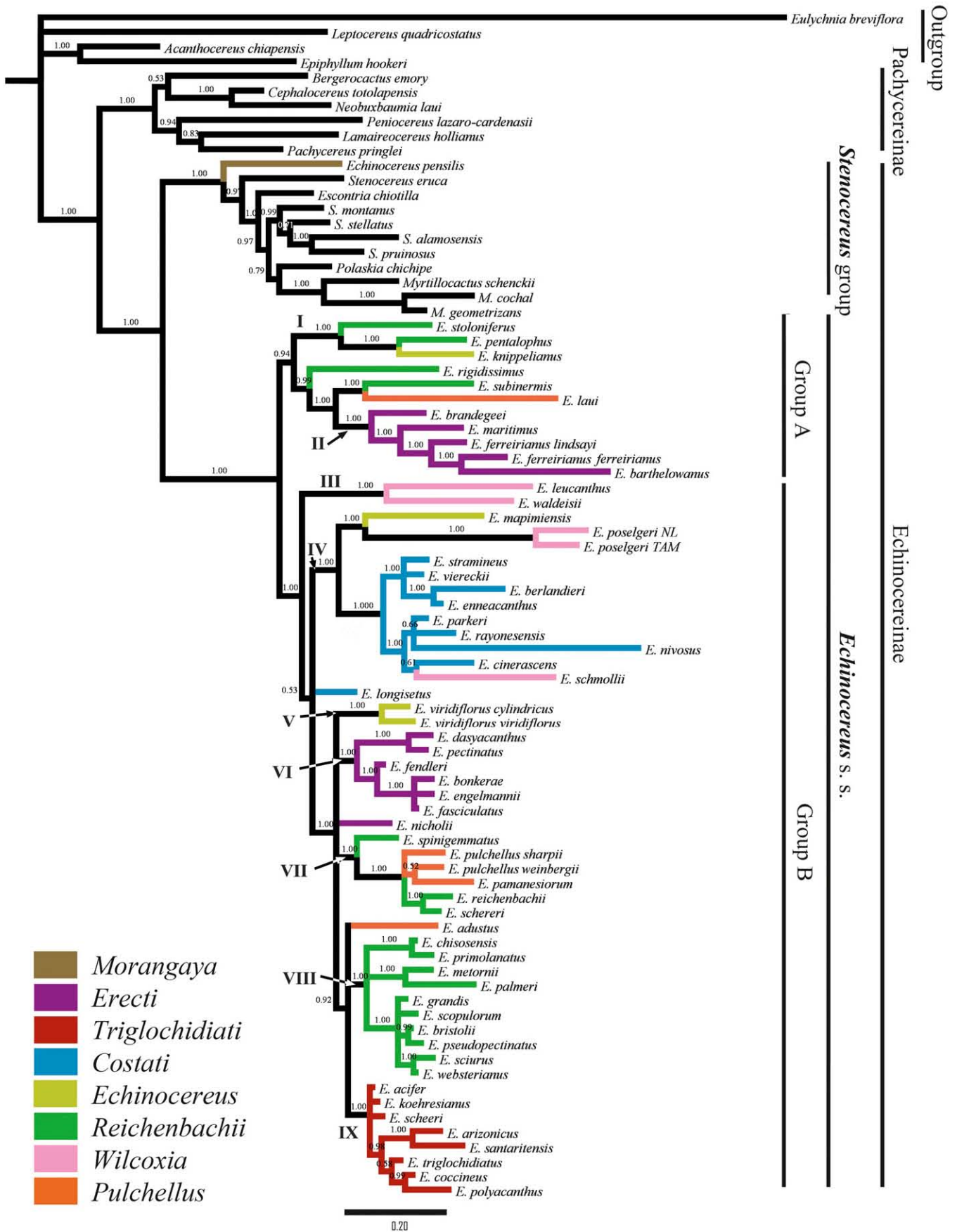


FIG. 3. Majority-rule consensus tree of 42,500 trees resulting from Bayesian analysis of concatenated sequences of *matK*, *rbcL*, *psbA-trnH*, *trnQ-rps16*, *rpl16*, *trnL-F*, and INDELS. Numbers above branches correspond to Bayesian posterior probabilities. Different colors represent sections according to Hunt et al. (2006).

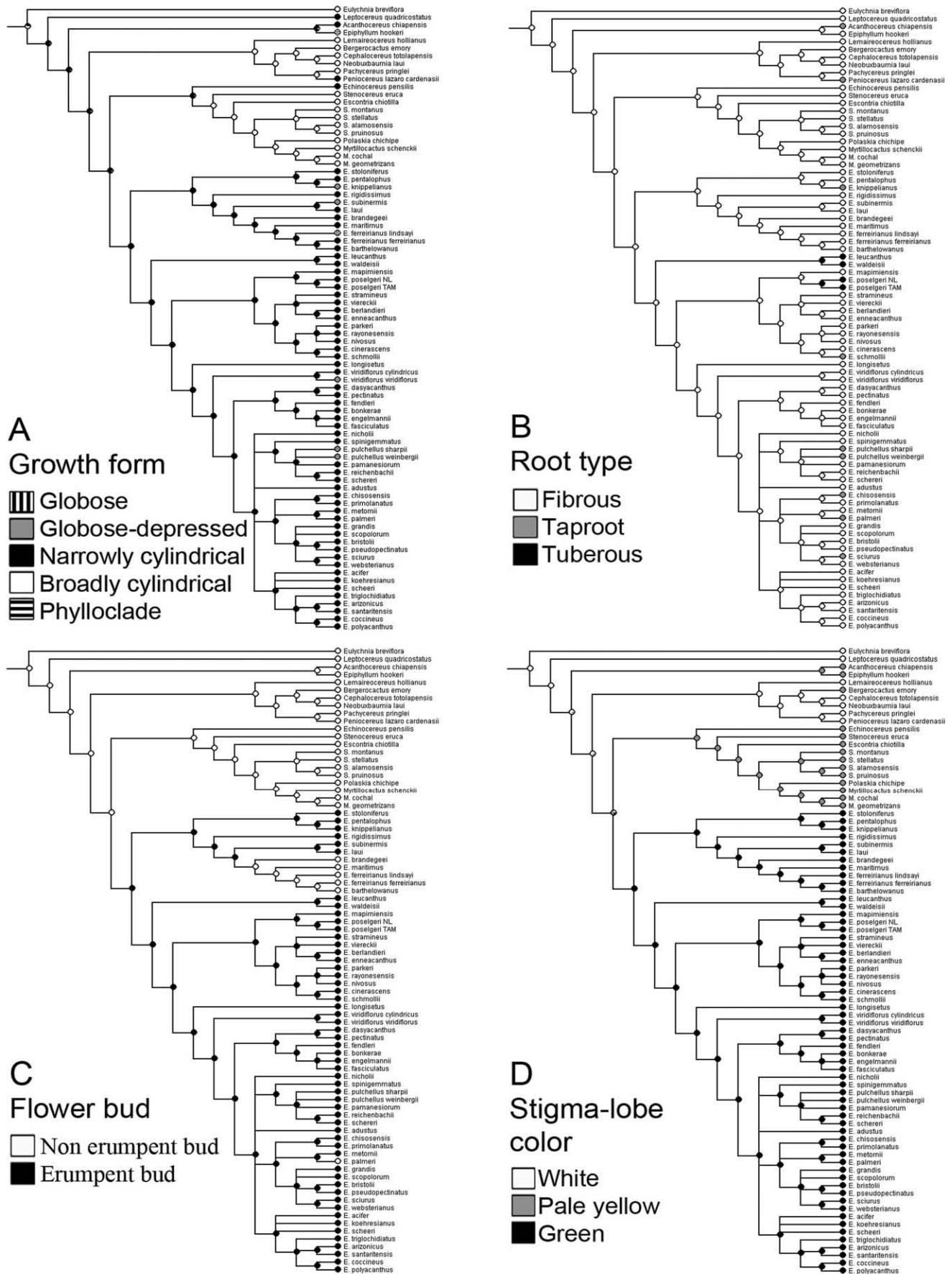


FIG. 4. Likelihood ancestral state reconstruction on the MP strict consensus tree. A: growth form; B: root type; C: type of flower bud; D: stigma lobe color.

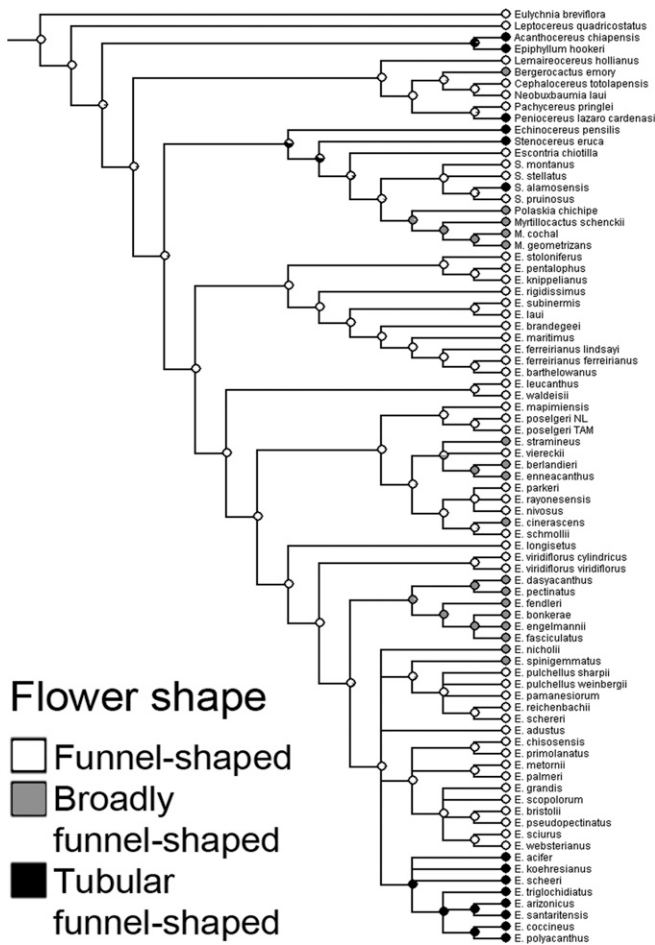


FIG. 5. Likelihood ancestral state reconstruction of flower shape on the MP strict consensus tree.

Berger (1926) and Buxbaum (1958) did not discuss the relationships of *Echinocereus* and *Stenocereus* to the remaining genera. Later, Gibson and Horak (1978) proposed a close relationship for *Escontria*, *Myrtillocactus*, *Polaskia*, and *Stenocereus*, based on stem anatomy, triterpene chemistry, and tannins in funicular cells. Anatomical observations (unpublished data) allow us to confirm the presence of tannins (ovules, funicles, and stamens) in all *Echinocereus* species examined. Triterpene

chemistry has not been addressed in *Echinocereus*, and its support for the relationships in the *Stenocereus* group remains unconfirmed. Despite this, in accordance with the ICBN principle of priority, the major clade that includes *Echinocereus* s. s. + the *Stenocereus* group is referred to here as subtribe Echinocereinae (Figs. 2, 3).

***Echinocereus pensilis* and Its Relationships**—The placement of *E. pensilis* as sister to the remaining taxa of the *Stenocereus* group is consistent with Bárcenas et al. (2011). However, this phylogenetic relationship differs from the results of Wallace and Fourquar (1995), who suggest that *E. pensilis* is the earliest taxon to diverge within the genus *Echinocereus*. The study by Wallace and Fourquar (1995) included fewer taxa and was based on 12 chloroplast DNA restriction enzymes, while the present study includes a broader sampling of *Echinocereus* and related genera, and includes six chloroplast DNA markers.

Previously, the circumscription and relationships of *E. pensilis* were examined using morphological characters. Rowley (1974) proposed the monotypic genus *Morangaya* for *E. pensilis* (= *Cereus pensilis*), and Moran (1977) argued that *E. pensilis* should be excluded from *Echinocereus* because it does not share the typical characters (e.g. erumpent floral buds and shoots, green stigma lobes; Figs. 1, 6). Moreover, *E. pensilis* has long stems (up to 4 m), may be a climber or low-growing plant, has vestigial leaves at the apex of the stem, exhibits the generation of new spines in both young and old stems, and forms adventitious roots, which do not exist in *Echinocereus* s. s. However, Taylor (1985) considered these to be non-specialized attributes without phylogenetic significance, so this taxon was kept within the genus *Echinocereus*. Our results are consistent with those proposed by Rowley (1974) and Moran (1977), and, therefore, *E. pensilis* should be excluded from *Echinocereus*. In addition, Loza-Cornejo and Terrazas (2003) found that *E. pensilis*, like all of the *Stenocereus* species, have silica bodies. This character was considered to be a synapomorphy for *Stenocereus* and allowed for *Rathbunia* to be incorporated into the genus *Stenocereus* (Taylor and Gibson 1994; Terrazas and Loza-Cornejo 2002). In a phylogenetic analysis of molecular (*rpl16*, *trnL-F*) and morphological characters, Arreola (2006) shows that *E. pensilis* is sister to the rest of the *Stenocereus* species. However, our results are inconclusive with regard to the relationship between *E. pensilis* and the *Stenocereus* group because

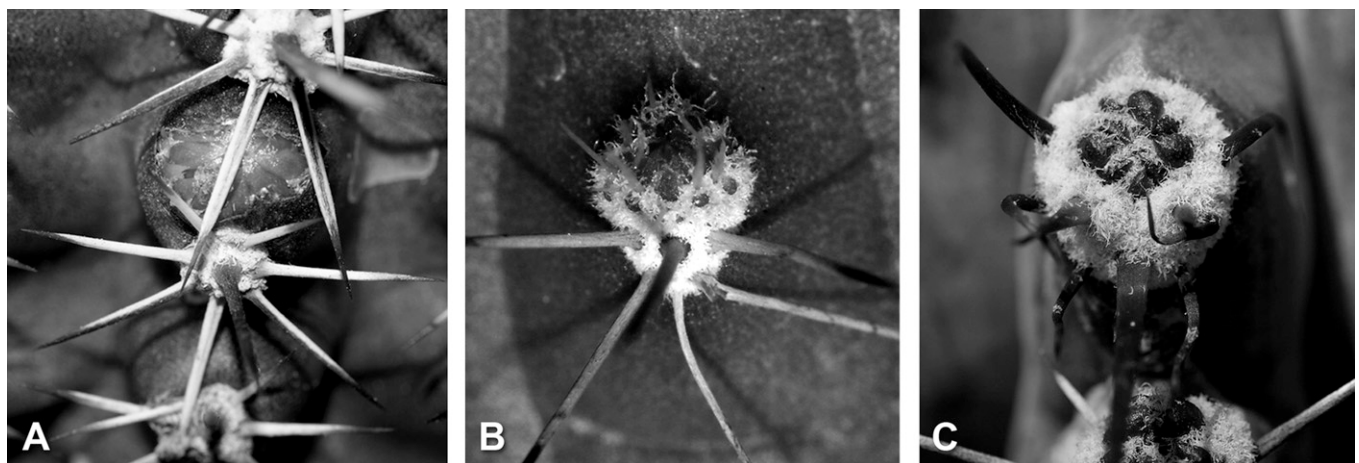


FIG. 6. Floral bud origin in some Echinocereinae species. A. *Echinocereus fendleri* (erumpent; Arias 2023). B. *Echinocereus pensilis* (non-erumpent; Arias 1295). C. *Stenocereus pruinosus* (non-erumpent; UNAM-Jardín Botánico C-08-110).

our sample includes only five of the 29 recognized taxa (Gibson and Nobel 1986; Terrazas and Loza-Cornejo 2002; Arreola 2006). Based on this phylogenetic study and the morphological evidence that has been discussed, we propose excluding *E. pensilis* from *Echinocereus* and re-establishing the monotypic genus *Morangaya* (Rowley 1974) for this taxon.

Circumscription of *Echinocereus* s. s. and Its Infrageneric Relationships—The genus *Echinocereus* may be recognized as monophyletic if *E. pensilis* is excluded. Based on the present study, *Echinocereus* s. s. consists of species that show two main characters: erumpent floral buds (with a reversion in *E. barthelowanus*, *E. brandegeei*, *E. ferreirianus*, and *E. maritimus*, clade II) and green stigma lobes (Britton and Rose 1922; Moran 1977; Taylor 1985; Blum et al. 1998; Hunt et al. 2006). Our results also recovered nine major clades within *Echinocereus* s. s., of which only clade IX represents a named infrageneric entity (section *Triglochidiati*). In the remaining clades, few informal taxonomic groups are recognized according to the infrageneric classification proposed by Taylor (1985, 1988, 1989, 1993) and Blum et al. (1998) (Figs. 2, 3; clades I–IX).

CLADE I—This clade containing three species is highly supported (92% MP BS / 97% MP JK, 1.00 BI PP), but does not correspond to any taxonomic section according to Hunt et al. (2006), although *E. stoloniferus* and *E. pentalophus* are part of the *E. subinermis* group of *Reichenbachii* according to Taylor (1993). *Echinocereus stoloniferus* and *E. pentalophus* subsp. *leonensis* share the presence of subterranean stems (rhizomes), funnel-shaped flowers (Blum et al. 1998), and a receptacular tube with a large quantity of long trichomes. The relationship between *E. pentalophus* and *E. knippelianus* was strongly supported by the molecular characters (99% MP BS / 99% MP JK, 1.00 BI PP). The few (five to seven) broad ribs are potential characters that could have phylogenetic significance. However, the morphology of the *E. knippelianus* flower is different from the rest of the species in the clade. The distribution of these species is disjunct, given that *E. stoloniferus* is found in northwestern Mexico, especially in the Sierra Madre Occidental, while *E. knippelianus* and *E. pentalophus* are native to northeastern and central Mexico, in the Sierra Madre Oriental and the region adjoining the Mexican Plateau.

CLADE II—This clade is composed of five species, is highly supported (97% MP BS / 97% MP JK, 1.00 BI PP), and partially belongs to *Erecti* (Hunt et al. 2006). The species in clade II share highly angled, cylindrical stems, flattened central spines, and funnel-shaped flowers (Blum et al. 1998). In addition, in this clade the floral buds emerge as non-erumpent (Fig. 6), which appears to be the ancestral state for this clade ($P = 0.992$; Fig. 4C). The two subspecies of *E. ferreirianus* do not form a monophyletic group because *E. ferreirianus* subsp. *ferreirianus* is sister to *E. barthelowanus* based on two molecular apomorphies. The placement of these taxa is consistent with Hunt et al. (2006), and, according to Taylor (1985), they share bicolored perianth and pale green stigmas. Therefore, the taxa should be re-evaluated using a comparative study that includes multivariate and molecular analyses to recognize species (e.g. Baker and Butterworth 2013). All of the species that are recovered in this clade are endemic to Baja California and Baja California Sur, Mexico, which allows us to hypothesize that the diversification of the clade began after the Oligocene epoch (30 Ma), at the beginning of the separation and displacement of a southwestern portion of North America, currently the Baja California Peninsula (Ferrusquía-Villafranca, 1998).

CLADE III—This clade of *E. leucanthus* and *E. waldeisii* is strongly supported (99% MP BS / 99% MP JK, 1.00 BI PP). Both species share slender stems, tuberous roots, elongated fruit (Taylor 1985, 1989; Blum et al. 1998, 2008; Hunt et al. 2006), and fibrous secondary xylem (Loza-Cornejo and Terrazas 2003). These morphological characters are also present in *E. poselgeri*, which is why they were grouped in *Wilcoxia* (Taylor 1985, 1989, 1993; Blum et al. 1998, 2008; Hunt et al. 2006). In this analysis, *E. poselgeri* is nested within clade IV, suggesting that these characters were acquired independently (e.g. tuberous roots, Fig. 4B). Our results support the proposal by Blum et al. (2008) to recognize *E. waldeisii* as a distinct species from *E. poselgeri* based on their differences in spination and flower color. This clade has a disjunct distribution, given that *E. leucanthus* is endemic to the coastal region of northwestern Mexico (Sinaloa, Sonora), whereas *E. waldeisii* only inhabits a narrow strip of northeastern Mexico (San Luis Potosí, Tamaulipas). Based on the phylogenetic hypothesis and the disjunct distribution, we estimate that this lineage could have experienced early diversification.

CLADE IV—This clade of 11 species has moderate support (80% MP BS / 88% MP JK, 1.00 BI PP) and is comprised of two groups. The first includes *E. poselgeri* (with two samples from different locations) and *E. mapimiensis* (91% MP BS / 93% MP JK, 1.00 BI PP), and the second includes the majority of the species from the *Costati* section (Hunt et al. 2006) plus *E. schmollii* (96% MP BS / 99% MP JK, 1.00 BI PP). This result is consistent with the molecular phylogenies presented by Arias et al. (2005), Hernández-Hernández et al. (2011), and Barba (2012) in which *E. poselgeri* is recovered as sister to members of *Costati*. A more detailed analysis of the morphology is required to postulate characters that corroborate the relationship between *E. poselgeri* and *E. mapimiensis*; however, both taxa show similarities in the types of environments where they are found, given that both prefer plains with sandy soils. They also have relatively small seeds (1.0–1.5 mm in length) in comparison to the other taxa in the genus. The remaining *Costati* taxa have erect stems that are generally branched and funnel-shaped or broadly funnel-shaped flowers (Blum et al. 1998) that are fuchsia-colored and turn brown when they are placed in an alcohol-formalin solution (Taylor 1985). In addition, many species in the clade have spines or bristles on the receptacular tube, a character that is also shared by *E. schmollii*. The *E. cinerascens* group, sensu Taylor (1993), is not recovered as monophyletic. Our results confirm that *E. berlandieri*, *E. enneacanthus*, *E. stramineus*, and *E. viereckii* form a monophyletic group, and this relationship is consistent with studies by Moore (1967) and, in particular, Miller (1988) that recover *E. enneacanthus* and *E. stramineus* as sister taxa. The taxa from this clade are widely distributed in Mexico (Hidalgo, Querétaro, Guanajuato, San Luis Potosí, Zacatecas, Durango, Nuevo León, Tamaulipas, Coahuila, and Chihuahua) and the U. S. A. (New Mexico, Texas).

CLADE V—This clade represents a group of two subspecies of *E. viridiflorus* (99% MP BS / 99% MP JK, 1.00 BI PP) included in the section *Echinocereus* (Hunt et al. 2006; Blum et al. 2012) (Figs. 2, 3). Although Hunt et al. (2006) consider the two taxa that were recovered in this clade to be subspecies of *E. viridiflorus*, they can be recognized as separate species, as proposed by Blum et al. (2012), because the size and shape of the stem, number of ribs, and spination are different. In addition, *E. viridiflorus* subsp. *viridiflorus* has two molecular autapomorphies, whereas *E. viridiflorus* subsp.

cylindricus has three autapomorphies. Both taxa share small (3 cm long) funnel-shaped flowers that are yellow with brown borders (Blum et al. 1998). *Echinocereus chloranthus* and *E. rusanthus* could not be included in this analysis, but they do share certain significant morphological characters with the two taxa in clade V, such as the shape and variation in flower color; therefore, we predict that they belong to this clade. The distribution of both taxa in clade V extends from Mexico (Chihuahua, Coahuila) to the U. S. A. (Colorado, Kansas, New Mexico, and Texas).

CLADE VI—Six species with moderate support (78% MP BS / 85% MP JK, 1.00 BI PP) are grouped and partially represent the section *Erecti* (Hunt et al. 2006). This clade is made up of *E. engelmannii*, *E. fasciculatus*, the *E. fendleri* group (*E. bonkeriae* and *E. fendleri*; Blum et al. 1998), and the *E. pectinatus* group (*E. dasyacanthus* and *E. pectinatus*; Blum et al. 1998). The species in this clade have erect stems and broad, funnel-shaped flowers, a thick and rigid receptacular tube with few trichomes, as well as fleshy, slightly protruding tepals at the base (Taylor 1985; Blum et al. 1998). The inclusion of *E. engelmannii* in this clade is also supported by the presence of certain floral pigments that it shares with *E. fendleri* (Miller 1988). However, our results do not confirm the proposal by Taylor (1993) and Blum et al. (1998) who suggested a close relationship between *E. engelmannii*, *E. brandegeei*, *E. barthelowanus*, *E. ferreirianus*, and *E. maritimus* (clade II). The phylogenetic position of *E. nicholii* from section *Erecti* is uncertain in our analyses. Taylor (1985) considered it a subspecies of *E. engelmannii*, which is inconsistent with our results. Interestingly, Parfitt (1987) recognizes *E. nicholii* as an independent species because it has a different ploidy level, pale pink flowers, and small seeds with distinctive papillae. The taxa in clade VI are widely distributed across northern Mexico (San Luis Potosi and Tamaulipas to Sonora and Baja California) and the U. S. A. (Texas to California).

CLADE VII—This clade contains six taxa with varying levels of support (59% MP BS / 71% MP JK, 1.00 BI PP). It partially includes the *Reichenbachii* and *Pulchellus* sections. *Echinocereus spinigemmatius* is recovered as sister to the remaining taxa, which form a group with higher support (98% MP BS / 99% MP JK, 1.00). The similarity and possible relationship between these two sections and *Wilcoxia* (clades III, IV; Figs. 2, 3) were mentioned by Taylor (1993) and Blum et al. (1998), although without much evidence. The species included in clade VII (except *E. spinigemmatius*) have erect stems, funnel-shaped flowers, a nectary that is generally less than 1 mm long, flexible and slender tepals, and fruits with little pulp, which are dry when mature. The placement of *E. rigidissimus* between clades I and II (group A), is surprising, as it has the short cylindrical stem, linear-elliptic areoles, pectinate radial spines, funnel-shaped flower, thin and bicolored perianth segments of the *E. reichenbachii* group (sensu Taylor, 1985). On the other hand, the two subspecies of *E. pulchellus* analyzed here are placed in clade VII, but share two molecular autapomorphies that could suggest a rapid lineage diversification within this species. Therefore, a re-evaluation of the four subspecies currently included in *E. pulchellus* (sensu Hunt et al. 2006) should be conducted, including specimens from distinct populations and combining morphometric and nuclear DNA analyses. The species that make up this clade are mainly distributed in Mexico (Oaxaca to Coahuila and Nuevo León) and extend into the U. S. A. (Colorado to Texas).

CLADE VIII—This clade is made up of ten species that have medium to strong support (68% MP BS / 74% MP JK, 1.00 BI

PP); these species were all previously placed in section *Reichenbachii* (Hunt et al. 2006). Blum et al. (1998) recognized the informal *E. sciurus* group with six species (*E. bristolii*, *E. grandis*, *E. pseudopectinatus*, *E. sciurus*, *E. scopolorum*, and *E. websterianus*), which is maintained as a monophyletic group with strong support (91% MP BS / 94% MP JK, 1.00 BI PP). The species in clade VIII are distinguished by their short stems, which branch very rarely, areoles with short and numerous spines, funnel-shaped flowers, flexible and slender tepals, a nectary between 1–4 mm long, and seeds that are 1–1.5 mm in length (Taylor 1985; Blum et al. 1998). These species are mainly distributed in a wide swath between northern and northwestern Mexico (Coahuila to Sonora and Baja California Sur), extending into contiguous zones in the southern U. S. A. (Texas to Arizona). In particular, the *E. sciurus* group mentioned above appears to have diversified in the Sonoran Desert, including the islands of the Gulf of California.

CLADE IX—This clade includes all of the species that were classified in *Triglochidiati* (Hunt et al. 2006), although it is recovered with varying levels of support (60% MP BS / 68% MP JK, 1.00 BI PP). The number of species included in this section differs in each study (Taylor 1993; Blum et al. 1998), but our previous results support the recognition of nine species, six of which are present in Mexico (Sánchez et al. 2013) and five in the U. S. A. (Baker 2006b). This section includes species with basal branching and red, tubular and funnel-shaped flowers, a receptacular tube that is as long as or longer than the perianth, and internal stamens that are longer than the external stamens (Bravo-Hollis 1973; Blum et al. 1998; Sánchez et al. 2013). In addition, the species in this clade consistently share the hummingbird pollination syndrome, as suggested by Taylor (1985) and Cota (1993). Bravo-Hollis and Sánchez-Mejorada (1991) divide the members of this clade into two sections, *Triglochidiati* and *Scheera*, mainly based on the flower tube length; however, our results do not allow these groups to be recognized. According to the evolutionary hypothesis put forth by Blum et al. (1998), *E. scheeri* retains the highest number of plesiomorphic attributes, while *Triglochidiati* represents the sister group of the rest of the *Echinocereus* species. However, our results reveal that group A (clades I and II) is the earliest diverging clade within *Echinocereus*. The species in clade IX are generally distributed in high elevation and temperate regions from west to northwest and northern Mexico (Guanajuato and Jalisco to Chihuahua and Baja California), as well as in central, south, and southwestern U. S. A. (from Wyoming to Texas and California).

Ancestral State Reconstruction in *Echinocereus* s. s.—The characters evaluated here are the most distinctive for delimiting taxonomic groups within *Echinocereus* s. s. With regard to growth form (Figs. 1, 4A), *Echinocereus* s. s. can vary from globose, globose-depressed to narrowly cylindrical (Bravo-Hollis and Sánchez-Mejorada 1991; Hunt et al. 2006). The ancestral state reconstruction shows that the narrowly cylindrical growth form is ancestral in the genus ($P = 0.998$). Additionally, this study shows that there is a tendency toward reducing the cylindrical stem in several lineages within *Echinocereus* s. s., given that most of the species have stems of less than 30 cm in length. In group A, the short stem evolved to globose (e.g. *E. ferreirianus* subsp. *lindsayi*) and globose-depressed (e.g. *E. knippelianus*; Fig. 1H), as also occurred in group B (e.g. *E. viridiflorus* subsp. *viridiflorus* and *E. pulchellus*; Fig. 1L).

According to Taylor (1985), the tuberous root is a character shared by three species of section *Wilcoxia* (*E. leucanthus*, *E. waldeisii*, and *E. posegeri*), but, interestingly, the analyses presented here show that *Wilcoxia* is not a monophyletic group; therefore, tuberous roots are homoplasious, while taproots appear to have evolved independently in clades I (*E. knippelianus*), IV (*E. schmollii*), VII (*E. pulchellus*), and VIII (*E. chisosensis*, *E. palmeri*, and *E. sciurus*) as a strategy to store reserves. Our analysis shows that both the tuberous root and the taproot evolved from the fibrous root (Fig. 4B) ($P = 0.999$).

In the majority of cacti, floral buds appear in the upper section of the areole (Gibson and Nobel 1986), but Britton and Rose (1922) and subsequently Taylor (1985), Bravo-Hollis and Sánchez-Mejorada (1991), Blum et al. (1998), and Hunt et al. (2006) argue that in *Echinocereus* they are erumpent, breaking the epidermis above the areole.

We found that erumpent flower buds represent the ancestral state in *Echinocereus* s. s. ($P = 0.977$), with a reversal to non-erumpent floral buds in the species in clade II (*E. maritimus*, *E. brandegeei*, *E. ferreirianus*, and *E. barthelowanus*, Fig. 4C). Taylor (1985) had already recognized the existence of this same group of species (clade II), which maintains "primitive" characteristics in the development of the floral and shoot buds. The adaptive significance of erumpent flower buds is not completely clear, but this trait may protect the buds from damage caused by low temperatures when *Echinocereus* evolved in regions with constant frost and temperatures below 0°C in the winter. However, further research is needed to understand the ontogenetic processes involved in this modification and its relationship to protection at lower temperatures (Sánchez et al. in mss.).

Stigma lobes in cacti are usually colored and have a papillose texture. The green color is a synapomorphy for *Echinocereus* s. s. (Fig. 4D, $p = 0.988$). It has been documented that green stigma lobes are practically invariant within *Echinocereus* s. s. (Cota 1993); however, it is possible to observe variation in green tones in certain species (e.g. *E. adustus*, *E. ferreirianus*, and *E. knippelianus*).

Our results showed that the ancestral floral form was funnel-shaped (Fig. 5, $p = 0.994$) and that the remaining character states were derived from there (Fig. 5). This hypothesis is contrary to the one put forth by Blum et al. (1998), which suggested that the plesiomorphic character in *Echinocereus* is the tubular funnel-shaped flower. The broadly funnel-shaped flower appears to have evolved independently in clades IV (e.g. *E. stramineus*, Fig. 1F) and VI (e.g. *E. engelmannii*, Fig. 1B), wherein it turned out to be the ancestral state. The tubular funnel-shaped flower appeared only once in *Echinocereus* s. s. and represents the ancestral state of clade IX ($P = 0.999$) (e.g. *E. acifer* and *E. scheeri*, Fig. 1D, E). The funnel-shaped flower in *Echinocereus* is associated with a generalist pollination syndrome (Cota 1993), and, therefore, the shifts to another character state reflect a specialization tendency toward a certain pollination syndrome, for example, hummingbird pollination in *Triglochidiati* (clade IX). For this analysis, we only coded the general shape of the flower; however, there are changes in flower length, receptacular tube thickness, stamen length, and nectary length that provide greater diversity than the general shapes that are recognized here. A careful study of the morphological changes that are mentioned here and an exploration of their relationship with pollinators are in progress.

We conclude that the inclusion of a greater number of cpDNA markers generated a more robust hypothesis of phy-

logenetic relationships in *Echinocereus* s. l., allowing us to re-define the generic limits of *Echinocereus* s. s. and clarify its relationship with the *Stenocereus* group, which is best treated as part of an expanded Echinocereinae. By excluding *Echinocereus pensilis*, the generic delimitation of *Echinocereus* s. s. is supported by two morphological characters (erumpent flower buds and green stigma lobes). This study has also provided new insights into relationships within *Echinocereus* s. s., as most of the nine clades are robust. Section *Triglochidiati* was recovered as a monophyletic group, while the *Costati*, *Echinocereus*, *Erecti*, *Pulchellus*, *Reichenbachii*, and *Wilcoxia* sections must be re-circumscribed based on these results. A more thorough morphological revision will identify characters that will be useful for re-defining sections within *Echinocereus* s. s. It is also important to consider particular evolutionary factors that might influence the present phylogenetic hypothesis. Thus, it will be necessary to use nuclear DNA markers to confirm the relationships of taxa with uncertain positions (e.g. *E. longisetus*, *E. adustus*, and *E. nicholii*) and explore the possible hybrid origins of certain species (e.g. *E. laui*, *E. posegeri*, and *E. schmollii*). Additional chromosome counts are also needed to better understand ploidy differences between taxa (e.g. diploid *E. arizonicus*, tetraploid *E. coccineus*, and hexaploid *E. yavapaiensis* in *Triglochidiati*; Baker 2006a, 2006b).

ACKNOWLEDGMENTS. This work was supported by the Program UNAM-DGAPA-PAPIIT <IN204512> to SA. DS thanks the Posgrado en Ciencias Biológicas UNAM (PCB) and Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología for the scholarship (210585). This study is part of the requirements for DS to obtain a Doctor of Science degree from the PCB. We are grateful to Berenit Mendoza, Lidia Cabrera (Instituto de Biología, UNAM), Emiliano Sánchez (Jardín Botánico Regional de Cadereyta), Monserrat Vázquez-Sánchez (Colegio de Posgraduados), Mario Mendoza, (Jardín Botánico Charco del Ingenio), Dennis W. Stevenson (The New York Botanical Garden), Raul Puente-Martínez (Desert Botanical Garden), Ulises Guzmán (UNAM), Hilda Arreola (Universidad de Guadalajara), José Delgadillo (Universidad Autónoma de Baja California), Wolfgang Blum, and Dieter Felix (Der Echinocereenfreund) for their kind help, and to the curators of ARIZ, ASU, CIIDIR, IBUG, MEXU, and UNM for loaning specimens critical to this study. The authors also thank Nigel P. Taylor, one anonymous reviewer, David S. Gernandt, James F. Smith, and Rachel A. Levin for providing helpful comments on an earlier draft.

LITERATURE CITED

- Anderson, E. F. 2001. *The cactus family*. Portland: Timber Press.
- Arias, S., T. Terrazas, and K. Cameron. 2003. Phylogenetic analysis of *Pachycereus* (Cactaceae, Pachycereeae) based on chloroplast and nuclear DNA sequences. *Systematic Botany* 28: 547–557.
- Arias, S., T. Terrazas, H. Arreola-Nava, M. Vázquez-Sánchez, and K. Cameron. 2005. Phylogenetic relationships in *Peniocereus* (Cactaceae) inferred from plastid DNA sequence data. *Journal of Plant Research* 118: 317–328.
- Arias, S. and T. Terrazas. 2006. Análisis cladístico del género *Pachycereus* (Cactaceae) con caracteres morfológicos. *Brittonia* 58: 197–216.
- Arreola, H. 2006. *Sistemática filogenética de Stenocereus* (Cactaceae). Ph. D. thesis. Montecillo, Estado de México: Colegio de Posgraduados.
- Baker, M. 2006a. A new florally dimorphic hexaploid, *Echinocereus yavapaiensis* sp. nov. (section *Triglochidiatus*, Cactaceae) from central Arizona. *Plant Systematics and Evolution* 258: 63–83.
- Baker, M. 2006b. Circumscription of *Echinocereus arizonicus* subsp. *arizonicus*: Phenetic analysis of morphological characters in section *Triglochidiatus* (Cactaceae) Part II. *Madroño* 53: 388–399.
- Baker, M. and C. A. Butterworth. 2013. Geographic distribution and taxonomic circumscription of populations within *Coryphantha* section *Robustispina* (Cactaceae). *American Journal of Botany* 100: 984–997.
- Barba, J. A. 2012. *Diversificación de Pachycereeae* (Cactaceae, Caryophyllales, Eudicotylodoneae) en relación al síndrome de polinización. M. S. thesis. México D. F.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Bárceñas, R. T., C. Yesson, and J. A. Hawkins. 2011. Molecular systematics of the Cactaceae. *Cladistics* 27: 470–489.

- Berger, A. 1926. *Die Entwicklungslinien der Kakteen*. Jena: G. Fisher.
- Blum, W., D. Felix, and H. Bauer. 2012. *Echinocereus* Die Sektion *Echinocereus*. *Der Echinocereenfreund* 25: 1–336.
- Blum, W., D. Felix, and D. Waldeis. 2008. *Echinocereus* Die Sektion *Wilcoxia*. *Der Echinocereenfreund* 21: 1–142.
- Blum, W., D. Lange, M. Rischer, and J. Rutow. 1998. *Echinocereus*, *Monographie*. Aachen: Selbstverlag.
- Bravo-Hollis, H. 1973. *Triglochidiata*, una nueva sección del género *Echinocereus*. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 18: 109.
- Bravo-Hollis, H. 1978. *Las Cactáceas de México*. Vol. I. México, D. F.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Bravo-Hollis, H. and H. Sánchez-Mejorada. 1991. *Las Cactáceas de México*. Vol. 2. México, D. F.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Britton, N. L. and J. N. Rose. 1909. The genus *Cereus* and its allies in North America. *Contributions from the U. S. National Herbarium* 12: 413–437.
- Britton, N. L. and J. N. Rose. 1922. *The Cactaceae*. Vol 3. Washington, D. C.: Carnegie Institution of Washington.
- Butterworth, C. A. and R. S. Wallace. 2004. Phylogenetic studies of *Mammillaria* (Cactaceae) insights from chloroplast sequence variation and hypothesis testing using the parametric bootstrap. *American Journal of Botany* 91: 1086–1098.
- Butterworth, C. A. and R. S. Wallace. 2005. Molecular phylogenetics of the leafy cactus genus *Pereskia* (Cactaceae). *Systematic Botany* 30: 800–808.
- Butterworth, C. A., H. Cota-Sánchez, and R. S. Wallace. 2002. Molecular systematics of tribe Cacteeae (Cactaceae: Cactoideae): A phylogeny based on *rpl16* intron sequence variation. *Systematic Botany* 27: 257–270.
- Buxbaum, F. 1958. The phylogenetic division of the subfamily Cereoideae, Cactaceae. *Madroño* 14: 177–206.
- Calvente, A. 2012. A new subgeneric classification of *Rhipsalis* (Cactoideae, Cactaceae). *Systematic Botany* 37: 983–988.
- CBOL Plant Working Group. 2009. A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 106: 12794–12797.
- Cota, J. H. 1993. Pollination syndromes in the genus *Echinocereus*: a review. *Cactus and Succulent Journal* 65: 19–26.
- Crozier, B. S. 2004. Subfamilies of Cactaceae Juss., including Blossfeldioideae subfam. nov. *Phytologia* 86: 52–64.
- Demaio, P. H., M. H. Barfuss, R. Kiesling, W. Till, and J. O. Chiappella. 2011. Molecular phylogeny of *Gymnocalycium* (Cactaceae): assessment of alternative infrageneric system, a new subgenus, and trends in the evolution of the genus. *American Journal of Botany* 98: 1841–1854.
- Edgar, R. C. 2004. MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research* 32: 1792–1797.
- Edwards, E. J., R. Nyffeler, and M. J. Donoghue. 2005. Basal cactus phylogeny: implications of *Pereskia* (Cactaceae) paraphyly for the transition to the cactus life form. *American Journal of Botany* 92: 1177–1188.
- Engelmann, G. 1848. Botanical Appendix. Pp. 87–115 in *Memoir of a Tour to Northern Mexico: connected with Col. Doniphan's Expedition, in 1846 and 1847*, ed. Wislizenus F. A.. Washington D. C.: Tappin & Streper.
- Farris, J. S., V. A. Källersjö, M. Lipscomb, and D. Kluge. 1996. Parsimony jackknifing outperforms neighbor-joining. *Cladistics* 12: 99–124.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783–791.
- Ferrusquía-Villafranca, I. 1998. La geología de México: Una sinopsis. Pp. 1–107 in *La biodiversidad de México*, eds. T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot, and J. Fa. México D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Gibson, A. C. and K. E. Horak. 1978. Systematics anatomy and phylogeny of Mexican columnar cacti. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 65: 999–1057.
- Gibson, A. C. and P. S. Nobel. 1986. *The cactus primer*. Cambridge: Harvard University Press.
- Goloboff, P. A., J. Farris, and K. Nixon. 2008. T.N.T. Tree analysis using new technology. *Cladistics* 24: 774–786.
- Griffith, M. P. and J. M. Porter. 2009. Phylogeny of Opuntioideae (Cactaceae). *International Journal of Plant Sciences* 107: 107–116.
- Guzmán, U., S. Arias, and P. Dávila. 2003. *Catálogo de cactáceas mexicanas*. México, D. F.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Hernández-Hernández, T., H. M. Hernández, J. A. De-Nova, R. Puente, L. E. Eguiarte, and S. Magallón. 2011. Phylogenetic relationships and evolution of growth form in Cactaceae (Caryophyllales, Eudicotyledoneae). *American Journal of Botany* 98: 44–61.
- Hunt, D. R., N. P. Taylor, and G. Charles. 2006. *The new cactus lexicon*. Milborne Port: DH Books.
- Korotkova, N., L. Zabel, D. Quandt, and W. Barthlott. 2010. A phylogenetic analysis of *Pfeiffera* and the reinstatement of *Lymanbensonia* as an independently evolved lineage of epiphytic Cactaceae within a new tribe Lymanbensoniaceae. *Willdenowia* 40: 151–171.
- Korotkova, N., T. Borsch, D. Quandt, N. P. Taylor, K. F. Müller, and W. Barthlott. 2011. What does it take to resolve relationships and to identify species with molecular markers? An example from epiphytic Rhipsalideae (Cactaceae). *American Journal of Botany* 98: 1549–1572.
- Lemaire, C. A. 1868. *Les cactées: histoire, patrie, organes de végétation inflorescence, culture, etc.* Paris: Librairie Agricole de la Maison Rustique.
- Lewis, P. O. 2001. A likelihood approach to estimating phylogeny from discrete morphological character data. *Systematic Biology* 50: 913–925.
- Loza-Cornejo, S. and T. Terrazas. 2003. Epidermal and hypodermal characteristics in North American Cactoideae (Cactaceae). *Journal of Plant Research* 116: 27–35.
- Maddison, W. P. and D. R. Maddison. 2010. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.75 <http://mesquitemproject.org>.
- Majure, L. C., R. Puente, M. P. Griffith, W. S. Judd, P. S. Soltis, and D. E. Soltis. 2012. Phylogeny of *Opuntia* s.s. (Cactaceae): Clade delineation, geographic origins, and reticulate evolution. *American Journal of Botany* 99: 847–864.
- Miller, J. M. 1988. Floral pigments and phylogeny in *Echinocereus* (Cactaceae). *Systematic Botany* 13: 173–183.
- Moore, W. O. 1967. The *Echinocereus enneacanthus* – *dubius* – *stramineus* complex (Cactaceae). *Brittonia* 19: 77–94.
- Moran, R. 1977. ¿Qué hacer con *Cereus pensilis*? *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 22: 27–35.
- 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: 312–326.
- Ochoterena, H. 2009. Homology in coding and non-coding DNA sequences: a parsimony perspective. *Plant Systematics and Evolution* 282: 151–168.
- Parfitt, B. D. 1987. *Echinocereus nichollii* (L. Benson) Parfitt, stat. nov. (Cactaceae). *Phytologia* 63: 157.
- Posada, D. 2008. jModelTest: Phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25: 1253–1256.
- Purpus, J. A. 1908. *Echinocereus pensilis* (Brandege) J. A. Purpus. *Monatsschrift für Kakteenkunde* 18: 3–5.
- Rambaut, A. 2009. FigTree v1.3.1: Tree figure drawing tool. Website: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>.
- Rambaut, A. and A. J. Drummond. 2007. Tracer v1.5. Website <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.
- Ritz, C. M., L. Martins, R. Mecklenburg, V. Goremykin, and F. H. Hellwig. 2007. The molecular phylogeny of *Rebutia* (Cactaceae) and its allies demonstrates the influence of paleogeography on the evolution of South American Mountain cacti. *American Journal of Botany* 94: 1321–1332.
- Ronquist, F. and J. P. Huelsenbeck. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572–1574.
- Rowley, G. D. 1974. The unhappy medium: *Morangaya* a new genus of Cactaceae. *Ashingtonia* 1: 43–45.
- Rümpel, T. 1886. Carl Friedrich Foerster's Handbuch der Cacteenkunde. Leipzig: Verlag von Im. Tr. Wöller, F. G. E. Kanzler.
- Sánchez, D., S. Arias, and T. Terrazas. 2013. Análisis morfométrico de las especies de *Echinocereus* sección *Triglochidiati* (Cactaceae) en México. *Brittonia* 65: 368–385.
- Sang, T., D. Crawford, and T. F. Stuessy. 1997. Chloroplast DNA phylogeny, reticulate evolution, and biogeography of *Paeonia* (Paeoniaceae). *American Journal of Botany* 84: 1120–1136.
- Schumann, K. 1899. *Gesamtbeschreibung der Kakteen*. Berlin: Neudamm.
- Simmons, M. P. and H. Ochoterena. 2000. Gaps as characters in sequence based phylogenetic analysis. *Systematic Biology* 49: 369–381.
- Taberlet, P., L. Gielly, G. Pautou, and J. Bouvet. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology* 17: 1105–1109.
- Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei, and S. Kumar. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731–2739.
- Taylor, N. P. 1985. *The genus Echinocereus*. Middlesex: Kew Magazine Monograph.
- Taylor, N. P. 1988. Supplementary notes on Mexican *Echinocereus* (1). *Bradleya* 6: 65–84.
- Taylor, N. P. 1989. Supplementary notes on Mexican *Echinocereus* (2). *Bradleya* 7: 73–77.
- Taylor, N. P. 1993. Ulteriori studi su *Echinocereus*. *Piante Grasse* 13: 79–96.
- Taylor, N. P. and A. C. Gibson. 1994. Proposal to conserve *Stenocereus* against *Rathbunia* (Cactaceae). *Taxon* 43: 129–131.
- Tate, J. A. and B. B. Simpson. 2003. Paraphyly of *Tarasa* (Malvaceae) and diverse origins of the polyploidy species. *Systematic Botany* 28: 723–737.

- Terrazas, T. and S. Loza-Cornejo. 2002. Phylogenetic relationships of Pachycereae: a cladistic analysis based on anatomical and morphological data. Pp. 66–86 in *Columnar cacti and their mutualists: evolution, ecology, and conservation*, eds. T. H. Fleming and A. Valiente-Banuet. Tucson: Arizona University Press.
- Vázquez-Sánchez, M., T. Terrazas, and S. Arias. 2012. El hábito y la forma de crecimiento en la tribu Cacteae (Cactaceae, Cactoideae). *Botanical Sciences* 90: 97–108.
- Vázquez-Sánchez, M., T. Terrazas, S. Arias, and H. Ochoterena. 2013. Molecular phylogeny, origin, and taxonomic implications of the tribe Cacteae (Cactaceae). *Systematics and Biodiversity* 11: 103–116.
- Wallace, R. S. 2002. The phylogeny and systematics of columnar cacti: an overview. Pp. 42–65 in *columnar cacti and their mutualists, evolution, ecology, and conservation*, eds. T. H. Fleming and A. Valiente-Banuet. Tucson: Arizona University Press.
- Wallace, R. S. and E. D. Fourqurean. 1995. Molecular evidence for the systematic placement of *Echinocereus pensilis* (K. Brandegee) J. Purpus (Cactaceae). *Haseltonia* 3: 751–756.
- Wallace, R. S. and A. C. Gibson. 2002. Evolution and systematics. Pp. 1–21 in *Cacti biology and uses*, ed P. S. Nobel. Berkeley: University of California Press.
- APPENDIX 1. List of accessions sampled in this study, presented in alphabetical order, and following this format: Species, Provenance, Voucher (HERBARIUM ACRONYM), and Gen Bank numbers in the following order: matK/ rbcL/ psbA-trnH/ rpl16/ trnL-F/ trnQ-rps16. A dash (–) indicates that the locus was not sequenced for that specimen. Living voucher specimens are identified by their specimen number in cultivation at the Boon Botanical Garden (BBG), Desert Botanical Garden (DBG), and Huntington Botanical Gardens (HBG). Vouchers were collected in Mexico unless otherwise noted.
- Acanthocereus chiapensis* Bravo. Chiapas: Guzmán 949 (MEXU) –/ KF783472/ KF783477/ DQ099985/ DQ099916/ KF783769; Chiapas: Gómez 2100 (MEXU) HM041754/ –/ –/ –/ –. *Bergerocactus emoryi* (Engelm.) Britton & Rose. Baja Cal.: Arias 1307 (MEXU) KF783776/ KF783402/ KF783478/ DQ099925/ DQ099925/ KF783697. *Cephalocereus totolapensis* (Bravo & T. MacDoug.) Buxb. Oaxaca: Terrazas 806 (CHAPA) KF783777/ KF783855/ KF783479/ KF783557/ KF783627/ KF783698. *Echinocereus acifer* (Otto ex Salm-Dyck) Jacobi. Zacatecas: Sánchez 21 (MEXU) KF783779/ KF783404/ KF783480/ KF783559/ KF783629/ KF783700. *Echinocereus adustus* Engelm. Chihuahua: Sánchez 23 (MEXU) KF783825/ KF783450/ KF783481/ KF783604/ KF783674/ KF783746. *Echinocereus arizonicus* Rose ex Orcutt. Chihuahua: Sánchez 44 (MEXU) KF783780/ KF783405/ KF783482/ KF783560/ KF783630/ KF783701. *Echinocereus barthelowanus* Britton & Rose. Baja Cal. S.: Sánchez-Mejorada 4393 (MEXU) KF783846/ KF783473/ KF783532/ KF783621/ KF783691/ KF783770. *Echinocereus berlandieri* (Engelm.) Haage. Nuevo León: Arias 1454 (MEXU) KF783781/ / KF783406/ KF783483/ KF783561/ KF783631/ KF783702. *Echinocereus bonkeriae* Thornber & Bonker. DBG 1991.0375, cult.: KF783782/ KF783407/ KF783484/ KF783567/ KF783632/ KF783703. *Echinocereus brandegeei* (J. M. Coult.) K. Schum. Baja Cal. S.: Arias 1823 (MEXU) KF783783/ KF783408/ KF783485/ KF783562/ KF783633/ KF783704. *Echinocereus bristolii* W. T. Marshall. DBG 1994.0679, cult.: KF783784/ KF783409/ KF783486/ KF783563/ KF783634/ KF783705. *Echinocereus chisosensis* W. T. Marshall. Durango: Sánchez 87 (MEXU) KF783848/ KF783475/ KF783534/ KF783623/ KF783693/ KF783772. *Echinocereus cinerascens* (D. C.) Lem. Hidalgo: Arias 1732 (MEXU) KF783786/ KF783411/ KF783488/ KF783565/ KF783636/ KF783707. *Echinocereus coccineus* Engelm. Chihuahua: Sánchez 64 (MEXU) KF783787/ KF783412/ KF783489/ KF783566/ KF783637/ KF783708. *Echinocereus dasyacanthus* Engelm. Chihuahua: Sánchez 63 (MEXU) KF783788/ KF783413/ KF783490/ KF783568/ KF783638/ KF783709. *Echinocereus engelmannii* (Perry ex Engelm.) Lem. Baja Cal.: Arias 1813 (MEXU) KF783789/ KF783414/ KF783491/ KF783570/ KF783639/ KF783710. *Echinocereus enneacanthus* Engelm. Durango: Sánchez 74 (MEXU) KF783790/ KF783415/ KF783492/ KF783573/ KF783640/ KF783711. *Echinocereus fasciculatus* (Engelm. ex S. Watson) L. D. Benson. U. S. A. Arizona: Anderson 6186 (DES) KF783791/ KF783416/ KF783493/ KF783571/ KF783641/ KF783712. *Echinocereus fendleri* (Engelm.) Rümpler. Sonora: Arias 2031 (MEXU) KF783792/ KF783417/ KF783494/ KF783572/ KF783642/ KF783713. *Echinocereus ferreirianus* subsp. *ferreirianus* H. E. Gates. Baja Cal.: Lindsay s. n. (DES) KF783793/ KF783418/ KF783495/ KF783574/ KF783634/ KF783714. *Echinocereus ferreirianus* subsp. *lindsayi* (J. Meyrán) N. P. Taylor. Baja Cal.: Arias 1814 (MEXU) KF783794/ KF783419/ KF783496/ KF783575/ KF783644/ KF783715. *Echinocereus grandis* Britton & Rose. Baja Cal.: López s.n. (MEXU) KF783795/ KF783420/ KF783497/ KF783576/ KF783645/ KF783716. *Echinocereus knippelianus* Liebner. Nuevo León: Arias 2127 (MEXU) KF783796/ KF783421/ KF783498/ KF783577/ KF783646/ KF783717. *Echinocereus koehresianus* (G. Frank) W. Rischer. Sinaloa: Sánchez 14 (MEXU) KF783797/ KF783422/ KF783499/ KF783578/ KF783647/ KF783718. *Echinocereus laui* G. Frank. Sonora: Sánchez 33 (MEXU) KF783826/ KF783451/ KF783500/ KF783605/ KF783675/ KF783747. *Echinocereus leucanthus* N. P. Taylor. Sonora: Terrazas 410 (MEXU) KF783827/ KF783452/ KF783501/ DQ100001/ DQ099932/ KF783748. *Echinocereus longisetus* (Engelm.) Lem. Coahuila: Guzmán 1501 (MEXU) KF783798/ KF783423/ KF783502/ KF783579/ KF783648/ KF783719. *Echinocereus mapimiensis* Anderson. Durango: Sánchez 84 (MEXU) KF783849/ KF783858/ KF783535/ KF783624/ KF783694/ KF783773. *Echinocereus maritimus* (M. E. Jones) K. Schum. Baja Cal. S.: Arias 1804 (MEXU) KF783799/ KF783424/ KF783503/ KF783580/ KF783649/ KF783720. *Echinocereus metornii* G. Frank. Coahuila: Sánchez 83 (MEXU) KF783851/ KF783476/ KF783536/ KF783626/ KF783696/ KF783775. *Echinocereus nicholii* (L. D. Benson) B. D. Parfitt. Sonora: Arias 2029 (MEXU) KF783800/ KF783425/ KF783504/ KF783581/ KF783650/ KF783721. *Echinocereus nivosus* Glass & R. A. Foster. Coahuila: Sánchez 88 (MEXU) KF783854/ KF783457/ KF783537/ KF783608/ KF783678/ KF783752. *Echinocereus palmeri* Britton & Rose. Chihuahua: Sánchez 66 (MEXU) KF783801/ KF783426/ KF783505/ KF783582/ KF783651/ KF783722. *Echinocereus pamanesiorum* A. B. Lau. Zacatecas: Arias 1879 (MEXU) KF783802/ KF783427/ KF783506/ KF783583/ KF783652/ KF783723. *Echinocereus parkeri* N. P. Taylor. San Luis Potosí: Arias 2122 (MEXU) KF783803/ KF783428/ KF783507/ KF783584/ KF783653/ KF783724. *Echinocereus pectinatus* (Scheidw.) Engelm. San Luis Potosí: Arias 1918 (MEXU) KF783804/ KF783429/ KF783508/ KF783569/ KF783654/ KF783725. *Echinocereus pensilis* (K. Brandegee) J. A. Purpus. Baja Cal. S.: Arias 1295 (MEXU) KF783832/ KF783458/ KF783538/ KF783609/ KF783679/ KF783753. *Echinocereus pentalophus* (DC) Lem. Querétaro: Arias 1737 (MEXU) KF783778/ KF783403/ KF783509/ KF783558/ KF783628/ KF783699. *Echinocereus polyacanthus* Engelm. Chihuahua: Sánchez 24 (MEXU) KF783805/ KF783430/ KF783510/ KF783585/ KF783655/ KF783726. *Echinocereus poselgeri* Lem. Tamaulipas: Arias 2000 (MEXU) KF783828/ KF783453/ KF783539/ KF783606/ KF783676/ KF783749. *Echinocereus poselgeri* Lem. Nuevo León: Arias 1452 (MEXU) KF783829/ KF783454/ KF783540/ DQ100004/ DQ099935/ -. *Echinocereus primolanatus* Fritz Shwarz ex N. P. Taylor. Coahuila: Arias 1959 (MEXU) KF783806/ KF783431/ KF783511/ KF783586/ KF783656/ KF783727. *Echinocereus pseudopectinatus* (N. P. Taylor) N. P. Taylor. DBG 1994.0680, cult.: KF783807/ KF783432/ KF783512/ KF783587/ KF783657/ KF783728. *Echinocereus pulchellus* (Mart.) C. F. Först ex F. Seitz. Nuevo León: Arias 1442 (MEXU) KF783808/ KF783433/ KF783513/ KF783588/ KF783658/ KF783729. *Echinocereus pulchellus* subsp. *weinbergii* (Weing.) N. P. Taylor. Zacatecas: Sánchez 08 (MEXU) KF783809/ KF783434/ KF783514/ KF783589/ KF783659/ KF783730. *Echinocereus rayonesensis* N. P. Taylor. Nuevo León: Arias 1947 (MEXU) KF783810/ KF783435/ KF783515/ KF783590/ KF783660/ KF783731. *Echinocereus reichenbachii* (Terschek ex Walp.) Haage. Coahuila: Arias 1956 (MEXU) KF783811/ KF783436/ KF783516/ KF783591/ KF783661/ KF783732. *Echinocereus rigidissimus* (Engelm.) Haage. Sonora: Arias 2019 (MEXU) KF783812/ KF783437/ KF783517/ KF783592/ KF783662/ KF783733. *Echinocereus santaritensis* W. Blum & Rutow. U. S. A. Arizona: Baker 13810 (DES) KF783813/ KF783438/ KF783518/ KF783593/ KF783663/ KF783734. *Echinocereus scheeri* (Salm-Dyck) Scheer. Chihuahua: Sánchez 36 (MEXU) KF783814/ KF783439/ KF783519/ KF783594/ KF783664/ KF783735. *Echinocereus schereri* G. Frank. Durango: Sánchez 72 (MEXU) KF783815/ KF783440/ KF783520/ KF783597/ KF783665/ KF783736. *Echinocereus schmollii* (Weing.) N. P. Taylor. Querétaro: Arias 91 (MEXU) KF783831/ KF783456/ KF783521/ DQ100005/ D099936/ KF783751. *Echinocereus sciurus* (K. Brandegee) Dams. Sinaloa: Arias 1836 (MEXU) KF783785/ KF783410/ KF783487/ KF783564/ KF783635/ KF783706. *Echinocereus scopulorum* Britton & Rose. Sonora: Arias 2017 (MEXU) KF783816/ KF783441/ KF783522/ KF783596/ KF783666/ KF783737. *Echinocereus spinigemmatum* A. B. Lau. Jalisco: Arias 1874 (MEXU) KF783817/ KF783442/ KF783523/ KF783597/ KF783667/ KF783738. *Echinocereus stoloniferus* W. T. Marshall. Chihuahua: Sánchez 32 (MEXU) KF783818/ KF783443/ KF783524/ KF783598/ KF783668/ KF783739. *Echinocereus stramineus* (Engelm.) Engelm. ex F. Seitz. Chihuahua: Arias 2049 (MEXU) KF783819/ KF783444/ KF783525/ KF783599/ KF783669/ KF783740. *Echinocereus subinermis* (Salm-Dyck) Scheer. Sinaloa: Guzmán 1312 (MEXU) KF783820/ KF783445/ KF783526/ KF783600/ KF783670/ KF783741. *Echinocereus triglochidiatus* Engelm. U. S. A. Arizona: Earle s.n. (DES), KF783821/ KF783446/ KF783527/

DQ100006/ DQ099937/ KF783742. *Echinocereus viereckii* Werderm. Tamaulipas: *Arias* 1996 (MEXU) KF783822/ KF783447/ KF783528/ KF783601/ KF783671/ KF783743. *Echinocereus viridiflorus* Engelm. subsp. *viridiflorus*. U. S. A. New Mexico: *Baker* 14479 (MEXU), KF783823/ KF783448/ KF783529/ KF783602/ KF783672/ KF783744. *Echinocereus viridiflorus* subsp. *cylindricus* (Engelm.) N. P. Taylor. Coahuila: *Sánchez* 80 (MEXU) KF783847/ KF783474/ KF783533/ KF783622/ KF783692/ KF783771. *Echinocereus waldeisii* Haugg. San Luis Potosí: *Arias* 2002 (MEXU) KF783830/ KF783455/ KF783530/ KF783607/ KF783677/ KF783750. *Echinocereus websterianus* G. E. Linds. Sonora: *Lindsay* s.n. (DES) KF783824/ KF783449/ KF783531/ KF783603/ KF783673/ KF783745. *Epiphyllum hookeri* Haw. Chiapas: *Bravo* s.n. (MEXU) KF783850/ KF783859/ KF783541/ KF783625/ KF783695/ KF783774. *Escontria chiotilla* (Weber ex K. Schum.) Rose. Oaxaca: *Arias* 891 (MEXU) KF783833/ KF783459/ KF783542/ KF783610/ KF783680/ KF783754. *Eulychnia breviflora* Phil. HBG 78399, cult.: -/ KF783860/ KF783543/ KF783619/ KF783689/ KF783767; BBG 26764, cult./ FN669772/ -/ -/ -/ -/ -. *Lemaireocereus hollianus* (F. A. C. Weber ex J. M. Coult.) Britton & Rose. Puebla: *Arias* 1373 (CHAPA) KF783834/ KF783460/ KF783544/ AY181603/ AY181623/ -. *Leptocereus quadricostatus* (Bello) Britton & Rose. PERU. Cabo Rojo: *Arias* 1464 (MEXU) KF783845/ KF783471/ -/ KF783620/ KF783690/ KF783768. *Leptocereus quadricostatus* (Bello) Britton & Rose. ISU no ref., cult.: -/ -/ AY851582 (Butterworth and Wallace 2005)/ -/ -/ -. *Myrtillocactus cochal* (Orcutt) Britton & Rose. Baja Cal. S.: *Orduño* s. n.

(MEXU) KF783835/ KF783856/ KF783545/ KF783611/ KF783681/ KF783755. *Myrtillocactus geometrizzans* (Mart. ex Pfeiff.) Console. Puebla: *Arreola* 1599 (CHAPA) KF783836/ KF783461/ KF783546/ KF783612/ KF783682/ KF783756. *Myrtillocactus schenckii* (J. A. Purpus) Britton & Rose. Puebla: *Terrazas* 500 (CHAPA) KF783837/ KF783857/ KF783547/ AY181607/ AY181633/ KF783757. *Neobuxbaumia laui* (P. V. Heat) D. R. Hunt. Oaxaca: *Barba* s.n. (MEXU) KF783838/ KF783462/ KF783548/ KF783613/ KF783683/ KF783758. *Pachycereus pringlei* (S. Watson) Britton & Rose. Baja Cal. S.: *Arias* 1348 (CHAPA) KF783839/ KF783463/ KF783549/ AY181589/ AY181642/ KF783759. *Peniocereus lazaro-cardenasii* (Contreras et al.) D. R. Hunt. Michoacán: *Contreras* 20 (MEXU) KF783853/ KF783464/ KF783550/ DQ100021/ DQ099952/ KF783760. *Polaskia chichipe* (Gosselin) Backeb. Puebla: *Arias* 1529 (MEXU) KF783840/ KF783465/ KF783551/ KF783614/ KF783684/ KF783761. *Stenocereus alamosensis* (J. M. Coult.) A. C. Gibson & K. E. Horak. Sinaloa: *Arias* 1838 (MEXU) KF783841/ KF783466/ KF783552/ KF783615/ KF783685/ KF783762. *Stenocereus eruca* (Brandege) A. C. Gibson & K. E. Horak. Baja Cal. S.: *Arreola* 1614 (CHAPA) KF783842/ KF783467/ KF783556/ KF783616/ KF783686/ KF783763. *Stenocereus montanus* (Britton & Rose) Buxb. Sonora: *Arias* 2004 (MEXU) KF783852/ KF783468/ KF783553/ KF783617/ KF783687/ KF783764. *Stenocereus pruinosus* (Otto ex Pfeiff.) Buxb. Puebla: *Arias* 750 (MEXU) KF783843/ KF783469/ KF783554/ KF783618/ KF783688/ KF783765. *Stenocereus stellatus* (Pfeiff.) Riccob. Puebla: *Arias* 1375 (MEXU) KF783844/ KF783470/ KF783555/ AY181590/ AY181640/ KF783766.

CAPÍTULO 2

How and why does the areole meristem move in *Echinocereus* (Cactaceae)?

Autores: Daniel Sánchez, Dalia Grego-Valencia, Teresa Terrazas y Salvador Arias.

Fuente: *Annals of Botany*, 115 (1): 19-26. 2015.

Fecha de publicación: enero 2015.

Publicado por: Oxford University Press.

URL: <http://aob.oxfordjournals.org/content/115/1/19>

How and why does the areole meristem move in *Echinocereus* (Cactaceae)?

Daniel Sánchez¹, Dalia Grego-Valencia², Teresa Terrazas^{2,*} and Salvador Arias¹

¹Jardín Botánico, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México Distrito Federal, 04510, Mexico and ²Departamento de Botánica, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México Distrito Federal 04510, Mexico

* For correspondence. E-mail tterrazas@ib.unam.mx

Received: 16 July 2014 Returned for Revision: 18 August 2014 Accepted: 5 September 2014 Published electronically: 14 November 2014

• **Background and Aims** In Cactaceae, the areole is the organ that forms the leaves, spines and buds. Apparently, the genus *Echinocereus* develops enclosed buds that break through the epidermis of the stem adjacent to the areole; this trait most likely represents a synapomorphy of *Echinocereus*. The development of the areole is investigated here in order to understand the anatomical modifications that lead to internal bud development and to supplement anatomical knowledge of plants that do not behave according to classical shoot theory.

• **Methods** The external morphology of the areole was documented and the anatomy was studied using tissue clearing, scanning electron microscopy and light microscopy for 50 species that represent the recognized clades and sections of the traditional classification of the genus, including *Morangaya pensilis* (*Echinocereus pensilis*).

• **Key Results** In *Echinocereus*, the areole is sealed by the periderm, and the areole meristem is moved and enclosed by the differential growth of the epidermis and surrounding cortex. The enclosed areole meristem is differentiated in a vegetative or floral bud, which develops internally and breaks through the epidermis of the stem. In *Morangaya pensilis*, the areole is not sealed by the periderm and the areole meristem is not enclosed.

• **Conclusions** The enclosed areole meristem and internal bud development are understood to be an adaptation to protect the meristem and the bud from low temperatures. The anatomical evidence supports the hypothesis that the enclosed bud represents one synapomorphy for *Echinocereus* and also supports the exclusion of *Morangaya* from *Echinocereus*.

Key words: Areole meristem, Cactaceae, enclosed meristem, *Echinocereus*, enclosed bud, erumpent bud, sealed areole, periderm.

INTRODUCTION

The shoot apical meristem in angiosperms shows active cell division and differentiation, resulting in stem elongation and the formation of leaves and buds. The buds are immature shoots located in the axils of the leaves, which may grow to form vegetative or reproductive branches (Simpson, 2006). In Cactaceae, the photosynthetic body or stem is represented by a long shoot (Mauseth, 2006) that bears a large quantity of areoles. The areole is the most distinctive morphological trait and is recognized as a Cactaceae synapomorphy. Traditionally, the areole has been recognized as a structure homologous to the axillary bud (Buxbaum, 1951; Bravo-Hollis, 1978; Gibson and Nobel, 1986). However, the areole is recognized as a short shoot covered (Mauseth, 2006) with trichomes and dynamically produces stems (long shoots), leaves, spines and/or flowers. The study of areole morphology and ontogeny has revealed the dynamics of the areole meristem in Cactaceae (Troll, 1937). Of the 1438 species accepted in the most recent taxonomic synthesis of the Cactaceae family (Hunt *et al.*, 2006), ~85 % have monomorphic areoles; trichomes, stems or branches, leaves, spines and/or flowers are produced on the areole surface. The remaining 15 % of the species, included in the subfamily Cactoideae, show certain modifications in the morphology and anatomy of their areoles, which are expressed in the placement of their organs. For example, *Coryphantha*, *Escobaria* and *Neolloydia* have pseudo-dimorphic areoles (Boke, 1952, 1961)

that are elongated over the tubercle and produce spines on the proximal region and flowers or stems on the distal end. By contrast, *Mammillaria* has dimorphic areoles (Boke, 1953, 1955, 1958) in which a spiny areole appears on the apex of the tubercle and a flower-bearing areole appears in the axil. *Echinocereus* presents monomorphic areoles, and according to Britton and Rose (1922) ‘the flower-buds as well as the young shoots are deep-seated in their origin and do not appear just at the areoles as in most cacti and hence must break through the epidermis when they develop’. Taylor (1985) called this trait an erumpent bud; however, he argued that it is not present in all members of *Echinocereus*. Nevertheless, the erumpent bud has been recognized as an identifying trait (Moran, 1977) and is one of the synapomorphies (Sánchez *et al.*, 2014) of the genus. Despite the unusual origin of the vegetative and floral buds in *Echinocereus*, the morphology and development of the buds have not received much attention in anatomical research. Therefore, this work aims to describe the morphology and anatomy of the erumpent buds in *Echinocereus* and postulates an adaptive scenario for this trait.

MATERIALS AND METHODS

Sampling

We collected 50 taxa that represent the recovered clades within *Echinocereus* (Sánchez *et al.*, 2014), as well as the sections

recognized by Hunt *et al.* (2006). In particular, we included *Morangaya pensilis*, *E. brandegeei*, *E. maritimus* and *E. ferreirianus*; according to Taylor (1985), these species represent members of *Echinocereus* that diverge from the pattern described by Britton and Rose (1922). The majority of the samples were collected in Mexico between 2007 and 2013; most of these are maintained by cultivation in the Botanical Garden of Instituto de Biología at UNAM, and the additional specimens were deposited in the MEXU herbarium (Appendix 1). For the 50 taxa, a database including some climate information (CENAPRED, 2013) and geographical references has been generated as part of the systematic study of the genus (available by request from the first author).

Morphological and anatomical observations

Based on field and greenhouse observations, we documented the origin of the floral and vegetative buds for the majority of the species. Several areoles were sampled in the sub-apical region of the stem 2 months before the floral buds began to sprout (January and February). The areoles were fixed in 52 % ethanol, 10 % formalin and 5 % acetic acid (Johansen, 1940). If necessary, spines were removed from the samples to facilitate sectioning. For light microscopy analysis, the areoles were gradually dehydrated in *tert*-butyl alcohol (TBA) and included in paraffin in a tissue processor (Leica TP1020) with 24-h immersions starting at 50 % TBA. The samples were placed in Histowax (Leica) paraffin with a melting point of 56–58 °C. Longitudinal sections of 12 µm were obtained with a rotary microtome (Leica RM2125). The sections were stained with safranin and fast green (Johansen, 1940) and mounted in synthetic resin. Using scanning electron microscopy, the areoles were dehydrated in graded ethanol and critical point dried with an Emitech K850 drier. They were mounted on aluminium stubs with double-sided carbon conductive tape and coated with gold using a Hitachi-S-2460N sputter coater. The samples were viewed and photographed using a Hitachi-S-2460N scanning electron microscope at 15 kV. Lastly, another portion of the sample was cleared with a modified Debenham's (1939) treatment. For clearing, the areoles were submerged in 70 % lactic acid for 5 d and were washed with a 70 % glycerine solution, which was replaced every 24 h for 3 d and changed every 24 h to solutions of 50 % ethanol, 30 % ethanol and distilled water. We obtained images during this phase of the treatment. Afterwards, the areoles were bleached with a 50 % solution of commercial NaClO for 30 min on a hotplate at 40 °C and washed with three changes of distilled water for 24 h. Lastly, the areoles were stained with a solution of 0.03 % basic fuchsin in ethanol and washed in 70 % ethanol until the desired contrast was achieved.

RESULTS

Morphological observations of the areoles and buds in *Echinocereus* and *Morangaya*

Echinocereus areoles were monomorphic and circular to oval in shape (Fig. 1A). The immature areoles, which were very close to the apex, showed a high density of long trichomes with short and soft spines, whereas the mature areoles in the

sub-apical region presented short trichomes and sclerified spines (Fig. 1A–C). All of the *Echinocereus* species that were reviewed had erumpent buds, including the *Echinocereus* species from the Baja California Peninsula, which have been reported as taxa with non-erumpent buds (*E. brandegeei*, *E. ferreirianus* and *E. maritimus*) (Figs 1–3). In *E. maritimus*, a small bud arose on the edge of the areole, and it was not clearly recognized as an erumpent bud when we employed only external observations (Fig. 1J). The presence of erumpent buds may be corroborated directly or indirectly in the species of the genus throughout the three stages of development. During the first stage, when approaching the flowering period, a protuberance developed above the areole, corresponding to the 'hidden' floral bud (Fig. 1B, C; arrows); the areoles associated with these protuberances did not show any modification on the surface or in their spine organization (Fig. 1B–D). During the second stage, the floral bud broke through the stem epidermis (Fig. 1E–G; arrows). During the third stage, upon removal of the branches, flowers or stem fruit, a large scar (4–5 mm) could be observed outside the areole, without any modification to the areole; the scar had a diameter of 1.5 mm (Fig. 1H). In addition, the development of new branches occurred from the vegetative bud; this action also broke the epidermis adjacent to the areole, which upon emergence had its own areoles (Fig. 1I). By contrast, *Morangaya pensilis* (*E. pensilis*) showed circular monomorphic areoles, and both the immature and mature areoles were densely covered by trichomes. This species presented non-erumpent buds, and the floral bud developed within the boundary of the areole on the surface; the floral bud did not break through the epidermis (Fig. 1K, L). The scanning electron photomicrograph of the *M. pensilis* areole showed the tepals (Fig. 1L; red arrows) of the floral bud embedded in the trichomes of the areole.

Anatomical development of the areoles and buds in *Echinocereus*

In the longitudinal sections of immature areoles, we observed a superficial areole meristem surrounded by trichomes on the distal end of the areole (Fig. 2B). As the areole matured, the spines lignified and the base of the areole was sealed by a periderm with six to ten strata (Fig. 2E, arrow). In general, the areoles in the sub-apical region of the stem were already sealed by the periderm. After sealing the areole, significant growth occurred in the epidermis and the cortex located above the areole's meristem (Fig. 2B, C, arrows). At the same time, the meristem moved and was wrapped in these tissues (Fig. 2B, C); therefore, the areole meristem was enclosed in the outer cortical region and differentiated into floral or vegetative buds, which grew diagonal to the areole axis (Fig. 2C, E). The cleared areole corroborated the enclosing of the areole meristem (Fig. 2A, arrow) as well as the later development of the bud into the outer cortical region and measured ~2 mm, which could not be observed externally (Fig. 2A, D, G; arrows). The vascular trace branches formed two groups of vascular bundles, one directed towards the areole and another towards the bud. As the bud increased in size, its vascular tissue became more evident (Fig. 2E, G). In slender stems, such as those of *E. poselgeri* (<2 cm), the vascular traces were directly connected to the stem's vascular cylinder (not shown).

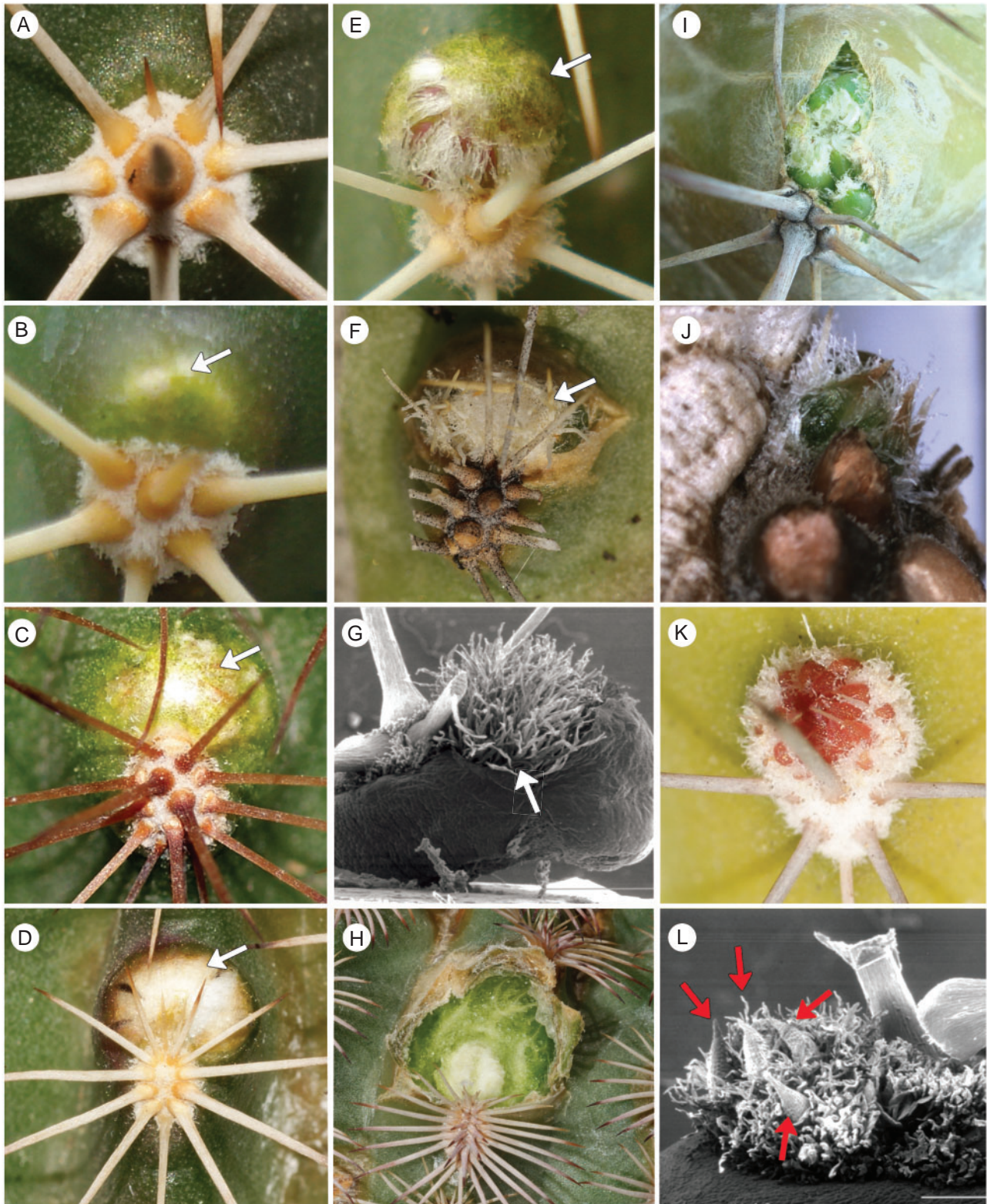


FIG. 1. Areole and bud morphology. (A) Monomorphic areole in *Echinocereus* (*E. scheeri* Sánchez 36). (B) Areole with protuberance in *E. pentalophus* (Arias 1740). (C) Areole with larger protuberance in *E. spinigemmatum* (Arias 1874). (D) Areole with the floral bud showing (*E. fendleri*, Arias 2031). (E) Areole with erumpent floral bud (*E. pentalophus*, Arias 1740). (F) Areole with erumpent vegetative bud in a species with putative non-erumpent buds (*E. ferreirianus*, Sánchez 95). (G) Scanning electron micrograph of erumpent bud (*E. pentalophus*, Arias 1740). (H) Scar formed after removing a flower (*E. pectinatus*, Terrazas 906). (I) Vegetative bud breaking through stem epidermis (*E. enneacanthus*, Arias 1427). (J) Small floral bud in a species with putative non-erumpent buds (*E. maritimus*, Sánchez 99). (K) Non-erumpent floral bud in *Morangaya pensilis* (Arias 1295). (L) Scanning electron micrograph of non-erumpent bud in *M. pensilis* (Arias 1295). Scale bar (L) = 1 mm.

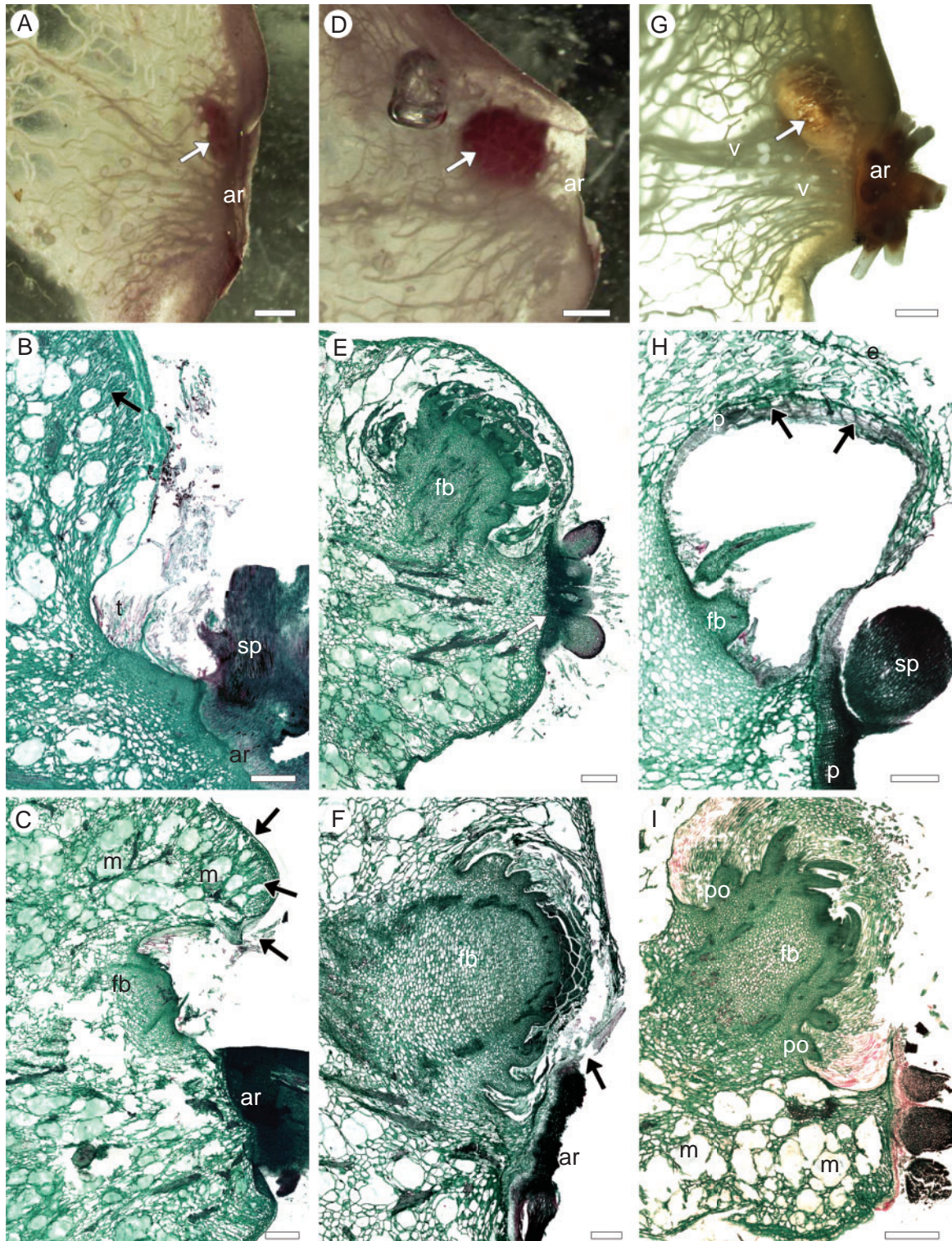


FIG. 2. Areole and bud anatomical development. (A) Mature areole clearing (*Echinocereus fendleri*, Arias 2031). (B) Immature areole, longitudinal section (*E. ferreirianus* subsp. *lindsayi*, Sánchez 89). (C) Mature areole, longitudinal section (*E. fendleri*, Arias 2031). (D) Mature areole clearing with an enclosed bud (*E. fendleri*, Arias 2031). (E) Areole with an enclosed bud, longitudinal section (*E. fendleri*, Arias 2031). (F) Enclosed bud, longitudinal section (*E. scheeri*, Sánchez 36). (G) Areole clearing with an enclosed floral bud (*E. fendleri*, Arias 2031). (H) Areole, tangential section (*E. pentalophus*, Arias 1740). (I) Areole with an erumpent bud, longitudinal section (*E. pamanesiorum*, Arias 1879). Scale bar (A, D, G) = 1 mm; (B, C, E, F, I) = 500 μ m; (H) = 250 μ m. Abbreviations: am, areole meristem; ar, areole; e, epidermis; fb, floral bud; m, mucilage; p, periderm; po, podarium; sp, spine; t, trichomes; v, vascular trace.

The areole's longitudinal sections confirmed that the protuberance above the areole corresponded to the floral bud that was developing internally. During this stage, when the protuberance was visible on the surface, the floral bud had initiated perianth differentiation and was immersed in the outer cortical tissue of the stem, surrounded by abundant mucilage cells (Fig. 2E, F, I). As the floral bud increased in size, it caused thinning of the rib cortex and epidermis. The epidermis became translucent (Fig. 1C, D; arrows) and the floral bud became evident underneath the epidermis (Figs 1C, D and 2E, F). Afterwards, the epidermis covering the floral bud became opaque (Fig. 1D) because the cells of the cortical tissue that were in contact with the floral bud differentiated into a wound periderm (Fig. 2H, arrows). The floral bud broke through the epidermis and a large quantity of trichomes could be observed through the opening (Figs 1G and 2F, I). For those species that are endemic to Baja California, the areole was

sealed by the periderm; the internally developing buds broke the epidermis or stem periderm to reach the surface, as exemplified by *E. brandegeei* (Fig. 3A, B). Another case is *E. maritimus*, a species with small buds (1 mm) in the distal edge of the areole (Fig. 3C); in this species, the small floral bud showed several periderm strata at the base coming from the stem (Fig. 3D). This observation was a result of the growth of the enclosed bud breaking through the stem periderm (Fig. 3D).

Anatomical development of the areoles and buds in *Morangaya pensilis*

The longitudinal areole sections indicated that the areole spines became lignified along with stem growth. The areole base remained covered by trichomes and normal epidermal cells; thus, the periderm did not develop and the tissue

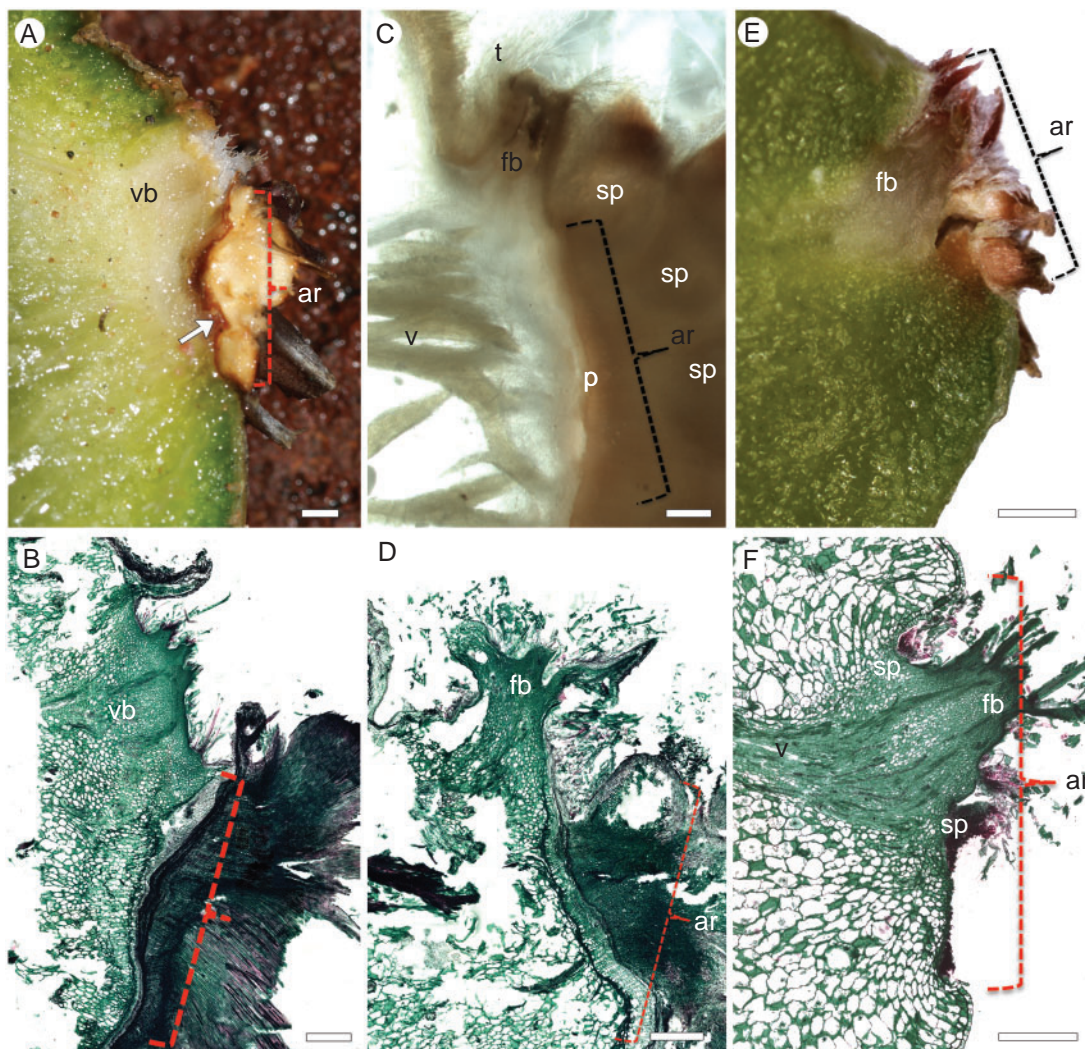


FIG. 3. Areole and bud anatomical development (continuation). (A) Fresh longitudinal section of an areole of *Echinocereus brandegeei* (Sánchez 90). (B) Areole of *E. brandegeei* with an erumpent vegetative bud, longitudinal section (Sánchez 90). (C) Areole clearing of *E. maritimus*, longitudinal section (Sánchez 99). (D) Areole of *E. maritimus* with an erumpent floral bud, longitudinal section (Sánchez 99). (E) Fresh longitudinal section of an areole of *Morangaya pensilis* (Arias 1295). (F) Areole of *M. pensilis* with non-erumpent floral bud, longitudinal section (Arias 1295). Scale bar (A, E) = 1 mm; (B, C, D) = 500 μ m. Abbreviations: ar, areole; fb, floral bud; p, periderm; sp, spine; t, trichomes; v, vascular trace; vb, vegetative bud.

remained alive. The areole's meristem was found in the distal region of the areole but was not enclosed and remained on the surface; thus, there was no internal bud development (Fig. 3E, F). Floral bud development was superficial and never broke through the stem epidermis adjacent to the areole. A single vascular trace irrigated the areole, including the floral bud, although greater development of vascular tissue was observed in areoles with a floral bud (Fig. 3F).

DISCUSSION

Areole meristem movement and bud development

The early development of the areole in *E. reichenbachii* (Boke, 1951) supports our observations for the 50 *Echinocereus* species in this study. The areole meristem is located on the distal end, and the various periderm strata at the areole base developed after growth of the spine primordia. However, Boke (1951) did not describe the cause of areole meristem movement in areole development. The growth of the epidermis and cortex located above and adjacent to the sealed areole may not be compensated because the periderm seals and disrupts its growth. This differential growth causes the tissue to curl and the areole meristem located at the distal end to begin to move. These tissues curl and form a loop; they fuse and the areole meristem thus becomes enclosed. This process has been discussed by other authors; e.g. Dickinson (1978) proposed that zonal growth and postgenital fusion are ontogenetic mechanisms that provoke the displacement of axillary buds and modify the classic shoot organization, as observed in several epiphyllous shoots (e.g. *Turnera*). Similarly, Kerstetter and Hake (1997) noted that in certain cases differential growth alters the position of the meristem in relation to other identifiable parts of the plant. The movement of the areole's meristem as a result of differential growth has been observed in other Cactaceae, such as *Coryphantha* and *Mammillaria* (Boke, 1952, 1953, 1955, 1958, 1961), although even in these genera the enclosed meristem is non-existent. The enclosed areole meristem in *Echinocereus* is demonstrated for the first time in the Cactaceae family in this study. Although Ross (1982) proposed, without showing evidence, that the areole meristem moves during the ontogeny of the rib and that an endogenous origin does not exist, the early development of the bud is clearly internal due to the moving and enclosing of the meristem. The enclosed areole meristem remains latent until it is defined as a floral bud or a vegetative bud depending on the interaction of the homeotic genes that are implicated in the identity of the meristem (Molinero-Rosales *et al.*, 1999). This phenomenon is also observed in *Coryphantha* and *Mammillaria*, in which the areole meristem and the flower-bearing meristem may develop stems and flowers, respectively. Therefore, both vegetative and floral buds in *Echinocereus* show internal development, as suggested by Britton and Rose (1922). The ontogeny of the areole's meristem in *Echinocereus* may be summarized in four stages after the formation of the spine primordia: (1) location of the meristem on the distal end of the areole; (2) development of the periderm at the base of the areole; (3) moving and enclosure of the meristem due to differential growth; and (4) definition of the meristem as a floral bud or a vegetative bud with internal development.

Certain species of *Echinocereus* show modifications in the areole and bud development patterns described above. For example, in the *Echinocereus* group from Baja California, particularly in *E. maritimus*, the areole is also sealed by the periderm and the meristem also moves, but the internal development of the bud never achieves a diameter greater than 1 mm. Therefore, the breaking through of the stem's epidermis or periderm is not as conspicuous as in the other species of the genus, giving the impression that the *Echinocereus* group from Baja California do not have erumpent buds, as proposed by Taylor (1985). However, our evidence is convincing and shows that all *Echinocereus* species develop erumpent buds.

In the case of *E. knippelianus* subsp. *reyesii*, the flowers emerge in the areoles closer to the apex (Blum *et al.*, 1998) and do not emerge by breaking through the epidermis. For this species, the determination of the areole's meristem as a floral bud occurs when the meristem is still superficial. While the development of new branches always occurs in areoles that are close to the base of the stem where the meristem is enclosed and the development of the vegetative bud is internal, the long shoot branches emerge by breaking the epidermis adjacent to the areole. Therefore, in *E. knippelianus* subsp. *reyesii* the development of the flowers only on the apex may be a result of the globose-depressed growth form and basitonic branching. Therefore, flowers must be formed quickly in the apex of the stem to ensure that the delicate floral buds in the areoles do not emerge close to the ground; this type of development prevents damage due to friction with the substrate.

Adaptive significance of the movement of the areole meristem and enclosed bud

Echinocereus is primarily distributed in the mountainous areas of northwestern Mexico and the southwestern USA (Taylor, 1985; Blum *et al.*, 1998), where snowfall and frosts are common during the winter (CENAPRED, 2013). In this context, the enclosed floral buds in *Echinocereus* begin to differentiate and grow during the winter months; therefore, the internal bud development and the sealing of the areole by the periderm represent traits that protect the bud against possible damage from low temperatures. In addition, the enclosed bud is surrounded by a large quantity of mucilage, which allows a gradual flow of water from the cell towards the extracellular ice crystals under freezing temperatures, and is thus less harmful to cells (Goldstein and Nobel, 1991).

Moreover, Gibson and Nobel (1986) suggested that in many members of Cactaceae, once the areole forms a flower and the fruit has matured, the periderm develops to seal the stem areole, thus preventing water loss and infection. In *Echinocereus*, this process occurs prematurely before the areole develops a flower or a stem and provides the same advantages. Even when the new shoot emerges and breaks the epidermis, the exposed tissues develop a wound periderm to seal and protect the stem (Nawrath, 2002). As a consequence, the *Echinocereus* areoles do not form new spines and only have a single flowering or branching event upon sealing the areole, as has been reported in the cephalia of certain cacti (e.g. Mauseth, 1989, 1999; Vázquez-Sánchez *et al.*, 2005, 2007). In contrast, other related genera may generate new spines (e.g. *Cephalocereus*;

Bárceñas-Argüello *et al.*, 2014) or produce various flowering events in a single areole (e.g. *Lophocereus*, *Myrtillocactus* and *Stenocereus*; Mauseth, 2006).

Systematic implications of enclosed buds

Taylor (1985) suggests that the erumpent bud is a specialized trait that is not found in all *Echinocereus* species, which is why *Morangaya pensilis* was included in the genus. However, this study revealed that the buds of *Echinocereus* are enclosed and consequently erumpent and that the areole is sealed by the periderm; however, in *M. pensilis* the buds are external and non-erumpent, and the areole is not sealed by the periderm. The anatomical mechanism of floral and vegetative bud development in *Morangaya* is typical of what has been observed in the majority of the Cactaceae. These results support the proposal to exclude *M. pensilis* from *Echinocereus* (Moran, 1977; Sánchez *et al.*, 2014). Taylor (1985) also suggests that, in addition to *Morangaya*, various *Echinocereus* taxa (e.g. *Erecti* section) show non-erumpent buds. Our results refute this proposal because *E. brandegeei*, *E. maritimus* and *E. ferreirianus* show enclosed buds that are erumpent. Therefore, our results support the proposal of Sánchez *et al.* (2014), who recognize the erumpent bud trait as a synapomorphy of the genus.

In a broader context, the most recent phylogenies (Bárceñas *et al.*, 2011; Sánchez *et al.*, 2014) suggest that *Echinocereus* and the *Stenocereus* group (*Escontria*, *Morangaya*, *Myrtillocactus*, *Polaskia* and *Stenocereus*; Sánchez *et al.*, 2014) are sister groups. The innovation of the enclosed meristems and the consequent development of enclosed buds in *Echinocereus* had a determining role in the evolutionary process of this lineage, which originated 4.6 ± 1.7 m.y.a. (Arakaki *et al.*, 2011) and has diversified extensively in specific regions of central northern Mexico and the southern USA (64 species; Hunt *et al.*, 2006). However, the *Stenocereinae* lineage did not diversify. Thus, we conclude that in *Echinocereus* the sealing of the areole by the periderm, the moving of the areole meristem and the development of enclosed buds is a well-coordinated anatomical process that represents a synapomorphic trait of the genus. These modifications constitute an adaptation to protect the areole meristem or bud from the low temperatures that prevail in its habitat and promote the diversification of this lineage. Although the anatomical process is described, it will be necessary to investigate the molecular mechanism of the areole tissues that causes the movement of the meristem and promotes the diagonal growth of the bud to break the stem epidermis and emerge.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank B. Mendoza (IB, UNAM) for assistance with scanning electron microscopy, J. Delgadillo (FC, UABC) for helping in the field and J. C. Montero for graphic design work. This study is part of the requirements for D.S. to obtain the Doctor of Science degree from the Posgrado en Ciencias Biológicas UNAM (PCB). D.S. thanks PCB for facilities and CONACYT for a scholarship (210585). S.A. thanks the UNAM-DGAPA-PAPIIT (IN204512) programme for financial support. The authors also thank Dennis W. Stevenson,

one anonymous reviewer and the handling editor, John Barnett, for valuable comments and suggestions to improve this manuscript.

This manuscript is dedicated to Norman H. Boke.

LITERATURE CITED

- Arakaki M, Christin PA, Nyffeler R, *et al.* 2011. Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plants lineages. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **108**: 8379–8384.
- Bárceñas-Argüello ML, Terrazas T, Arias S. 2014. Trichomes with crystals in the *Cephalocereus* Pfeiff. areoles. *Botanical Sciences* **92**: 335–342.
- Bárceñas RT, Yesson C, Hawkins JA. 2011. Molecular systematics of the Cactaceae. *Cladistics* **27**: 470–489.
- Blum W, Lange D, Rischer M, Rutow J. 1998. *Echinocereus*. Monographie. Turnhout: Proost.
- Boke NH. 1951. Histogenesis of the vegetative shoot in *Echinocereus*. *American Journal of Botany* **38**: 23–38.
- Boke NH. 1952. Leaf and areole development in *Coryphantha*. *American Journal of Botany* **39**: 134–145.
- Boke NH. 1953. Tubercle development in *Mammillaria heyderi*. *American Journal of Botany* **40**: 239–247.
- Boke NH. 1955. Dimorphic areoles of *Epithelantha*. *American Journal of Botany* **42**: 725–733.
- Boke NH. 1958. Areole histogenesis in *Mammillaria lasiacantha*. *American Journal of Botany* **45**: 473–479.
- Boke NH. 1961. Areole dimorphism in *Coryphantha*. *American Journal of Botany* **48**: 593–603.
- Bravo-Hollis H. 1978. *Las Cactáceas de México*. Vol. I. Mexico D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Britton NL, Rose JN. 1922. *The Cactaceae*. Vol. III. Washington, DC: Carnegie Institution of Washington.
- Buxbaum F. 1951. *Morphology of cacti. Section I. Root and stems*. Pasadena: Abbey Garden Press.
- CENAPRED. *Atlas Nacional de Riesgos, mapas relacionados a heladas y nevadas*. Mexico. <http://atl.cenapred.unam.mx/index.php> (November, 2013).
- Debenham EM. 1939. A modified technique for the microscopic examination of the xylem of whole plants or plant organs. *Annals of Botany* **3**: 369–374.
- Dickinson TA. 1978. Epiphyllly in angiosperms. *Botanical Review* **44**: 181–232.
- Gibson AC, Nobel PS. 1986. *The cactus primer*. Cambridge: Harvard University Press.
- Goldstein G, Nobel PS. 1991. Changes in osmotic pressure during low-temperature acclimation of *Opuntia ficus-indica*. *Plant Physiology* **97**: 954–961.
- Hunt DR, Taylor NP, Charles G. 2006. *The new cactus lexicon*. Milborne Port: DH Books.
- Johansen DA. 1940. *Plant microtechnique*. New York: McGraw-Hill.
- Kerstetter RA, Hake S. 1997. Shoot meristem formation in vegetative development. *Plant Cell* **9**: 1001–1010.
- Mauseth JD. 1989. Comparative structure-function studies within a strongly dimorphic plant, *Melocactus intortus* (Cactaceae). *Bradleya* **7**: 1–11.
- Mauseth JD. 1999. Comparative anatomy of *Espositoa*, *Pseudoespositoa*, *Thrixanthocereus*, and *Vatricania* (Cactaceae). *Bradleya* **17**: 33–43.
- Mauseth JD. 2006. Structure-function relationships in highly modified shoots of Cactaceae. *Annals of Botany* **98**: 901–926.
- Molinero-Rosales N, Jamilena M, Zurita S, Gómez P, Lozano R. 1999. *FALSIFLORA*, the tomato orthologue of *FLORICAULA* and *LEAFY*, controls flowering time and floral meristem identity. *Plant Journal* **20**: 685–693.
- Moran R. 1977. ¿Qué hacer con *Cereus pensilis*? *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **22**: 27–35.
- Nawrath C. 2002. The biopolymers cutin and suberin. *The Arabidopsis Book* **1**: e0021. doi 10.1199/tab.0021.
- Ross R. 1982. Initiation of stamens, carpel and receptacle in the Cactaceae. *American Journal of Botany* **69**: 369–379.
- Sánchez D, Arias S, Terrazas T. 2014. Phylogenetic relationships in *Echinocereus* (Cactaceae, Cactoideae). *Systematic Botany* **39**. doi 10.1600/036364414X683831.
- Simpson MG. 2006. *Plant systematics*. San Diego: Elsevier Academic Press.
- Taylor NP. 1985. *The genus Echinocereus*. Kew Magazine Monograph. Portland: Timber Press.

- Troll W. 1937. *Vergleichende Morphologie der höheren Pflanzen. Band I, Vegetationsorgane, Teil I*. Berlin: Gebrüder Borntraeger.
- Vázquez-Sánchez M, Terrazas T, Arias S. 2005. Morfología y anatomía del cefalio de *Cephalocereus senilis* (Cactaceae). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 62: 153–161.
- Vázquez-Sánchez M, Terrazas T, Arias S. 2007. Morphology and anatomy of the *Cephalocereus columna-trajani* cephalium: why tilting? *Plant Systematics and Evolution* 265: 87–99.

APPENDIX

List of species sampled in this study, presented in alphabetical order, and following this format: Species, Voucher (HERBARIUM ACRONYM), Provenance and Observations: 1: External morphology of the areole examined; 2: Anatomical slides of the areole reviewed; *Examined or reviewed but not shown in figures.

Echinocereus acifer (Otto ex Salm-Dyck) Jacobi, *Sánchez* 21 (MEXU), MEX, Zacatecas: 1*, 2*. *Echinocereus adustus* Engelm., *Sánchez* 23 (MEXU), MEX, Chihuahua: 1*. *Echinocereus arizonicus* Rose ex Orcutt, *Sánchez* 44 (MEXU), MEX, Chihuahua: 1*. *Echinocereus berlandieri* (Engelm.) Haage, *Arias* 1454 (MEXU), MEX, Nuevo León: 1*. *Echinocereus brandegeei* (J. M. Coult.) K. Schum., *Sánchez* 90 (MEXU), MEX, Baja California Sur.: 1, 2. *Echinocereus chisosensis* W. T. Marshall, *Sánchez* 87 (MEXU), MEX, Durango: 1*. *Echinocereus cinerascens* (D. C.) Lem., *Arias* 1732 (MEXU), MEX, Hidalgo: 1*. *Echinocereus coccineus* Engelm., *Sánchez* 64 (MEXU), MEX, Chihuahua: 1*. *Echinocereus dasyacanthus* Engelm., *Sánchez* 63 (MEXU), MEX, Chihuahua: 1*. *Echinocereus engelmannii* (Parry ex Engelm.) Lem., *Sánchez* 104 (MEXU), MEX, Baja California: 1*. *Echinocereus enneaacanthus* Engelm., *Arias* 1427 (MEXU), MEX, Durango: 1, 2*. *Echinocereus fendleri* (Engelm.) Rümpler, *Arias* 2031 (MEXU), MEX, Sonora: 1, 2. *Echinocereus ferreirianus* H. E. Gates, *Sánchez* 95 (MEXU), MEX, Baja California: 1, 2. *Echinocereus ferreirianus* subsp. *lindsayi* (J. Meyrán) N. P. Taylor, *Sánchez* 89 (MEXU), MEX, Baja California: 1*, 2. *Echinocereus knippelianus* Liebner, *Arias* 2127 (MEXU), MEX, Nuevo León: 1*. *Echinocereus knippelianus* subsp. *reyesii* Lau, *Arias* 1939 (MEXU), MEX, Nuevo León: 1*. *Echinocereus koehresianus* (G. Frank) W. Rischer, *Sánchez* 14 (MEXU), MEX, Sinaloa: 1*. *Echinocereus laui* G. Frank, *Sánchez* 33 (MEXU), MEX, Sonora: 1*. *Echinocereus leucanthus* N. P. Taylor, *Arias* 1845 (MEXU), MEX, Sonora: 1*. *Echinocereus longisetus* (Engelm.) Lem., *Guzmán* 1501 (MEXU), MEX, Coahuila: 1*. *Echinocereus mapimiensis* Anderson, *Sánchez* 84 (MEXU), MEX,

Durango: 1*. *Echinocereus maritimus* (M. E. Jones) K. Schum., *Sánchez* 99 (MEXU), MEX, Baja California: 1, 2. *Echinocereus metornii* G. Frank, *Sánchez* 83 (MEXU), MEX, Coahuila: 1*. *Echinocereus nicholii* (L. D. Benson) B. D. Parfitt, *Arias* 2029 (MEXU), MEX, Sonora: 1*. *Echinocereus nivosus* Glass & R. A. Foster, *Sánchez* 88 (MEXU), MEX, Coahuila: 1*. *Echinocereus palmeri* Britton & Rose, *Sánchez* 66 (MEXU), MEX, Chihuahua: 1*, 2*. *Echinocereus pamanesiorum* A. B. Lau, *Arias* 1879 (MEXU), MEX, Zacatecas: 1*, 2. *Echinocereus parkeri* N. P. Taylor, *Arias* 2122 (MEXU), MEX, San Luis Potosí: 1*, 2*. *Echinocereus pectinatus* (Scheidw.) Engelm., *Terrazas* 906 (MEXU), MEX, San Luis Potosí: 1. *Echinocereus pentalophus* (DC) Lem., *Arias* 1740 (MEXU), MEX, San Luis Potosí: 1, 2. *Echinocereus polyacanthus* Engelm., *Sánchez* 24 (MEXU), MEX, Chihuahua: 1*, 2*. *Echinocereus poselgeri* Lem., *Arias* 1452 (MEXU), MEX, Nuevo León: 1*, 2*. *Echinocereus primolanatus* Fritz Shwarz ex N. P. Taylor, *Arias* 1959 (MEXU), MEX, Coahuila: 1*. *Echinocereus pulchellus* (Mart.) C. F. Först ex F. Seitz, *Sánchez* 08 (MEXU), MEX, Zacatecas: 1*. *Echinocereus rayonesensis* N. P. Taylor, *Arias* 1947 (MEXU), MEX, Nuevo León: 1*. *Echinocereus reichenbachii* (Terscheck ex Walp.) Haage, *Arias* 1956 (MEXU), MEX, Coahuila: 1*. *Echinocereus rigidissimus* (Engelm.) Haage, *Arias* 2019 (MEXU), MEX, Sonora: 1*. *Echinocereus scheeri* (Salm-Dyck) Scheer, *Sánchez* 36 (MEXU), MEX, Chihuahua: 1, 2. *Echinocereus schererii* G. Frank, *Sánchez* 72 (MEXU), MEX, Durango: 1*. *Echinocereus schmollii* (Weing.) N. P. Taylor, *Arias* 91 (MEXU), MEX, Querétaro: 1*. *Echinocereus sciurus* (K. Brandegees) Dams, *Arias* 1836 (MEXU), MEX, Sinaloa: 1*. *Echinocereus scopulorum* Britton & Rose, *Arias* 2017 (MEXU), MEX, Sonora: 1*. *Echinocereus spinigemmatum* A. B. Lau, *Arias* 1874 (MEXU), MEX, Jalisco: 1*. *Echinocereus stoloniferus* W. T. Marshall, *Sánchez* 32 (MEXU), MEX, Chihuahua: 1*. *Echinocereus stramineus* (Engelm.) Engelm. ex F. Seitz, *Sánchez* 77 (MEXU), MEX, Coahuila: 1*. *Echinocereus subinermis* (Salm-Dyck) Scheer, *Guzmán* 1312 (MEXU), MEX, Sinaloa: 1*. *Echinocereus viereckii* Werderm., *Arias* 1996 (MEXU), MEX, Tamaulipas: 1*. *Echinocereus viridiflorus* Engelm., *Sánchez* 80 (MEXU), MEX, Coahuila: 1*. *Echinocereus waldeisii* Haugg, *Arias* 2002 (MEXU), MEX, San Luis Potosí: 1*. *Morangaya pensilis* (K. Brandegees) G. D. Rowley, *Arias* 1295 (MEXU), MEX, Baja California Sur: 1, 2.

CAPÍTULO 3

Análisis filogenético de *Echinocereus* (Cactaceae, Cactoideae, Echinocereae) basado en caracteres morfológicos y moleculares.

Resumen

Echinocereus es un género morfológicamente diverso formado por 64 especies, las cuales han sido agrupadas en ocho secciones con base en atributos morfológicos. Se ha sugerido que la inclusión de varias fuentes de evidencia en un análisis filogenético produce hipótesis mejor apoyadas. En este sentido, se realizó un análisis combinado de un conjunto de 41 caracteres morfológicos y seis secuencias de ADN del cloroplasto. El análisis corroboró la monofilia de *Echinocereus* s. s., el cual incluyó ocho grupos monofiléticos. La filogenia integró en diferentes clados a taxones que se encontraban en clados no resueltos en análisis previos y cambió las relaciones de algunos clados reconocidos. Sin embargo, los clados obtenidos no recuperaron la clasificación infragenérica actual. Por lo tanto, los clados monofiléticos se proponen como secciones del género, soportadas por una combinación de caracteres morfológicos y moleculares. Palabras clave: Análisis combinado, atracción de ramas largas, extracción de ramas largas, *Echinocereus poselgeri*, inferencia bayesiana, parsimonia, *Costati*, *Echinocereus*, *Erecti*, *Reichenbachii*, *Sciuri*, *Subinermes*, *Triglochidiati*, *Wilcoxia*.

Abstract

Echinocereus is morphologically diverse including 64 species, which have been grouped in eight sections on base in morphologic traits. It has been suggested that the inclusion of several

types of evidence in a phylogenetic analysis produces more supported hypotheses. Therefore, we performed a combined phylogenetic analysis with a set of 41 morphological characters and six chloroplast DNA sequences. The analysis corroborated the monophyly of *Echinocereus* s. s., which included eight monophyletic groups. The phylogeny integrated into different clades those taxa which were in not resolved clades in previous analyses and changed the relationships of some recognized clades. However, the clades did not recover the actual infrageneric classification. Therefore, the clades in *Echinocereus* were proposed as section of the genus, which are supported by a combination of morphological and molecular characters.

Key words: Combined analyses, bayesian inference, *Echinocereus poselgeri*, long branch attraction, long branch extraction, parsimony, *Costati*, *Echinocereus*, *Erecti*, *Reichenbachii*, *Sciuri*, *Subinermes*, *Triglochidiati*, *Wilcoxia*.

Introducción

La familia Cactaceae es conocida por su morfología distintiva, como la presencia de aréolas, extrema suculencia, diferentes formas de crecimiento y gran diversidad floral (Gibson y Nobel, 1986; Bravo-Hollis, 1978). Existen varias monografías donde se presenta la variación morfológica en la familia (p.ej. Schumann, 1899; Berger, 1926; Britton y Rose, 1919, 1920, 1922, 1923; Anderson, 2001), así como trabajos con descripciones detalladas y discusiones acerca de la diversidad morfológica en tallo, flor, fruto y semilla en Cactaceae (Buxbaum, 1951, 1953, 1955). A partir de este conocimiento se han generado diversas propuestas de clasificación (Britton y Rose, 1919, 1920, 1922, 1923; Endler y Buxbaum, 1974; Hunt, 1999; Hunt *et al.*, 2006) e incluso se han postulado algunas aproximaciones filogenéticas (Berger, 1926; Buxbaum, 1958). En la actualidad, el análisis de los caracteres morfológicos ha sido menor por el uso de

caracteres moleculares. Los caracteres morfológicos han sido se han mapeado en las filogenias generadas (*Rebutia* K. Schum., Ritz *et al.*, 2007; *Echinopsis* Zucc., Schlumberger y Renner, 2012) y han servido para reconstruir estados ancestrales en el contexto de filogenias moleculares (*Pereskia* Mill., Edwards *et al.*, 2005; *Schlumbergera* Lem. y *Hatiora* Britton & Rose, Calvente *et al.*, 2011; *Gymnocalycium* Pfeiff., Demaio *et al.*, 2011; *Echinocereus*, Sánchez *et al.*, 2014). Su incorporación en análisis filogenéticos es menos frecuente (Echinocereeae, Terrazas y Loza-Cornejo, 2002; *Pachycereus* Britton & Rose, Arias y Terrazas, 2006).

Aunque las filogenias moleculares de Nyffeler (2002) y Wallace y Gibson (2002) proveyeron de una estructura filogenética de los linajes mayores de la familia (subfamilias y tribus); son pocos los análisis filogenéticos moleculares en donde los géneros han sido delimitados con robustez. Entre ellos, destacan los trabajos para *Mammillaria* Haw. (Butterworth y Wallace, 2004), *Pereskia* (Edwards *et al.*, 2005); *Rebutia* (Ritz *et al.*, 2007); *Gymnocalycium* (Demaio *et al.*, 2011); *Opuntia* Mill. (Majure *et al.*, 2012); *Echinocereus* (Sánchez *et al.*, 2014); y diversos géneros de las tribus Echinocereeae (Arias *et al.*, 2003, 2005; Korotkova *et al.*, 2010); Rhipsalideae (Korotkova *et al.*, 2011) y Cactaeae (Vázquez-Sánchez *et al.*, 2013). Sin embargo, análisis filogenéticos utilizando caracteres moleculares y morfológicos analizados simultáneamente no han sido realizados en la familia Cactaceae.

Se ha propuesto que la morfología debe integrarse en la reconstrucción filogenética a través del estudio de pocos caracteres morfológicos, los cuales se examinan en el contexto de la filogenia molecular, ya que se piensa que la mayoría de los caracteres morfológicos son ambiguos, con problemas dificultad para establecer homologías y homoplásicos (p. ej. Scotland *et al.*, 2003). Wallace y Gibson (2002) argumentan que en Cactaceae los caracteres morfológicos presentan mucha plasticidad y paralelismos (homoplasias). Sin embargo, la calificación y

designación de las similitudes como homologías u homoplasias no es posible asumirlas *a priori*, se deben explicar mediante un análisis cladístico, en el contexto de congruencia con otros caracteres (De Pinna, 1991; Luna y Mishler, 1996). Así, las filogenias moleculares han sido usadas para proveer de una descripción de la evolución morfológica sin que pueda evaluar y confirmar el potencial real de la morfología en reconstrucciones filogenéticas. Mapear caracteres morfológicos en una filogenia molecular omite la interacción y congruencia de los datos y no evalúa si ciertos caracteres morfológicos sean sinapomorfías (Assis, 2009). Nixon y Carpenter (1996) sugirieron que un análisis de datos combinados permite que la señal filogenética común a ambos tipos de datos genere relaciones no expresadas en análisis separados, por lo que es recomendable utilizar evidencia molecular y morfológica para obtener filogenias confiables (Donogue y Sanderson, 1992).

El género *Echinocereus* (Cactoideae, Echinocereae) presenta cerca de 64 especies (Hunt *et al.*, 2006) con tallos cilíndricos cortos (<50 cm), número variable de costillas, flores infundibuliformes, frutos con espinas y semillas negras, verrucosas (Engelmann, 1848). *Echinocereus* se distribuye desde el centro de México hasta el centro de los Estados Unidos, principalmente en matorrales xerófilos y en bosques de coníferas (Taylor, 1985). Recientemente, Sánchez *et al.* (2014) resolvieron que *Echinocereus* es un grupo monofilético, si se incluye a *E. poselgeri* Lem. y se excluye a *E. pensilis* (K. Brandege) J. A. Purpus, especies que habían sido segregadas en los géneros *Wilcoxia* Britton & Rose (Britton y Rose, 1922) y *Morangaya* G. D. Rowley (Rowley, 1974) respectivamente. Se ha propuesto que la presencia de yemas errumpentes (Sánchez *et al.*, 2014, 2015) y los estigmas verdes (Sánchez *et al.*, 2014) representan las sinapomorfías morfológicas para el género, aunque dichos caracteres no se han puesto a prueba en análisis filogenéticos.

Echinocereus incluye una amplia diversidad tanto en caracteres vegetativos (raíz, tallo, espinas), como reproductivos (flores, frutos y semillas) (Taylor, 1985; Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991; Blum *et al.*, 1998). Considerando el elevado número de especies y la diversidad morfológica del género, se han hecho diversas propuestas de clasificación infragenérica (Cuadro 1). Las clasificaciones de Engelmann (1849, 1859), Schumann (1899) y Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada (1991) están basadas principalmente en caracteres vegetativos. Mientras que las propuestas de Taylor (1985, 1993); Blum *et al.* (1998) y Hunt *et al.* (2006), se basan en una combinación de caracteres vegetativos y florales. Las revisiones y monografías de *Echinocereus* que proponen una clasificación infragenérica (p. ej. Taylor, 1985, 1993; Blum *et al.*, 1998; Hunt *et al.*, 2006) representan hipótesis de la distribución de los caracteres que comparte cada taxón, que pueden evaluarse en un análisis filogenético. La filogenia de *Echinocereus* basada en secuencias de ADN de cloroplasto (Sánchez *et al.*, 2014), recuperó nueve clados, de los cuales sólo uno de ellos es equivalente con la sección *Triglochidiati* Bravo (Taylor, 1993; Hunt *et al.*, 2006), mientras que el resto de las secciones representaron grupos parafiléticos y polifiléticos. Por ejemplo, las especies que componen a la sección *Erecti* (K. Schum.) Bravo se agruparon en dos clados distintos, a pesar de su similitud morfológica en la forma de las espinas. La sección *Costati* (Engelm.) N. P. Taylor tampoco agrupó a todas las especies que la componen, ya que *E. longisetus* (Engelm.) Lem. se encuentra colapsado en el mismo nodo. Particularmente, las especies *E. poselgeri*, *E. waldeisii* (antes considerada como subespecie de *E. poselgeri*) y *E. leucanthus* de la sección *Wilcoxia* (Britton & Rose) N. P. Taylor, comparten varios caracteres morfológicos y anatómicos. Sin embargo, la filogenia molecular no recupera a esta sección como monofilética, a pesar de su fuerte similitud morfológica. Esta incongruencia entre la morfología y los secuencias de ADN puede deberse a procesos de hibridación (Sánchez *et al.*, 2014) o

atracción de ramas largas (LBA). Por ejemplo, *E. poselgeri* no se agrupa con sus supuestos hermanos, sino que se resuelve como grupo hermano de *E. mapimiensis*, en donde ambos taxones representan ramas largas (Sánchez *et al.*, 2014). Se ha propuesto que la inclusión de algunos caracteres morfológicos podría cambiar la topología en filogenias moleculares con problemas de LBA (Bergsten, 2005) y proveer una mayor resolución y soporte a la filogenia (Wortley y Scotland, 2006). Por lo tanto, en este trabajo se realiza un análisis filogenético de *Echinocereus* que incluye caracteres moleculares y morfológicos para: i) detectar las sinapomorfías morfológicas del género (Sánchez *et al.*, 2014); ii) evaluar la posibilidad de efecto de LBA en la posición filogenética de *E. poselgeri*; iii) comparar los grupos monofiléticos resultantes en *Echinocereus* con la clasificación infragenérica de Hunt *et al.* (2006) y proponer una nueva clasificación infragenérica, en su caso.

Materiales y métodos

Muestreo de taxones. El análisis incluyó a 59 especies de *Echinocereus* que representan la diversidad morfológica del género e incorpora a las ocho secciones propuestas por Hunt *et al.* (2006) y a los nueve clados obtenidos en la filogenia de Sánchez *et al.* (2014). El muestreo de taxones siguió la delimitación de especies de Hunt *et al.* (2006) e incorpora los cambios según los estudios recientes de Baker (2006a, 2006b) y Sánchez *et al.* (2013) para la sección *Triglochidiati*, así como la propuesta de Blum *et al.* (2008) para la sección *Wilcoxia*. También se incluyeron diez especies del grupo externo que representan el grupo hermano de *Echinocereus* de acuerdo a filogenias recientes (Sánchez *et al.* 2014; Bárcenas *et al.* 2011).

Cuadro 1. Resumen histórico de la clasificación infragenérica de *Echinocereus*.

Engelmann, 1849	Engelmann, 1859	Schumann, 1899	Taylor, 1985
Dos secciones. <i>Costati</i> Engelm., <i>Sulcati</i> Engelm.	Cuatro secciones. <i>Pectinati</i> Salm-Dyck, <i>Decalophi</i> Salm-Dyck, <i>Pentalophi</i> Salm-Dyck, <i>Graciles</i> Engelm.	Cuatro series. <i>Graciles</i> , <i>Subinermes</i> K. Schum., <i>Prostrati</i> K. Schum. y <i>Erecti</i> K. Schum.	Ocho secciones. <i>Morangaya</i> (G.D.Rowley) N. P. Taylor, <i>Erecti</i> (K. Schum.) Bravo, <i>Echinocereus</i> , <i>Triglochidiati</i> Bravo, <i>Reichenbachii</i> N. P. Taylor, <i>Wilcoxia</i> (Britton & Rose) N. P. Taylor y <i>Pulchellus</i> N. P. Taylor.
Bravo-Hollis y Sánchez- Mejorada, 1991	Taylor, 1993	Blum <i>et al.</i> , 1998	Hunt <i>et al.</i> , 2006
Seis secciones. <i>Subinermes</i> , <i>Scheera</i> Backeb., <i>Triglochidiati</i> , <i>Prostrati</i> , <i>Echinocereus</i> y <i>Erecti</i> .	Ocho secciones. <i>Morangaya</i> , <i>Erecti</i> , <i>Costati</i> , <i>Echinocereus</i> , <i>Triglochidiati</i> , <i>Reichenbachii</i> , <i>Wilcoxia</i> y <i>Pulchellus</i> .	Tres subgéneros. <i>Morangaya</i> (G. D. Rowley) Lange, <i>Triglochidiati</i> (Bravo) W.Blum, Mich.Lange & Rutow y <i>Echinocereus</i> (con siete secciones): <i>Erecti</i> , <i>Costati</i> , <i>Subinermes</i> , <i>Echinocereus</i> , <i>Reichenbachii</i> , <i>Wilcoxia</i> y <i>Pulchellus</i> .	Ocho secciones. <i>Morangaya</i> , <i>Erecti</i> , <i>Triglochidiati</i> , <i>Costati</i> , <i>Echinocereus</i> , <i>Reichenbachii</i> , <i>Wilcoxia</i> y <i>Pulchellus</i> .

Caracteres morfológicos. Un grupo de 41 caracteres morfológicos fueron incorporados en una matriz editada en Mesquite (Maddison y Maddison, 2015), considerando atributos vegetativos y reproductivos (Apéndice 1). Los datos fueron generados en la presente investigación (salvo aquellos que se indique) a través de trabajo de campo, revisión de ejemplares de herbario (ARIZ, ASU, BCMEX, CIIDIR, IBUG, MEXU y UNM), ejemplares vivos (Jardín Botánico, UNAM y Jardín Botánico El Charco del Ingenio, A. C.), microtecnia vegetal y revisión bibliográfica. Los caracteres cuantitativos se midieron en imágenes de ejemplares de herbario y material fresco con el programa Image-Pro Plus V.6.0 (Media Cybernetics, 2006). Para establecer estados de carácter, los datos cuantitativos se estandarizaron y se realizaron pruebas de análisis de varianza y comparación de medias de Tukey con el programa SAS (SAS Institute, 1989). Para describir las formas planas se utilizó la terminología

de Simpson (2006). Los caracteres anatómicos de tallo y flor de las especies de *Echinocereus* (datos no publicados) se obtuvieron a través de la técnica de anatomía vegetal convencional (Johansen, 1940). Se incluyó la información anatómica publicada para algunas especies de *Echinocereus* por Mauseth (1993), Loza-Cornejo y Terrazas (1996), Mauseth y Plemons-Rodríguez (1998), Mauseth *et al.* (1998), Loza-Cornejo y Terrazas (2003); e información anatómica del grupo externo publicada por Gibson y Horak (1978), Terrazas y Arias (2002), Terrazas y Loza-Cornejo (2000) y Fuentes (2004). Para describir la micromorfología de las semillas de *Echinocereus* (datos no publicados), se siguió la técnica empleada por Arroyo-Cosultchi *et al.* (2006). Los caracteres de la semilla se describen usando la terminología de Barthlott y Hunt (2000) y Koch (2009). Para algunos taxones se incluyó la información de la micromorfología de las semillas de la tribu Echinocereae (Frank, 1990a, 1990b, 1997; Blum *et al.*, 1998, 2005, 2008, 2012; Barthlott y Hunt, 2000; Arias y Terrazas, 2004; Arroyo-Cosultchi *et al.*, 2006; Blum *et al.*, 2008; Felix y Blum, 2011).

Secuencias de ADN y alineamiento. Se incluyeron seis marcadores de ADN de cloroplasto, los espaciadores intergénicos (IGS) *psbA-trnH*, *trnQ-rps16*, el intrón *rpl16*, la región compuesta por el intrón *trnL* y el IGS *trnL-trnF* (referido como *trnL-F*), la región codificante *matK* flanqueada por el intrón *trnK* (referida como *trnK/matK*) y la región codificante *rbcL*. La utilidad de estos marcadores en estudios filogenéticos en Cactaceae ha sido probada y discutida en publicaciones recientes (p. ej. Bárcenas *et al.*, 2011; Korotkova *et al.*, 2012; Vázquez-Sánchez *et al.*, 2013; Sánchez *et al.*, 2014). Se compilaron en total 399 secuencias de ADN generadas en las filogenias de Arias *et al.* (2005), Bárcenas *et al.* (2011) y Sánchez *et al.* (2014), las cuales están depositadas en GenBank (los números de acceso de GenBank se muestran en el Apéndice 2). Las secuencias fueron alineadas a mano y concatenadas en una sola matriz. Se generó una

matriz binaria con los eventos de inserción y deleción (indels) en las secuencias de ADN, los cuales se codificaron bajo el método de codificación simple (Ochoterena, 2009). La alineación de secuencias de ADN y edición de las matrices se realizó con el programa Mesquite 3.02 (Maddison y Maddison, 2015).

Análisis filogenéticos. Las matrices de datos morfológicos (Apéndice 3), indels (Apéndice 4) y secuencias de ADN fueron concatenadas en una matriz final, la cual fue analizada bajo el principio de parsimonia (MP). Un análisis de inferencia bayesiana (BI), se utilizó para corroborar la topología obtenida por análisis MP. El análisis de MP se realizó en TNT v. 1.1 (Goloboff *et al.*, 2008), utilizando sólo los caracteres informativos para parsimonia. Se llevó a cabo una búsqueda heurística de 1000 secuencias de adición aleatoria con las cuatro nuevas tecnologías de búsqueda implementadas en TNT, salvando diez árboles por réplica e intercambio de ramas por TBR. Los valores de apoyo fueron calculados a partir de 1000 réplicas con la misma estrategia de la búsqueda heurística. El soporte de bootstrap fue estándar (BS) y se muestran las frecuencias absolutas. El soporte de jackknife (JS) se calculó removiendo el 30% de los caracteres y se muestran las frecuencias absolutas. Se calculó un árbol de consenso estricto con los árboles más parsimoniosos. El análisis de BI se realizó con MrBayes 3.2.1 (Ronquist y Huelsenbeck, 2003) a partir de una matriz particionada que incluía a los caracteres morfológicos, las seis secuencias de ADN y los indels codificados. La partición de los caracteres morfológicos y la partición de indels codificados fueron analizadas bajo el modelo de cambio Mkv. Para cada secuencia de ADN, el modelo de sustitución de nucleótidos fue de seis tipos de sustitución (nts = 6), la frecuencia de nucleótidos fue calculada a partir de los datos de cada secuencia, y una tasa de variación entre sitios, modelada como distribución gamma más una proporción de sitios invariantes (rates = invgamma). Los valores de probabilidad posterior bayesianas (BPP) fueron

calculados usando dos corridas independientes de las cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC), cada corrida con cuatro cadenas y 2000000 de generaciones. Las cadenas de Markov fueron muestreadas cada 10000 generaciones, la convergencia de las MCMC fue examinada visualmente y se descartó el 10% de los árboles muestreados, el resto de los árboles y BPP fueron resumidos en un árbol de consenso de mayoría.

Análisis de extracción de ramas largas (LBE). Propuesto por Pol y Siddall (2001) como una prueba para corroborar atracción de ramas largas (LBA), con el supuesto de que una rama larga es capaz de atraer o ser atraída por otra rama larga en un análisis. La exclusión del análisis de una de las ramas largas permitiría a otra rama larga agruparse en el clado correcto. En caso de incongruencia en la topología de los análisis de MP y BI realizó un análisis de LBE con los mismo parámetros de los análisis de MP e IB.

Optimización de los caracteres. Una optimización inequívoca se realizó con WinClada (Nixon, 2002) sobre el árbol consenso estricto para conocer el aporte de los caracteres en la filogenia y reconocer sinapomorfías y/o homoplasias que definen cada uno de los clados recuperados. En algunos casos una optimización “acctran” o “deltran” es preferida para reconocer las regresiones o paralelismo que sustentan algunos nodos como lo sugieren Agnarsson y Miller (2008).

Resultados

Matriz de datos. La matriz morfológica contó con 41 caracteres (Apéndice 1), de los cuales 28 corresponden a la morfología externa de raíz, tallo, espinas, flores, fruto y semilla; diez son caracteres anatómicos de tallo y flor, dos corresponden a la micromorfología de la semilla y uno citológico. La matriz de secuencias de ADN incluyó 6666 sitios, de los cuales sólo 248

fueron informativos para parsimonia. Se codificaron 35 indels a partir de las seis secuencias de ADN, de los cuales 12 corresponden a secuencias de repetición simple (SSR), 16 son supresiones o gaps, cuatro inserciones y tres inversiones. El cuadro 2 muestra los detalles numéricos para las secuencias de ADN incluidas en el análisis. La matriz concatenada para el análisis de MP contó en total con 324 caracteres informativos. La matriz concatenada para el análisis de IB contó con 6742 caracteres.

Cuadro 2. Resumen de las características numéricas de las secuencias de ADN analizadas.

	<i>psbA-trnH</i>	<i>rbcL</i>	<i>rpl16</i>	<i>trnK/matK</i>	<i>trnL-F</i>	<i>trnQ-rps16</i>	Combo
Taxones incluidos	66/69	66/69	66/69	69/69*	66/69	66/69	69/69
Longitud	520	578	1238	2525	1159	646	6666
Sitios no informativos	485	558	1181	2472	1106	616	6418
Sitios informativos	35	20	57	53	53	30	248
% informativos	6.73	3.46	4.60	2.09	4.57	4.64	3.72
Indels	9	0	7	2	13	4	35

*14 taxones incluyen sólo la región codificante *matK*

Análisis filogenéticos. El análisis MP resultó en seis árboles más parsimoniosos (L = 876 pasos, CI = 0.45 y un RI = 0.73). Los análisis de MP y BI de los caracteres morfológicos y moleculares combinados resultaron en topologías congruentes (Figs. 1 y 2). Las diferencias entre ambas topologías fueron que, el árbol de consenso estricto agrupó a *E. poselgeri* en el clado B; y el clado B es el grupo hermano del clado C; juntos (B y C) son el grupo hermano de los clados D-H (Fig. 1). Por su parte el árbol de mayoría de BI agrupó a *E. poselgeri* en el clado C; y el clado B representa un grado respecto al grupo formado por los clados C-H (Fig. 2A). Sin embargo, el análisis de LBE a través de IB, que excluyó a *Echinocereus mapimiensis*, agrupó a *E. poselgeri* en el clado B junto con *E. leucanthus* y *E. waldeisii*; y el clado B y C son grupos

hermanos (Fig. 2B). Este resultado corroboró el efecto de LBA en la filogenia de *Echinocereus*. La hipótesis filogenética obtenida por el análisis de MP será utilizada para explicar los clados/secciones dentro de *Echinocereus*, los datos de BPP del análisis de LBE serán utilizados sólo como comparación. Bajo ambos métodos (MP y BI) el género *Echinocereus* resultó monofilético (BS, JS, y BPP = 100), dentro del cual se identificaron ocho clados principales con soporte variable (A-H; Figs. 1 y 2). Los caracteres sinapomórficos u homoplásicos observados al optimizar los datos son retomados en la discusión de los clados.

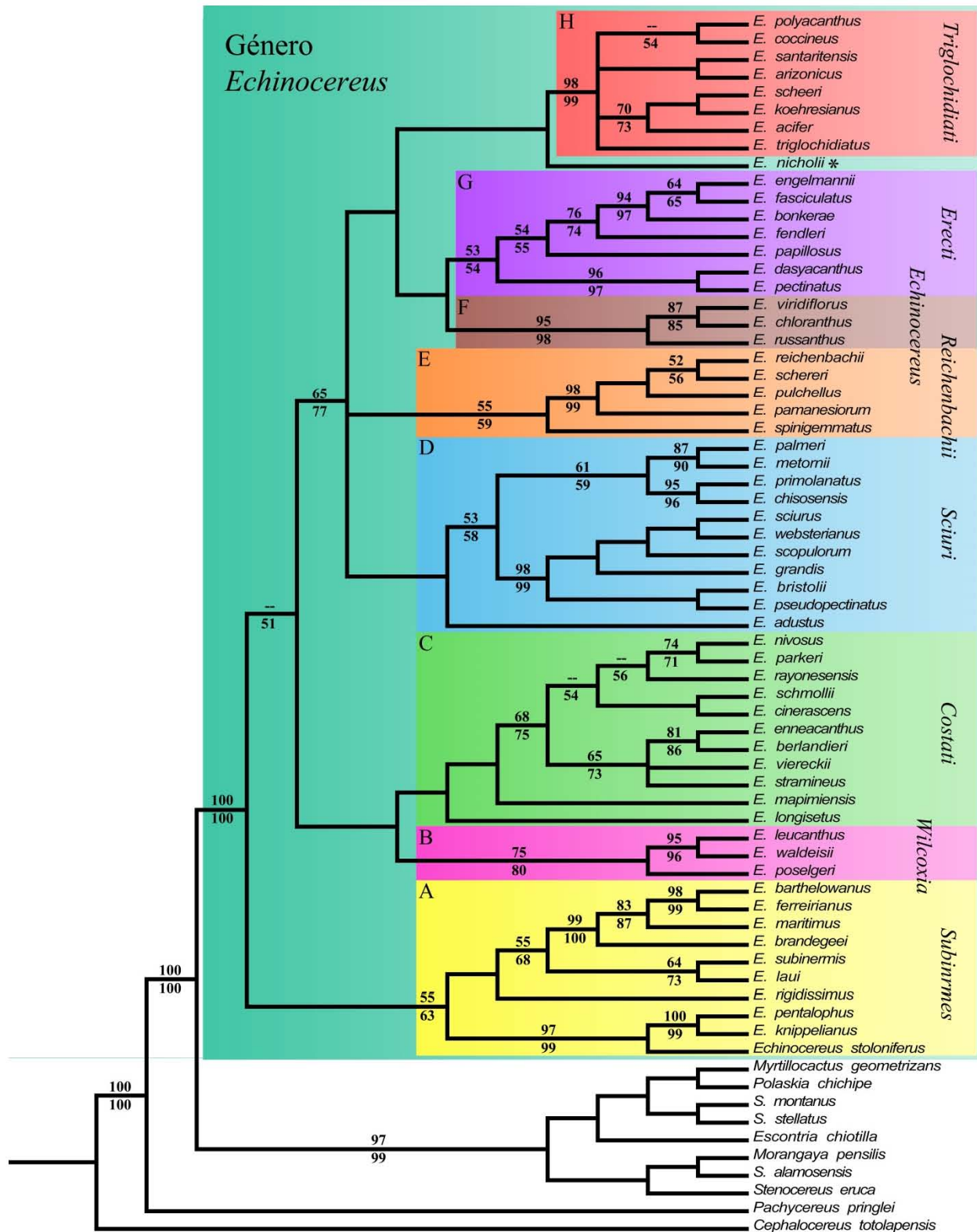


Figura 1. Árbol de consenso estricto del análisis de MP: L = 879 pasos, CI = 0.45 y un RI = 0.73.

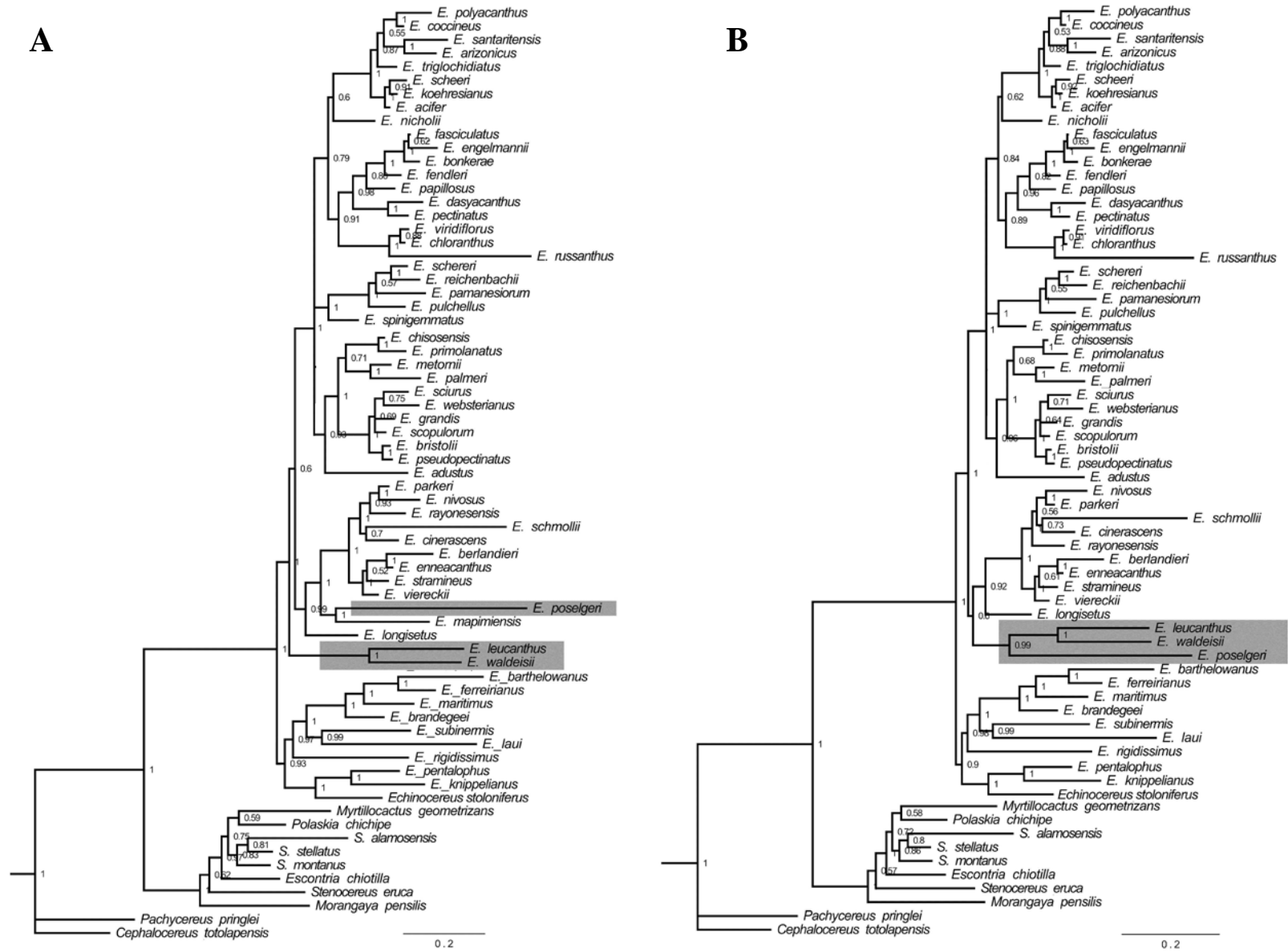


Figura 2. Árboles de consenso de mayoría representados como filogramas del análisis de BI. A. Filogenia resultante del análisis que incluye todos los taxones. B. Filogenia resultante del análisis LBE que excluyó a *E. mapimiensis* (rama larga). La sombra gris muestra a *E. poselgeri* y sus supuestos hermanos.

Discusión

Distintos métodos de reconstrucción filogenética (MP o análisis basados en modelos) utilizando el mismo conjunto de datos, comúnmente reportan topologías con diferencias menores o diferencias que presentan un bajo nivel de apoyo (Rindal y Brower, 2011). Este mismo fenómeno ha sido observado en análisis filogenéticos en Cactaceae (p. ej. Demaoi *et al.*, 2011; Vázquez-Sánchez *et al.*, 2013); sin embargo, no se discuten las causas de esas diferencias. En este caso, el análisis de los caracteres morfológicos y moleculares de *Echinocereus* mostró una fuerte inconsistencia en relación a la posición de *E. poselgeri*. El análisis de MP ubicó a *E. poselgeri* en el clado B con soporte moderado (BS 70%, JK 80%) (Fig. 1); mientras que en el análisis de IB se agrupa en el clado C, con apoyo alto (BPP 0.99), como grupo hermano de *E. mapimiensis* (Fig. 2A). Sin embargo, la prueba de LBE, que excluyó a *E. mapimiensis* del análisis de IB, recuperó nuevamente a *E. poselgeri* en el clado B junto con *E. leucanthus* y *E. waldeisii* (BPP 0.98) (Fig. 2B), como sucedió en el análisis de MP. El resultado de la prueba de LBE sugiere un efecto de LBA de *E. mapimiensis* sobre *E. poselgeri*. La prueba de LBE que excluyó a *E. poselgeri* del análisis de IB no cambia la relación de *E. mapimiensis* con el clado C (figura no mostrada), que también se observa en el análisis de MP.

El método de MP ha sido citado como más propenso a agrupar taxones de manera incorrecta por el fenómeno de LBA (Bergsten 2005). En un análisis filogenético realizado en Cactaceae, Nyffeler (2002) sugiere el uso de máxima verosimilitud (método probabilístico de inferencia filogenética) para evitar problemas de LBA. Sin embargo, nuestros análisis muestran que al incluir los caracteres morfológicos, el análisis de MP pudo evitar el problema de LBA sobre *E. poselgeri*, mientras que el análisis de IB mantiene el efecto de LBA. Este mismo agrupamiento por LBA se encontró en la filogenia molecular de *Echinocereus* con seis

marcadores del ADN de cloroplasto (Sánchez *et al.* 2014), y recupera a *E. poselgeri* como hermano de *E. mapimiensis*, tanto en análisis de MP como de BI. Bergsten (2005) propone que al añadir caracteres morfológicos al análisis puede recuperarse una topología más precisa y evitar problemas de LBA, como se observa en nuestros resultados. También, el análisis de MP fue más apropiado para evitar el efecto de LBA, como lo sugieren Pol y Sidal (2001).

El análisis de MP arrojó resultados más precisos al incluir a todos los taxones muestreados sin mostrar un agrupamiento incorrecto por LBA y presentar diferencias menores en la resolución de los taxones terminales. Por lo tanto, se utilizó el árbol de consenso estricto del análisis de MP para describir las relaciones filogenéticas de *Echinocereus* y optimizar los caracteres para reconocer sinapomorfías u homoplasias, considerando los principios de congruencia ontológica y epistemológica (Assis y Rieppel, 2011).

El análisis combinado de los caracteres morfológicos y moleculares bajo el método de MP corroboró que el género *Echinocereus* es un grupo monofilético (100% BS, 100% JK; Fig. 1) si se excluye a *Morangaya pensilis*, como lo sugiere Moran (1977) al discutir su morfología, así como Bárcenas *et al.* (2011) y Sánchez *et al.* (2014) con el análisis de caracteres moleculares. El presente análisis filogenético incorporó a *E. chloranthus*, *E. rusanthus* y *E. papillosus*, no incluidos previamente (Sánchez *et al.*, 2014), agrupó a *E. poselgeri* en un clado morfológicamente congruente y, aunque la topología es semejante a la obtenida previamente (Sánchez *et al.*, 2014), este análisis mostró una filogenia más resuelta en los grandes clados. Por ejemplo, el clado de *E. viridiflorus* (clado F) es el grupo hermano del clado de *E. engelmannii* (clado G), quienes se revelan como grupo hermano del clado de *E. triglochidiatus* (clado H). Aunque las diferencias son menores, las relaciones filogenéticas de estos clados tienen implicaciones importantes en las interpretaciones biogeográficas (Sánchez, 2015, capítulo 4).

Wortley y Scotland (2006), sugieren que el análisis combinado de los caracteres morfológicos y moleculares tiene un efecto positivo sobre la resolución, aunque no tenga un efecto significativo sobre los valores de soporte. En este caso, el árbol de consenso estricto (Fig. 1) mostró disminución en varios de los valores de apoyo de los clados recuperados, respecto a la filogenia mostrada por Sánchez *et al.* (2014), y pocos clados mostraron un mayor apoyo. Por ejemplo, el clado G que agrupa a la mayoría de las especies de la sección *Erecti* presentó un apoyo de BS 53% y JK 54%, mientras que en el trabajo de Sánchez *et al.* (2014) se reporta un soporte de BS 78% y JK 85%. Por otro lado, en el clado H que agrupa a la sección *Triglochidiati*, mejoró el apoyo en el análisis combinado (BS 98%, JK 99%), en comparación con el apoyo (BS 60%, JK 68%) de la filogenia de Sánchez *et al.* (2014). El descenso general en los valores de soporte en el árbol de consenso estricto, se debe a la inclusión de varios caracteres vegetativos que tienen una amplia variación dentro de los diferentes linajes de *Echinocereus*, pero que han sido importantes en la delimitación de especies (Baker, 2006a, 2006b; Sánchez *et al.*, 2013), como el diámetro del tallo, número de costillas, número de espinas centrales, longitud de las espinas centrales, entre otros (Apéndice 1). De acuerdo con de Carvalho (1996), a pesar de que varios de los clados tengan bajos niveles de apoyo, un análisis que resulta en pocos árboles igualmente parsimoniosos (seis en este caso), es evidencia de que existe congruencia entre los datos.

Echinocereus y su clasificación infragenérica.

El método de reconstrucción filogenética por MP permite que las relaciones de ancestría-descendencia estén reflejadas en la clasificación de los organismos, en donde cada taxón contiene información sobre los caracteres. La prueba de congruencia entre los caracteres, más la polarización de los estados (generalmente por enraizamiento), permite reconocer sinapomorfías

y/u homoplasias (Assis, 2009). Si bien las sinapomorfías son preferidas, al ser evidencia empírica de monofilia (Assis y Rieppel, 2011), las homoplasias son datos importantes, ya que pueden estar apoyando gran parte de los nodos en un análisis filogenético y por lo tanto son fundamentales en la diagnosis de los grupos (de Carvalho, 1996; Assis, 2009). La optimización de los caracteres sobre el árbol de consenso estricto, mostró que tanto los caracteres morfológicos, indels y secuencias de ADN, son importantes en la definición de los clados recuperados. *Echinocereus* y los principales clados recuperados dentro del género son definidos a continuación por estados sinapomórficos (si presentes) y una combinación de estados homoplásicos morfológicos y moleculares, como se ha hecho en otros linajes de angiospermas (p. ej. Hughes *et al.*, 2004; Norup *et al.*, 2006).

Género *Echinocereus* (BS y JK 100%). Este linaje incluye a todas las especies propuestas por Hunt *et al.* (2006), excepto *E. pensilis* (*Morangaya pensilis*). La exclusión de *Morangaya pensilis* ha sido ampliamente discutida por Moran (1977) y Sánchez *et al.* (2014) y es corroborada en este análisis, donde *M. pensilis* no presenta los caracteres que definen al género. *Echinocereus* se define por los estados sinapomórficos: presencia de yemas errumpentes, color del estigma verde y xilema secundario no fibroso; y los estados homoplásicos: forma de crecimiento cilíndrica, diámetro del tallo de 2 a 15 cm, flores con color dominante rosa y embrión con cotiledones cortos (Apéndice 1). El desarrollo de yemas errumpentes ha sido reportado para todas las especies de *Echinocereus* y descrito en detalle por Sánchez *et al.* (2015), quien sugiere que este carácter favoreció la diversificación del género, hasta el momento las yemas errumpentes no han sido reportadas en otro taxón de Cactaceae. Fuera de Echinocereae, estigmas verdes han sido reportados en *Opuntia* (p. ej. *O. robusta*, Bravo-Hollis, 1978) y *Mammillaria* (p. ej. *M. dioica*, Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991); mientras que el xilema

secundario no fibroso ha sido descrito para diversas especies de la tribu Cacteeae (p. ej. *Mammillaria*, *Lophophora*, Vázquez-Sánchez *et al.*, 2011). La forma de crecimiento cilíndrica, aunque homoplásico, es un carácter distintivo en *Echinocereus*, ya que se encuentra dentro de un linaje con una tendencia hacia la forma de crecimiento columnar. También las secuencias de ADN incluidas definen a *Echinocereus* por 15 sitios sinapomórficos, dos sitios homoplásicos, así como un indel sinapomórfico y un indel homoplásico. Actualmente, el género es dividido en ocho secciones (Hunt *et al.*, 2006, Cuadro 1). Sin embargo, esta clasificación no refleja las relaciones filogenéticas reconocidas para el género, por lo que aquí se presenta una propuesta de clasificación infragenérica (Apéndice 5).

Sección *Subinermes* (Clado A, BS 55%, JK 63%, BPP 1; Figs. 1, 2 y 3A). Este grupo de diez especies morfológicamente heterogéneas, incluyó a taxones previamente clasificados en las secciones *Reichenbachii*, *Pulchellus* y *Erecti* (Hunt *et al.*, 2006). Esta sección está soportada por una homoplasia morfológica, pared periclinal de la semilla hemisférica (Figura 3B, Apéndice 1) y un sitio sinapomórfico del ADN. Este clado también fue recuperado por Sánchez *et al.* (2014), pero con menor soporte. Dentro de este clado, se encontró el grupo formado por *E. stoloniferus*, *E. pentalophus* y *E. knippelianus*, apoyado principalmente por caracteres moleculares, aunque la presencia de rizomas también permite reconocerlo. Taylor (1993) agrupa *E. stoloniferus* y *E. pentalophus* en la sección *Reichenbachii*, en el grupo informal *Subinermes*, pero a *E. knippelianus* lo incluye en la sección *Pulchellus*. De acuerdo con Lange (com. pers.) existen algunas poblaciones de híbridos de *E. pentalophus* y *E. knippelianus*; sin embargo, la revisión morfológica no mostró evidencia de hibridación. Otro grupo dentro de la sección *Subinermes* con un fuerte soporte lo integran las especies endémicas de Baja California e Islas del Golfo de California, antes agrupados en la sección *Erecti* (Taylor, 1985). La sinapomorfía morfológica del

grupo es la presencia de haces corticales con fibras floemáticas, además de seis sitios sinapomórficos en las secuencias de ADN. De acuerdo con Taylor (1985), este grupo de especies no presenta yemas errumpentes; sin embargo, Sánchez *et al.* (2015) demuestran que este grupo de especies también desarrolla yemas errumpentes como el resto de las especies de *Echinocereus*. La distribución disyunta de la sección *Subinermes* en la Sierra Madre Occidental, Baja California y el Desierto Chihuahuense sugieren que este linaje diversificó durante el levantamiento final de la Sierra Madre Occidental y la formación del Golfo de California (Sánchez, 2015, capítulo 4).

Sección *Wilcoxia* (clado B, BS 75%, JK 80%, BPP 0.98, Figs. 1, 2B y 3C). Este clado formado por tres especies, recuperó a las especies clasificadas previamente por Blum *et al.* (2008) en la misma sección, excepto *E. schmollii* que se agrupó en el clado hermano. *E. poselgeri* es agrupado por primera vez en el mismo clado con su supuesta especie hermana (*E. leucanthus*, Taylor, 1985), ya que en filogenias previas (Arias *et al.*, 2005; Sánchez *et al.*, 2014) no se habían recuperado como grupo monofilético, por efecto de LBA, como ha sido descrito anteriormente. El grupo se caracteriza por cuatro caracteres sinapomórficos, presencia de raíces tuberosas (Fig. 3D), fruto de forma elíptica, madera fibrosa sin radios y no presentan hipodermis colenquimatosas; así como por algunos caracteres homoplásicos como la forma de crecimiento columnar, el diámetro del tallo menor a 2.2 cm y la pared periclinal de la semilla con ornamentación rugosa (Apéndice 1). Las secuencias de ADN también apoyaron a este clado con cuatro sitios homoplásicos. Este grupo de especies representa un linaje con una alta especialización de sus caracteres vegetativos, particularmente de tallo y raíz (Taylor, 1985). La madera fibrosa sin radios que presentan las especies de este grupo proporcionó un mayor soporte mecánico a los tallos delgados y sumamente largos (Loza-Cornejo y Terrazas, 1996). Este grupo

también presenta una distribución disyunta, sus especies habitan en la Costa Occidental del Pacífico y en el Desierto Chihuahuense, por lo que su distribución ancestral fue probablemente más amplia (Taylor, 1985) y anterior al levantamiento de la Sierra Madre Occidental (Sánchez, 2015, capítulo 4).

Sección *Costati* (clado C, BS y JK < 50%, BBP 0.99, Figs. 1, 2 y 3E). Este clado agrupó a las nueve especies propuestas por Hunt *et al.* (2006) como parte de la sección *Costati*, pero debe ser expandida para integrar provisionalmente a *E. mapimiensis* y *E. schmollii*. En el análisis filogenético de Sánchez *et al.* (2014), *E. longisetus* se recuperó como miembro de este grupo. Este clado se definió por dos homoplasias morfológicas, presencia de tricomas cortos en los aréolas del tubo receptacular de la flor y presencia embriones con cotiledones largos (Apéndice 1). También, pueden reconocerse un par de sitios homoplásicos en las secuencias de ADN, al utilizar algún tipo de optimización (Acctran o Deltran). De acuerdo con Taylor (1993), el grupo se define porque las flores se tornan de color marrón al ser fijadas en formalina. Cortes anatómicos de las flores de *E. parkeri* (Sánchez, datos sin publicar) muestran la presencia de taninos en la epidermis de los tépalos (Fig. 3F, Apéndice 1). La optimización Acctran reconoce la presencia de taninos en la epidermis de los tépalos como un carácter homoplásico diagnóstico de la sección *Costati*, ya que varios miembros del grupo hermano del género (p. ej. *Escontria chiotilla*, *Myrtillocactus geometrizans*) presentan taninos en la epidermis de los tépalos (Fuentes, 2004). La presencia de taninos en la epidermis de los tépalos de *E. mapimiensis* aún debe ser corroborada, aunque evidencia preliminar muestra que las flores fijadas se tornan de color marrón (Blum, com. pers.). La incorporación de *E. schmollii* al clado resulta controversial, ya que no presenta ninguno de los caracteres arriba citados y se agrupa en *Costati* por los caracteres moleculares. Sánchez *et al.* (2014) sugieren que *E. schmollii* pudo presentar un evento de

hibridación con *E. cinerascens*, ya que comparten el área de distribución, pero esa hipótesis debe ser confirmada por la inclusión de secuencias de ADN nuclear. Los caracteres morfológicos de *E. schmollii* muestran una afinidad con las secciones *Sciuri* y *Reichenbachii*. Las especies de este clado se distribuyen en el Desierto Chihuahuense y la Sierra Madre Oriental y representan la expansión y diversificación del género hacia al este, después de que el género se originó en el noroccidente de México (Sánchez 2015, capítulo 4).

Sección *Sciuri* (clado D, BS y JK < 50%, BPP 0.92, Figs. 1, 2 y 3G). Este clado está formado por once especies, miembros de la secciones *Reichenbachii* y *Pulchellus* (*sensu* Hunt *et al.*, 2006). Incluye a *E. adustus* como el grupo hermano del resto de las especies del grupo, las cuales forman un grupo monofilético con un soporte bajo (BS 53% y JK 58%, Fig. 1). Este grupo también es recuperado en la filogenia de Sánchez *et al.* (2014). La sección *Sciuri* fue apoyada por dos caracteres morfológicos homoplásicos: tallos solitarios que regularmente no ramifican y nectario con tejido nectarial lateral corto (Fig. 3H, Apéndice 1). Las secuencias de ADN apoyaron este clado con un sitio homoplásico y un indel sinapomórfico (SSR de cuatro bases) del marcador *psbA-trnH*. Cabe resaltar que la longitud de tejido nectarial no está asociada a la longitud del nectario, ya que *E. adustus* presenta un nectario largo, con tejido nectarial basal corto (Sánchez, datos no publicados). Dentro del clado se recuperan dos grandes grupos; uno formado por seis especies que habitan las macizos rocosos en la Sierra Madre Occidental, Desierto de Sonora y Costa Occidental del Pacífico Mexicano, El Cabo e islas del Golfo de California y el segundo grupo formado por cuatro especies que habitan la Sierra Madre Occidental y macizos rocosos del norte del Desierto Chihuahuense.

Sección *Reichenbachii* (clado E, BS 55% y JK 59%, BPP 0.99, Figs. 1, 2 y 3I). Grupo de cinco especies que comprende algunas previamente incluidas en las secciones *Reichenbachii* y

Pulchellus (*sensu* Hunt *et al.*, 2006), reconocido también en el trabajo de Sánchez *et al.* (2014). Las homoplasias que sustentan este grupo son la forma hemisférica de la pared periclinal de la semilla y la presencia 10-12 costillas, esta última se observó como un paralelismo bajo optimización del tran. Las secuencias moleculares apoyan este clado con un sitio sinapomórfico, uno homoplásico y un indel homoplásico (delección de 54 sitios en el marcador *trnL-F*). *E. spinigemmatum* es el taxón más tempranamente diversificado del clado. Las cuatro especies restantes forman un clado con un buen soporte (BS 98%, JK 99%) y muestran como homoplasias, la presencia de frutos con pulpa semiseca (Fig. 3J) y no presentan espinas centrales (Apéndice 1). *E. laui* y *E. schmollii* que presentan una posición filogenética debatible, también presentan el indel de 54 sitios en *trnL-F* y frutos con pulpa semi-seca. Es probable que al incluir marcadores de núcleo para corroborar eventos de hibridación en *E. laui* y *E. schmollii* (Sánchez *et al.*, 2014) ambos taxones aniden en la sección *Reichenbachii*.

Sección *Echinocereus* (clado F, BS 98%, JK 99%, BPP 1, Figs. 1, 2 y 3K). Este clado incluyó a tres especies que tradicionalmente habían sido clasificadas dentro de la sección *Echinocereus* (Hunt *et al.*, 2006), con excepción *E. mapimiensis* (clado C, sección *Costati*). Este pequeño clado, con tres especies, se reconoce por cuatro caracteres morfológicos homoplásicos: flores con una longitud menor a 4 cm, longitud del nectario de 1-2 mm, tejido nectarial en posición lateral y longitud de la semilla pequeña (Fig. 3L, Apéndice 1). Las secuencias de ADN definen al clado con cuatro sitios sinapomórficos. Además de estos caracteres, el color amarillo o marrón de sus flores constituye un carácter que, en combinación con la longitud de la flor, permite reconocer a los miembros de esta sección. Recientemente Blum *et al.* (2012), describen nuevas especies pertenecientes a este grupo (p. ej. *E. blumii*, *E. canus*), la revisión de sus caracteres morfológicos permite ubicarlas con claridad dentro de este clado. La sección

Echinocereus presenta la distribución más noroeste dentro del género, ya que *E. viridiflorus* se distribuye hasta las Praderas Semiáridas de Oklahoma, EE. UU.

Sección *Erecti* (clado G, BS 53%, JK 54%, BPP 0.97; Figs. 1, 2 y 3M). Este clado recuperó a siete especies que formaban parte de la sección *Erecti* propuesta por Hunt *et al.* (2006). El clado está soportado por la forma de embudo amplio del tubo receptacular, que se reconoce como paralelismo (Fig. 3N, Apéndice 1). Las secuencias de ADN apoyan el grupo con un sitio sinapomórfico y uno homoplásico, además de un indel sinapomórfico (inversión de 14 sitios) en el marcador *rpl16*. La forma del tubo receptacular y el tamaño de las flores está ligada al síndrome de polinización, para miembros de este clado se ha reportado polinización por abejas (p. ej. *E. engelmannii*, *E. fasciculatus* Grant y Grant, 1979), en donde el néctar no es la principal recompensa, sino la cantidad de polen que ofrecen al visitante (Cota, 1993). Dentro de la sección *Erecti* se forman dos grupos, uno de ellos diversificó en el norte de Desierto Chihuahuense; mientras que el otro grupo diversificó en la Sierra Madre Occidental, las Montañas de Gila y Baja California. Al igual que en la filogenia de Sánchez *et al.* (2014), *E. nicholii* no se agrupó en este clado a pesar de que comparte una gran cantidad de caracteres morfológicos con la sección *Erecti* (Apéndices 1 y 3), que incluso lo llevó a ser considerado como subespecie de *E. engelmannii* (Benson, 1982). Incongruentemente, *E. nicholii* se presenta como grupo hermano de la sección *Triglochidiati*, aunque no presenta soporte (BS y JK < 50%, BPP 0.59) y su hermandad está sustentada por un sitio homoplásico del marcador *trnQ-rps16*. Debido a que su posición es claramente ambigua y no existe información adicional que justifique su relación con la sección *Triglochidiati*, en este trabajo se mantiene a *E. nicholii* como un taxón con clasificación incierta.

Sección *Triglochidiati* (clado H, BS 98%, JK 99%, BPP 1, Figs. 1, 2 y 3O). Este linaje ha sido ampliamente reconocido con base en la morfología única de su flor (Taylor, 1985, Fig. 3P), e incluso ha sido propuesto como un subgénero dentro de *Echinocereus* (Blum *et al.*, 1998). Las especies de este clado presentan cinco caracteres morfológicos homoplásicos: el tubo receptacular hasta 1.5 veces más largo que el perianto, los estambres internos más largos que los externos, anteras de color púrpura, el color dominante de la flor rojo y embrión con cotiledones largos. Además, el clado está apoyado por dos sitios sinapomórficos y cuatro sitios homoplásicos de las secuencias de ADN. Los caracteres florales de la sección *Triglochidiati* son referidos como adaptaciones al síndrome de polinización por colibríes que presenta el grupo (Taylor, 1985; Cota, 1993). Dentro de esta sección se define un grupo que presenta ramificación por rizomas (p. ej. *E. scheeri*) y otro grupo que presenta flores dimórficas (p. ej. *E. polyacanthus*). Aunque *E. yavapaiensis* no fue incluido en el análisis, porque no se contó con ninguna secuencia de ADN, sus caracteres morfológicos florales indican la pertenencia a esta sección. Esta sección se distribuye principalmente en la Sierra Madre Occidental, Montañas de Gila, y algunos taxones se han dispersado a la Cordillera Occidental en EE. UU., y en Baja California y el Desierto Chihuahuense en México (Sánchez, 2015, capítulo 4).

Evolución de caracteres.

Forma de crecimiento. Debido a la diversidad en el grado de suculencia y la forma de los tallos, la evolución de la forma de crecimiento (Buxbaum, 1951) y la definición correcta de estas formas de crecimiento (Vázquez-Sánchez *et al.*, 2012) ha tenido particular interés en Cactaceae. En la tribu Echinocereeae domina la forma de crecimiento columnar en arbustos y árboles mayores de 1.5 m de longitud. En *Echinocereus*, el estado ancestral de la forma de crecimiento

cilíndrico derivó de manera independiente en tres estados adicionales (Apéndice 1): globoso (p. ej. *E. subinermis*), columnar (p. ej. *E. poselgeri*) y cilíndrico decumbente (p. ej. *E. scheeri*); en ninguno de los casos las plantas rebasan los 1.5 m de longitud. Es probable que esta forma de crecimiento con tallos cortos, represente un evento de paedomorfosis, el cual resulta en la retención de caracteres juveniles en especies derivadas (Box y Glover, 2010). Así, la disminución en el tamaño del tallo en *Echinocereus* permitió alcanzar una edad reproductiva en pocos años de crecimiento con generaciones de corto tiempo. De acuerdo con Smith y Donoghue (2008), los linajes con generaciones cortas presentan una tasa de evolución molecular mayor que aquellos linajes con generaciones largas, promoviendo la diversificación. También, la forma de crecimiento de cilindros cortos permitió a las especies de *Echinocereus* explotar sitios con poco suelo, al no requerir mucho sustrato para sostenerse. La forma de crecimiento puede relacionarse con algunas modificaciones anatómicas en el tallo de la planta, por ejemplo, las plantas con forma de crecimiento columnar presentan una madera fibrosa, mientras que algunas especies cilíndricas decumbentes sólo presentan parches de fibras en el cilindro vascular (Sánchez, datos sin publicar). La relación entre la forma de crecimiento y sus caracteres anatómicos podrá ser evaluada a través de un análisis alométrico (p. ej. Vázquez-Sánchez y Terrazas, 2011).

Tipo de raíz. De acuerdo con Bravo-Hollis (1978), las raíces en algunos miembros de Cactaceae pueden almacenar agua. En *Echinocereus*, el tipo de raíz ancestral es fibrosa, sin embargo adquirió dos estados nuevos durante la evolución del género (Apéndice 1). El sistema radicular en donde la raíz principal está engrosada (tap-root engrosada, p. ej. *E. palmeri*) apareció paralelamente en seis ocasiones dentro del género; mientras que las raíces secundarias engrosadas (raíces tuberosas, p. ej. *E. leucanthus*) aparecieron una vez dentro del género y definen a la sección *Wilcoxia*. Sánchez *et al.* (2014) proponen que las raíces tuberosas se

adquirieron al menos dos veces dentro del género, ya que, en dicho análisis, la sección *Wilcoxia* no se recuperó como un grupo monofilético. Es probable que las raíces engrosadas surgieran como una respuesta a la reducción en la longitud o diámetro del tallo, que provocó una pérdida del tejido de almacenamiento, por lo que raíz tomó el papel de órgano de almacenamiento de agua. Este fenómeno también se observa en otras especies con tallos delgados (p. ej. *Peniocereus zopilotensis*, Arias *et al.*, 2005) o tallos cortos (p. ej. *Ariocarpus agavoides*, Bravo-Hollis, 1978).

Forma del tubo receptacular. De acuerdo con Arias y Terrazas (2006), la forma de la familia Cactaceae representa un carácter complejo. Se propone que la forma floral básica está dada principalmente por la forma del tubo receptacular, aunque otros caracteres como la longitud y su asociación con la longitud y color del perianto, permiten reconocer una mayor diversidad floral. El estado plesiomórfico de la forma del tubo receptacular en *Echinocereus* es infundibuliforme regular, el cual se ha transformado en dos estados derivados (Apéndice 1). El tubo receptacular infundibuliforme amplio se originó de manera independiente en dos linajes distintos (p. ej. *E. engelmannii* y *E. enneacanthus*); mientras que el tubo receptacular infundibuliforme tubular se originó independientemente en tres ocasiones (p. ej. *E. laui*, *E. adustus* y *E. triglochidiatus*). Las especies con flores de tubo receptacular infundibuliforme regular e infundibuliforme amplio presentan polinización diurna por himenópteros (Cota, 1993). Las diferentes longitudes del tubo receptacular y la asociación del perianto y sus modificaciones promovieron un síndrome de polinización más estricto, al atraer o excluir tipos específicos de abejas, abejorros y avispas. El tubo receptacular infundibuliforme tubular es típico de la sección *Triglochidiati*, aunque se encuentra en especies como *E. adustus* y *E. laui*. En este caso, el tubo receptacular funciona como un carácter de exclusión, ya que la forma angosta del tubo no permite la entrada de cualquier visitante (Cronk y Ojeda, 2008). La especificidad del polinizador

está dada por los caracteres del perianto, el de color rojo en las especies de la sección *Triglochidiati*, sugiere la visita de colibríes (Taylor, 1995), y la longitud del tubo receptacular favorecerá la visita de diferentes especies de colibríes. Mientras que en el caso de la *E. adustus* y *E. laui*, el color rosa pálido del perianto favorece la visita de mariposas nocturnas (Sánchez, obs. pers.), aunque permanecen abiertas durante el día y no excluyen la visita de otros polinizadores.

La estrategia de trabajo en el estudio filogenético de *Echinocereus* representa un esquema eficaz para abordar la sistemática de grupos vegetales diversos y morfológicamente heterogéneos. Una primera aproximación basada en ADN de cloroplasto (Sánchez *et al.*, 2014) permitió entender los límites del género y su relación con géneros cercanos, y generó una evaluación preliminar de la clasificación infragenérica tradicional. Aunque la utilización de marcadores de núcleo es recomendable, estos marcadores han sido pobremente utilizados en Cactaceae (Edwards *et al.*, 2005; Calvente *et al.*, 2011; Majure *et al.*, 2012; Ritz *et al.*, 2012) y se ha demostrado que ITS tiene parálogos, con un alto grado de polimorfismo intra-individual (Harpke y Peterson, 2006) lo cual no es adecuado en análisis filogenéticos porque puede generar hipótesis filogenéticas incorrectas. Por lo anterior, la inclusión de un grupo de caracteres morfológicos que han pasado por los criterios de reconocimiento de homología, representó el complemento lógico para corroborar y robustecer la filogenia molecular. En este trabajo se resume la importancia de la integración de los caracteres morfológicos y los caracteres moleculares, ya que permitió la aparición de una señal filogenética secundaria al interactuar con los caracteres moleculares y evitó la atracción de ramas largas dentro de algunos clados. Con base en los caracteres morfológicos, se estableció el carácter o conjunto de caracteres para diagnosticar las secciones del género recuperadas en los análisis filogenéticos.



Figura 3. Miembros de las secciones reconocidas de *Echinocereus* y caracteres distintivos. A. *E. stoloniferus* (D. Sánchez 32, MEXU). B. Pared periclinal de la testa de la semilla en *E. pentalophus* (S. Arias 1746, MEXU). C. *E. poselgeri* (S. Arias 2129, MEXU). D. Raíces tuberosas en *E. poselgeri* (S. Arias 1492, MEXU). E. *E. viereckii* (S. Arias 1996, MEXU). F. Flores con taninos en la epidermis de los tépalos en *E. berlandieri* (S. Arias 1454, MEXU). G. *E. metornii* (D. Sánchez 83, MEXU). H. Nectario en la flor de *E. adustus* (D. Sánchez 23, MEXU). I. *E. schereri* (D. Sánchez 72, MEXU). J. Fruto con pulpa semi-seca en *E. schereri* (D. Sánchez 72, MEXU). K. *E. viridiflorus* (D. Sánchez 80, MEXU). L. Flor de *E. viridiflorus* (D. Sánchez 80, MEXU). M. *E. engelmannii* (D. Sánchez s. n.). N. Flor de *E. fendleri* (S. Arias 2023, MEXU). O. *E. coccineus* (D. Sánchez 79, MEXU). P. Flor de *E. polyacanthus* (D. Sánchez 24, MEXU).

Literatura citada

- Agnarsson I. y Miller J. A. 2008. Is ACCTRAN better than DELTRAN? *Cladistics* 24: 1032-1038.
- Anderson E. F. 2001. The cactus family. Portland: Timber Press.
- Arias S. y Terrazas T. 2004. Seed morphology and variation in the genus *Pachycereus* (Cactaceae). *Journal of Plant Research* 117: 277-289.
- Arias S. y Terrazas T. 2006. Análisis cladístico del género *Pachycereus* (Cactaceae) con caracteres morfológicos. *Brittonia* 58: 197-216.
- Arias S., Terrazas T. y Cameron K. 2003. Phylogenetic analysis of *Pachycereus* (Cactaceae, Pachycereeae) based on chloroplast and nuclear ADN sequences. *Systematic Botany* 28: 547-557.
- Arias S., Terrazas T., Arreola-Nava H., Vázquez-Sánchez M. y Cameron K. 2005. Phylogenetic relationships in *Peniocereus* (Cactaceae) inferred from plastid DNA sequence data. *Journal of Plant Research* 118: 317-328.
- Arroyo-Cosultchi G., Terrazas T. Arias S. y Arreola-Nava H. J. 2006. The systematic significance of seed morphology in *Stenocereus* (Cactaceae). *Taxon* 55: 983-992.
- Assis L. y Rieppel O. 2011. Are monophyly and synapomorphy the same or different? Revisiting the role of morphology in phylogenetics. *Cladistics* 27: 94-102.
- Assis L. 2009. Coherence, correspondence, and the renaissance of morphology in phylogenetic systematics. *Cladistics* 25: 528-544.
- Baker M. 2006a. A new florally dimorphic hexaploid, *Echinocereus yavapaiensis* sp. nov. (section *Triglochidiatus*, Cactaceae) from central Arizona. *Plant Systematics and Evolution* 258: 63-83.

- Baker M. 2006b. Circumscription of *Echinocereus arizonicus* subsp. *arizonicus*: Phenetic analysis of morphological characters in section *Triglochidiatus* (Cactaceae) Part II. *Madroño* 53: 388-399.
- Bárcenas R. T., Yesson C. y Hawkins J. A. 2011. Molecular systematics of the Cactaceae. *Cladistics* 27: 470-489.
- Barthlott W. y Hunt D. 2000. *Seed diversity in the Cactaceae subfamily Cactoideae* 5: 1-173.
- Berger A. 1926. *Die entwicklungslinien der Kakteen*. Jena: G. Fisher.
- Bergsten J. 2005. A review of long-branch attraction. *Cladistics* 21: 163-193.
- Blum W., Felix D. y Bauer H. 2012. *Echinocereus* Die Sektion *Echinocereus*. *Der Echinocereenfreund* 25: 1-336.
- Blum W., Felix D. y Waldeis D. 2008. *Echinocereus* Die Sektion *Wilcoxia*. *Der Echinocereenfreund* 21: 1-142.
- Blum W., Felix D., Oldach D. y Oldach J. 2005. *Der Echinocereus reichenbachii-fitchii* Komplex. Dinges & Frick. Wiesbaden.
- Blum W., D. Lange, M. Rischer y J. Rutow. 1998. *Echinocereus, Monographie*. Aachen: Selbstverlag.
- Box M. S. y Glover B. J. 2010. A plant developmentalist's guide to pedomorphosis: reintroducing a classic concept to a new generation. *Trend in Plant Science* 15: 242-246.
- Bravo-Hollis H. 1978. *Las Cactáceas de México*. Vol. I. México, D. F.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Bravo-Hollis H. y Sánchez Mejorada H. 1991. *Las Cactáceas de México*. Vol. 2. México, D. F.: Universidad Nacional Autónoma de México.

- Britton N. L. y Rose J. N. 1919. *The Cactaceae*. Vol. 1. Washington, D. C.: Carnegie Institution of Washington.
- Britton N. L. y Rose J. N. 1920. *The Cactaceae*. Vol. 2. Washington, D. C.: Carnegie Institution of Washington.
- Britton N. L. y Rose J. N. 1922. *The Cactaceae*. Vol. 3. Washington, D. C.: Carnegie Institution of Washington.
- Britton N. L. y Rose J. N. 1923. *The Cactaceae*. Vol. 4. Washington, D. C.: Carnegie Institution of Washington.
- Butterworth C. A. y Wallace R. S. 2004. Phylogenetic studies of *Mammillaria* (Cactaceae) insights from chloroplast sequence variation and hypothesis testing using the parametric bootstrap. *American Journal of Botany* 91: 1086-1098.
- Buxbaum F. 1951. *Morphology of cacti. Section I. Root and Stems*. Pasadena: Abbey Garden Press.
- Buxbaum F. 1953. *Morphology of cacti. Section II. Flower*. Pasadena: Abbey Garden Press.
- Buxbaum F. 1955. *Morphology of cacti. Section III. Fruits and seeds*. Pasadena: Abbey Garden Press.
- Buxbaum F. 1958. The phylogenetic division of the subfamily Cereoideae, Cactaceae. *Madroño* 14: 177-206.
- Buxbaum F. 1962. Gattung *Myrtillocactus*, C III. *Die Kakteen*. Stuttgart: Franckh'sche Verlagshandlung.
- Calvente A., Zappi D. C., Forest F. y Lohmann L. G. 2011. Molecular phylogeny of tribe Rhipsalideae (Cactaceae) and taxonomic implications for *Schlumbergera* and *Hatiora*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 58: 456-468.

- Cota J. H. y Philbrick C. T. 1994. Chromosome number variation and polyploidy in the genus *Echinocereus* (Cactaceae). *American Journal of Botany* 81: 1054-1062.
- Cota J. H. y Wallace R. S. 1995. Karyotypic studies in the genus *Echinocereus* and its taxonomic implications. *Caryologia* 48: 105-122
- Cota J.H. 1993. Pollination syndromes in the genus *Echinocereus*: a review. *Cactus and Succulent Journal* 65: 19-26.
- Cronk Q. y Ojeda I. 2008. Bird-pollinated flowers in an evolutionary and molecular context. *Journal of Experimental Botany* 59: 715-727.
- de Carvalho M.R. 1996. Higher-level elasmobranch, phylogeny, basal Squalians, and paraphyly. Pp. 35-62 en *Interrelationships of Fishes*, eds. Stiassny M.L.J., Parenti L.R. y Johnson G.D. San Diego: Academic Press.
- De Pinna M.G. 1991. *Concepts and tests of homology in the cladistic paradigm*. *Cladistics* 7: 367-394.
- Demaio P. H., Barfuss M. H., Kiesling R., Till W. y Chiapella J. O. 2011. Molecular phylogeny of *Gymnocalycium* (Cactaceae): assessment of alternative infrageneric system, a new subgenus, and trends in the evolution of the genus. *American Journal of Botany* 98: 1841-1854.
- Donoghue M. J. y Sanderson M. J. 1992. The suitability of molecular and morphological evidence in reconstructing plant phylogeny. Pp. 340-368 en *Molecular systematics of plants*. eds. Soltis P. S., Soltis D. E. y Doyle J. J. New York: Chapman & Hall.
- Edwards, E. J., R. Nyffeler, and M. J. Donoghue. 2005. Basal cactus phylogeny: implications of *Pereskia* (Cactaceae) paraphyly for the transition to the cactus life form. *American Journal of Botany* 92: 1177-1188.

- Endler J. and F. Buxbaum. 1974. *Die Pflanzenfamilie der Kakteen*. Ed 3. Minden A. Philler.
- Engelmann G. 1848. Botanical Appendix. Pp. 87-115 in *Memoir of a Tour to Northern Mexico: connected with Col. Doniphan's Expedition, in 1846 and 1847*, ed. F. A. Wislizenus.
- Engelmann G. 1849. En A. Gray, *Plantae Fendlerianae Novi-Mexicanae*. *Memoirs of the American Academy* 4: 50.
- Engelmann G. 1859. Cactaceae of the Boundary. En: Emory W.H. *United States and Mexican Boundary Survey*.
- Felix D. y Blum W. 2011. *Echinocereus Die parkeri* – Gruppe. Eith Druck und Medienzentrum Albstadt. Ebingen.
- Frank G. R. W. 1990. *Die Echinocereus pectinatus – Echinocereus dasyacanthus* Gruppe.
- Frank G. R. W. 1990. *Echinocereus schereri*. *Kakteen und andere Sukkulente* 41: 154-159.
- Frank G. R. W. 1990. *Echinocereus schereri*. *Kakteen und andere Sukkulente* 41: 210-218.
- Fuentes M. 2004. Anatomía floral de algunas especies de Pachycereeae (Cactaceae). Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Gibson A. C. y Horak K. E. 1978. Systematics anatomy and phylogeny of Mexican columnar cacti. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 65: 999-1057.
- Gibson A. C. y Nobel P. S. 1986. *The cactus primer*. Cambridge: Harvard University Press.
- Goloboff P. A, Farris J. y Nixon K. 2008. T.N.T. Tree analysis using new technology. *Cladistics* 24: 774-786.
- Grant V. y Grant K. 1979. Pollination of *Echinocereus fasciculatus* and *Ferocactus wislizenii*. *Plant Systematics and Evolution* 132: 29-37.

- Harpke D. y Peterson A. 2006. Non-concerted ITS evolution in *Mammillaria* (Cactaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 41: 579-593.
- Hoffman M. T. 1992. Functional dioecy in *Echinocereus coccineus* (Cactaceae): breeding system, sex ratios, and geographic range of floral dimorphism. *American Journal of Botany* 79: 1382–1388.
- Hughes C. E., Lewis G. P., Daza Yomona A. y Reynel C. 2004. *Maraniona*. A new dalbergioid legume genus (Leguminosae, Papilionoideae) from Peru. *Systematic Botany* 29: 366-374.
- Hunt D. R., Taylor N. P. y Charles G. 2006. *The new cactus lexicon*. Milborne Port: DH Books.
- Hunt D.R. 1999. *CITES Cactaceae Checklist*. Royal Botanic Gardens Kew & International Organization for Succulent Plant Study.
- Johansen D. A. 1940. *Plant Microtechnique*. New York: Mac-Graw Hill.
- Judd W. S., Campbell C. S., Kellogg E. A., Stevens P. F. y Donoghue M. J. 2008. *Plant systematics: A phylogenetic approach*. Sunderland: Sinauer.
- Koch K., Bhushan B. y Barthlott W. 2009. Multifunctional surface structures of plants: an inspiration for biomimetics. *Progress in Materials Science* 54: 137-178.
- Korotkova N., Borsch T, Quandt D., Taylor N. P., Muller K. F. y Barthlott W. 2011. What does it take to resolve relationships and to identify species with molecular markers? An example from epiphytic Rhipsalideae (Cactaceae). *American Journal of Botany* 98: 1549-1572.
- Loza-Cornejo S. y Terrazas T. 1996. Anatomía del tallo y raíz de dos especies de *Wilcoxia* Britton & Rose (Cactaceae) del noreste de México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 59: 13-23.
- Loza-Cornejo S. y Terrazas T. 2003. Epidermal and hipodermal characteristics in North American Cactoideae (Cactaceae). *Journal of Plant Research* 116: 27-35.

- Luna E. y Mishler B.D. 1996. El concepto de homología filogenética y la selección de caracteres taxonómicos. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 59: 131-146.
- Maddison W. P. y Maddison D. R. 2015. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.02 <http://mesquiteproject.org>
- Majure L. C., Puente R., Griffith M. P., Judd W. S., Soltis P. S. y Soltis D. E. 2012. Phylogeny of *Opuntia s.s.* (Cactaceae): Clade delineation, geographic origins, and reticulate evolution. *American Journal of Botany* 99: 847-864.
- Mauseth J.D. 1993. Medullary bundles and the evolution of cacti. *American Journal of Botany* 80: 928-932.
- Mauseth J.D. y Plemons-Rodríguez B. J. 1998. Presence of paratracheal water storage tissue does not alter vessel characters in cactus wood. *American Journal of Botany* 85: 209-218.
- Mauseth J.D., T. Terrazas y S. Loza-Cornejo. 1998. Anatomy of relictual members of subfamily Cactoideae, IOS Group 1a. (Cactaceae). *Bradleya* 16: 31-43.
- Mauseth, J. D. y Sajeve M. 1992. Cortical bundles in the persistent, photosynthetic stems of cacti. *Annals of Botany* 70: 317-324.
- Media Cybernetics. 2006. Image Pro Plus, Reference Guide. Ver. 6.1 for Windows, Silver Spring.
- Moran R. 1977. ¿Qué hacer con *Cereus pensilis*? *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 22: 27-35.
- Mosco A. 2009. Micro-morphology and anatomy of *Turbinicarpus* (Cactaceae) spines. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 80: 119-128.
- Nixon K. C. 2002. WinClada, version 1.00. 08. Publicado por el autor, Ithaca, New York.
- Nixon K. C. y Carpenter J. M. 1996. On simultaneous analysis. *Cladistics* 12: 221-241.

- Norup M. V., Dransfield J., Chase M. W., Barfod A. S., Fernando E. S. y Baker W. J. 2006. Homoplasious character combinations and generic delimitation: a case study from the Indo-Pacific arecoid palms (Arecaceae: Areceae). *American Journal of Botany* 93: 1065-1080.
- 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: 312-326.
- Ochoterena H. 2009. Homology in coding and non-coding DNA sequences: a parsimony perspective. *Plant Systematics and Evolution* 282: 151-168.
- Pinkava D.J., McLeod M. G., McGill L. A. y Brown R. C. 1973. Chromosome numbers in some cacti of western North America-II. *Brittonia* 25: 2-9.
- Pol D. y Siddall M.E. 2001. Biases in maximum likelihood and parsimony: a simulation approach to a 10-taxon case. *Cladistics* 17: 266–281.
- Prychid C. J. Furness C. y Ruddal P. J. 2003. Systematic significance of cell inclusions in Haemodoraceae and allied families: silica bodies and tapetal raphides. *Annals of Botany* 92: 571-580.
- Rindal E. y Brower A. V. 2011. Do model-based phylogenetic analyses perform better than parsimony? A test with empirical data. *Cladistics* 27: 331-334.
- Ritz C. M., Martins L., Mecklenburg R., Goremykin V. y Hellwig F. H. 2007. The molecular phylogeny of *Rebutia* (Cactaceae) and its allies demonstrates the influence of paleogeography on the evolution of South American Mountain cacti. *American Journal of Botany* 94: 1321-1332.
- Ritz C. M., Reiker J., Charles G., Hoxey P., Hunt D., Lowry M., Stuppy W. y Taylor N. 2012. Molecular phylogeny and character evolution in terete-stemmed Andean opuntias (Cactaceae– Opuntioideae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 65: 668-681.

- Ronquist, F. y Huelsenbeck J. P. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.
- Rowley G. D. 1974. The unhappy medium: *Morangaya* a new genus of Cactaceae. *Ashingtonia* 1: 43-45.
- Sánchez D., Arias S. y Terrazas T. 2013. Análisis morfométrico de las especies de *Echinocereus* sección *Triglochidiati* (Cactaceae) en México. *Brittonia*: 65: 368-385.
- Sánchez D., Arias S. y Terrazas T. 2014. Phylogenetic relationships in *Echinocereus* (Cactaceae, Cactoideae). *Systematic Botany* 39: 1189-1193.
- Sánchez D., Grego-Valencia D., Terrazas T. y Arias S. 2014. How and why does the areole meristem move in *Echinocereus* (Cactaceae)? *Annals of botany* 115: 19-26.
- SAS Institute. 1989. SAS procedure guide. Release 6.03. SAS Institute, Cary.
- Schlumpberger B. O., y Renner S. S. 2012. Molecular phylogenetics of *Echinopsis* (Cactaceae): Polyphyly at all levels and convergent evolution of pollination modes and growth forms. *American Journal of Botany* 99: 1335-1349.
- Schumann K. 1899. Gesamtbeschreibung der Kakteen. Berlin: Neudamm.
- Scotland R.W., Olmstead R. G. y Bennett J. R. 2003. Phylogeny reconstruction: the role of morphology. *Systematic Biology* 52: 539-548.
- Simpson M. G. 2006. *Plant Systematics*. San Diego: Elsevier Academic Press.
- Smith S. A. y Donoghue M. J. 2008. Rates of molecular evolution are linked to life history in flowering plants. *Science* 322: 86-89.
- Taylor N. P. 1985. *The genus Echinocereus*. Middlesex: Kew Magazine Monograph.
- Taylor N. P. 1993. Ulteriori studi su *Echinocereus*. *Piante Grasse* 13: 79-96.

- Terrazas T. y Arias S. 2002. Comparative stem anatomy in the subfamily Cactoideae. *The Botanical Review* 68: 444–473.
- Terrazas T. y Loza-Cornejo S. 2002. Phylogenetic relationships of Pachycereeae: a cladistic analysis based on anatomical and morphological data. Pp. 66-86 en *Columnar cacti and their mutualist, evolution, ecology, and conservation*, eds. Fleming T. y Valiente-Banuet A. Tucson: Arizona University Press.
- Terrazas T. y Mauseth J. D. 2002. Shoot anatomy and morphology. Pp. 23-40 en *Cacti biology and uses*, ed. Nobel P.S. Berkeley: University of California Press.
- Vázquez-Sánchez M, T. Terrazas. 2011. Stem and wood allometric relationships in Cactaceae (Cactaceae). *Trees: Structure and Function* 25: 755-767.
- Vázquez-Sánchez M., T. Terrazas y S. Arias. 2012. El hábito y la forma de crecimiento en la tribu Cactaceae (Cactaceae, Cactoideae). *Botanical Sciences* 90:97-108.
- Vázquez-Sánchez M., Terrazas T., Arias S. y Ochoterena H. 2013. Molecular phylogeny, origin, and taxonomic implications of the tribe Cactaceae (Cactaceae). *Systematics and Biodiversity* 11: 103-116.
- Wallace R. S. y Gibson A. C. 2002. Evolution and systematics. Pp. 1-21 en *Cacti biology and uses*, ed P. S. Nobel. Berkeley: University of California Press.
- World Color Survey. <http://www.icsi.berkeley.edu/wcs/data.html>. Visitado en junio 2012.
- Wortley A. H. y Scotland R. W. 2006. The effect of combining molecular and morphological data in published phylogenetic analyses. *Systematic Biology* 55: 677-685.
- Zuccarini J.G. 1837. Plantarum novarum vel minus cognitarum, quae in Horto Botanico Herbarioque Region Monacensi. Cactaceae. *Bayerischen Akademie der Wissenschaften* 2: 597-742.

Apéndice 1. Definición de caracteres y estados de carácter en *Echinocereus*.

1. Hábito. De acuerdo con Judd *et al.* (2008) el hábito se refiere al aspecto general de la planta y distingue tres formas principales: hierba, arbusto y árbol. Este concepto es adoptado por Vázquez-Sánchez *et al.* (2012), en un estudio de la tribu Cacteeae y puntualiza que el hábito es un carácter diferente a la forma de crecimiento. En la tribu Echinocereae, se reconocen dos hábitos, el arbustivo y el arborescente.

(0) Hábito arbustivo, (1) hábito arborescente.

2. Forma de crecimiento. Vázquez-Sánchez *et al.* (2012), distinguen entre los conceptos, hábito, forma de vida y forma de crecimiento. Los autores establecen cuatro formas de crecimiento a partir de la relación del diámetro y longitud de la parte aérea del tallo en varias especies de la tribu Cacteeae. Sin embargo, la tribu Echinocereae muestra una mayor variación en la altura y diámetro de los tallos de las especies que la conforman. Por lo tanto, aquí se establecen otros estados de carácter, con base en el método utilizado por Vázquez-Sánchez *et al.* (2012). Columnar erecta, si la altura de la planta es más de diez veces que el diámetro del tallo y puede sostener su propio peso (p. ej. *Pachycereus pringlei*). Columnar decumbente, si la altura de la planta es más de diez veces que el diámetro del tallo y no puede sostener su propio peso (p. ej. *Stenocereus alamosensis*). Cilíndrica erecta, la altura es dos y hasta diez veces mayor que el diámetro del tallo y puede sostener su propio peso (p. ej. *Echinocereus dasyacathus*). Cilíndrica decumbente, la altura es de dos y hasta diez veces mayor que el diámetro del tallo y no puede sostener su propio peso (p. ej. *E. pentalophus*). Globoso, si el tallo tiene aproximadamente la misma altura que diámetro.

(0) Forma de crecimiento columnar erecto, (1) forma de crecimiento columnar decumbente, (2) forma de crecimiento cilíndrica erecta, (3) forma de crecimiento cilíndrica decumbente, (4) forma de crecimiento globoso.

3. Tipo de tallo. La mayoría de las especies de cactáceas presentan sólo tallos aéreos. Sin embargo, algunas especies tienen tallos subterráneos, los cuales pueden ser verticales u horizontales. Taylor (1985) describe la presencia de tallos subterráneos horizontales (caudex) en la sección *Pulchellus* (p. ej. *E. pulchellus*), en donde existe una región aérea y una región subterránea. Blum *et al.* (1998) señalan la existencia de tallos subterráneos horizontales en *Echinocereus* (p. ej. *E. scheeri*), en donde los tallos jóvenes son subterráneos y al crecer la parte superior del tallo es aérea.

(0) Tallos aéreos, (1) tallos subterráneos verticales (caudex; Simpson, 2006), (2) tallos subterráneos horizontales (rizoma; Simpson, 2006).

4. Diámetro del tallo. De acuerdo con Sánchez *et al.* (2013) este carácter permite reconocer grupos de especies en *Echinocereus* sección *Triglochidiati*. El diámetro del tallo se midió en la zona media de individuos maduros en las especies incluidas en el análisis. El análisis de varianza ($P < 0.05$) y el análisis de comparación de medias de Tukey ($P < 0.05$) permitió reconocer tres estados de carácter.

(0) Tallos con diámetro < 2.2 cm, (1) tallos con diámetro 2.2 a 15 cm, (2) tallos con diámetro > 15 cm.

5. Ramificación del tallo. En Cactaceae, las ramas laterales surgen de las aréolas; no obstante, los tallos de las especies de la familia presentan un gran número de aréolas, la ramificación puede o no presentarse (Gibson y Nobel, 1986). Este fenómeno también se puede observar en *Echinocereus*, en el que existen especies con ramas laterales (p.ej. *E. pentalophus*, *E.*

brandegeei); y otras que ramifican sólo si existe un daño en el meristemo apical del tallo, presentando por lo regular tallos solitarios (p. ej. *E. pectinatus*, *E. sciurus*).

(0) Tallos ramificados, (1) tallos solitarios.

6. Número de costillas. Las costillas en la familia Cactaceae representan podarios en hileras verticales (Zuccarini, 1837). Todas las especies de la tribu Echinocereae presentan costillas; sin embargo, el número de costillas puede variar entre las especies. Dicho carácter resultó importante para distinguir grupos de especies de *Echinocereus* sección *Triglochidiati* (Sánchez *et al.*, 2013). El número de costillas se contó en individuos maduros de las especies de *Echinocereus*. El análisis de varianza ($P < 0.05$) y el análisis de comparación de medias de Tukey ($P < 0.05$) permitió reconocer cinco estados de carácter:

(0) Tallos con <5 costillas, (1) tallos con 5-9 costillas, (2) tallos con 10-14 costillas, (3) tallos con 15-23 costillas, (4) tallos con >23 costillas.

7. Tipo de raíz. La presencia de raíz fibrosa es la condición general en las cactáceas. Sin embargo, en la tribu Echinocereae se observan algunos taxones que presentan raíces engrosadas. En *Echinocereus* definimos dos tipos de raíces engrosadas: las que se derivan de la raíz principal (taproot, p.ej. *E. schmollii*), y las que se derivan de las raíces secundarias formando raíces tuberosas (p. ej. *E. poselgeri*).

(0) Raíz fibrosa, (1) raíz principal engrosada (taproot), (2) raíces secundarias engrosadas (tuberosas).

Las espinas en las aréolas de las cactáceas son elementos morfológicos muy distintivos en la familia. Diversos autores han descrito la gran variación que existe en las espinas dentro de la familia (p.ej. Buxbaum, 1951; Gibson y Nobel, 1986). Esta variación puede observarse en el número de espinas, forma de las espinas, arreglo de las espinas en la aréola, entre otros. Si bien

existen algunas clasificaciones respecto a las características de las espinas, éstas combinan atributos, que representan varios caracteres complejos. El género *Echinocereus* no es la excepción y muestra una gran variación en los caracteres de las espinas. Los siguientes caracteres codifican por separado algunos de los atributos más distintivos de las espinas (caracteres 8-11).

8. Número de espinas centrales. No obstante la variabilidad de este carácter para algunas especies, se ha mostrado su utilidad para distinguir grupos de especies de la sección *Triglochidiati* (Sánchez *et al.*, 2013) de *Echinocereus*. A partir de un análisis de varianza ($P < 0.05$) y comparación de medias de Tukey ($P < 0.05$) del número de espinas centrales en individuos maduros de las especies de *Echinocereus*.

(0) Aréolas con 1-2 espinas centrales, (1) Aréolas con 3-6 espinas centrales, (2) Aréolas con >6 espinas centrales, (3) Aréolas con 0 espinas centrales.

9. Forma de las espinas centrales. En cactáceas, la forma de las espinas es un atributo que permite distinguir especies. Para *Echinocereus*, Taylor (1985) propone que la forma de la espina central permite reconocer a algunos grupos de especies (p.ej. grupo *E. engelmannii*). A partir de la variación encontrada en el género, la forma de la espina se observa en corte transversal de la base de la espina. Se propone la forma circular para aquellas que muestran un círculo u óvalo en su base, forma angulada para aquellas que muestran un triángulo o un rombo equilátero en su base y forma aplanada para aquellas que muestren un rombo con el eje horizontal del doble de longitud respecto al eje vertical.

(0) Espina central circular, (1) espina central angulada, (2) espina central aplanada.

10. Consistencia de las espinas en las aréolas del tallo. Las espinas en Cactaceae presentan diferente consistencia y pueden ser rígidas o flexibles (Gibson y Nobel, 1986). De

acuerdo con Mosco (2009), la dureza y flexibilidad de las espinas están relacionadas con el grado de esclerificación de las mismas. En *Echinocereus*, existe un grupo de especies con espinas flexibles en las aréolas del tallo, que se pueden doblar fácilmente sin que se rompan, las cuales son definidas como espinas setosas, mientras que otras especies presentan espinas rígidas que se quiebran al doblarse.

(0) Espinas de consistencia rígida, (1) espinas de consistencia setosa.

11. Arreglo de las espinas radiales. El conjunto espinas en la aréola puede presentar diferentes configuraciones, de acuerdo a la orientación de sus espinas radiales. En algunas especies se puede observar un arreglo radial de las espinas, es decir, apuntando en todas direcciones (p.ej. *E. acifer*). Mientras que otras especies presentan un arreglo pectinado de las espinas radiales, en donde la mitad de éstas presenta una orientación hacia el lado izquierdo y la otra mitad hacia el lado derecho de la aréola. En algunos casos, el arreglo pectinado puede presentar un surco que corre por en medio de la aréola (p.ej. *E. adustus*) o bien no distinguirse surco alguno (p.ej. *E. pectinatus*). Por lo tanto se distinguen tres arreglos.

(0) Arreglo radial, (1) arreglo pectinado con surco, (2) arreglo pectinado sin surco.

12. Desarrollo de las yemas. Sánchez *et al.* (2015) muestran que el meristemo de la aréola se mueve y queda encerrado en el córtex del tallo. Cuando el meristemo de la aréola se desarrolla como una yema vegetativa o floral, brota rompiendo la epidermis circundante a la aréola. Taylor (1985) llama a este carácter como yemas errumpentes.

(0) Yemas florales no errumpentes, (1) yemas florales errumpentes.

13. Color del estigma. Los estigmas de la flor en la familia Cactaceae presentan diversos colores (p.ej. rojos, amarillos, verdes) De acuerdo con Taylor (1985) en *Echinocereus* los

estigmas pueden presentar tonos de color que van del amarillo pálido al verde. La revisión de este carácter permite establecer dos estados de carácter.

(0) Estigmas en tonos de color amarillo, (1) estigmas en tonos de color verde.

Las formas de la flor descritas por Buxbaum (1953) para Cactaceae no son suficientes para abarcar la variación encontrada en la tribu Echinocereae. Arias y Terrazas (2006) sugieren que se trata de un carácter complejo y que la forma de la flor debe de ser sujeta a un estudio anatómico que permita comprender las regiones involucradas en este órgano. Por lo tanto, los caracteres 14-17, tratan de descomponer la forma de la flor para un mejor entendimiento de su evolución en el grupo.

14. Forma del tubo receptacular de la flor. En *Echinocereus* la diversidad floral es notable Taylor (1985) y Cota (1993) señalan que la morfología floral está relacionada con el síndrome de polinización de las especies. De acuerdo con Blum *et al.* (1998) se pueden distinguir al menos tres formas. Nuestras observaciones concuerdan con los formas de la flor propuestas por este autor, y proponemos que se deben establecer con base en la forma del tubo receptacular. La forma fue establecida al medir el diámetro del tubo en la región inferior, región media y región superior del tubo receptacular (x: y: z). Infundibuliforme regular: el diámetro en la base del tubo receptacular aumenta de manera gradual hasta rebasar el doble de diámetro en el ápice del tubo (1: 1.5: 2.3). Infundibuliforme amplia: el diámetro del tubo receptacular aumenta bruscamente por un recurvamiento del tubo para superar el doble de diámetro en el ápice del tubo (1: 1: 2.5). Infundibuliforme tubular: el diámetro en la base del tubo receptacular va aumentando poco a poco hasta alcanzar el doble de diámetro (1: 1.3: 2).

- (0) Tubo receptacular infundibuliforme regular (1: 1.5: 2.5),
- (1) tubo receptacular infundibuliforme amplio (1: 1: 2.5),
- (2) tubo receptacular infundibuliforme tubular (1:1.5:2).

15. Relación de la longitud del tubo receptacular con la longitud del perianto. Independientemente de la forma del tubo receptacular de la flor, en *Echinocereus* el tubo receptacular y el perianto presentan diferentes longitudes, lo cual permite distinguir diferentes combinaciones de ambos caracteres. El análisis realizado por Sánchez *et al.* (2013), muestra que esta relación permite reconocer especies en la sección *Triglochidiati*. Con base en el análisis de varianza ($P < 0.05$) y el análisis de comparación de medias de Tukey ($P < 0.05$), establecieron cuatro estados de carácter.

- (0) Perianto hasta 1.5 veces más largo que el tubo receptacular,
- (1) perianto más de 1.6 veces más largo que el tubo receptacular,
- (2) tubo receptacular hasta 1.5 veces más largo que el perianto,
- (3) tubo receptacular más de 1.6 veces más largo que el perianto.

16. Longitud de la flor. Al igual que el carácter anterior, el análisis de Sánchez *et al.* (2013), muestra que este carácter longitud de la flor permite reconocer especies en la sección *Triglochidiati*. El análisis de varianza ($P < 0.05$) y el análisis de comparación de medias de Tukey ($P < 0.05$), establecieron tres estados de carácter.

- (0) Longitud de la flor de 4 – 8.5 cm, (1) longitud de la flor > 8.5 cm, (2) < 4 cm.

17. Relación de la longitud de los estambres internos y externos. En Cactaceae, los estambres surgen a lo largo del tubo receptacular de la flor. En algunas especies, la longitud de los filamentos de los estambres de las series basales (estambres internos) es mayor, mientras que las series superiores (estambres externos) son más cortos. En otras especies, los filamentos de los estambres de las series basales y superiores presentan una longitud similar.

(0) Longitud de los estambres internos y externos similar, (1) longitud de los estambres internos mayor a la longitud de los estambres externos.

18. Longitud del nectario. En Cactaceae, se conoce como nectario al cilindro formado por la región interna del tubo receptacular, que incluye al tejido nectarial y almacena el néctar producido. En *Echinocereae* la longitud del nectario es variable, tan sólo en *Echinocereus*, existen flores con nectarios largos, debido a su síndrome de polinización por colibríes (Taylor, 1985) o nectarios cortos en donde la producción de néctar es mínima (Cota, 1993). Por lo tanto, se sugieren los siguientes estados de carácter a partir de un análisis de varianza ($P < 0.05$) y comparación de medias de Tukey ($P < 0.05$) para los taxones incluidos en este estudio.

(0) Longitud del nectario > 9 mm, (1) longitud del nectario de 3-8 mm, (2) longitud del nectario de 1-2 mm.

19. Posición del tejido nectarial. Independientemente de la longitud del nectario, los cortes longitudinales de la flor permitieron distinguir que las células del tejido nectarial se ubican en diferentes posiciones dentro del nectario. Lateral, cuando se observa que el tejido nectarial se ubica en las paredes laterales internas del tubo receptacular, siendo más largo que ancho. Basal, cuando se observa que el tejido nectarial se ubica en la base de las paredes laterales internas del tubo receptacular, siendo isodiamétrico.

(0) Posición lateral, (1) posición basal.

20. Color de la antera. Las flores en antesis de algunas especies de *Echinocereus* permitieron distinguir que las anteras dehiscentes pueden presentar una coloración distinta a la del grano de polen. Blum *et al.* (1998) sugieren que el color de la antera es útil para reconocer grupos de especies. Aquí se reconocen dos estados de carácter.

(0) Anteras con tonos de color amarillo, (1) Anteras con tonos de color púrpura.

21. Color dominante de la flor. En las angiospermas, el color de la flor está definido principalmente por el perianto y está asociado al síndrome de polinización que cada taxón puede presentar. En *Echinocereus*, los tépalos pueden presentar un solo color o mostrar varios. Sin embargo, existe un color dominante, el cual se presenta en el tercio superior de los tépalos internos. Taylor (1985) y Blum *et al.* (1998) proponen que el color de la flor es un carácter diagnóstico para reconocer a algunos grupos en *Echinocereus*. El color dominante de la flor se establece a partir de la tabla provista por World Color Survey (<http://www.icsi.berkeley.edu/wcs/data.html>).

(0) Blanco (A), (1) Amarillo (C9-11), (2) Púrpura (H32-36), (3) Rosa (E36-39, F36-39), (4) Rojo (E1-4, F1-4), (5) Café (I1-4).

22. Tono del color de la garganta del perianto. En Cactaceae, las flores pueden presentar distintos colores en diferentes regiones de los tépalos. La diferenciación de color en la garganta de la flor es, en algunos casos, contrastante con el del tercio superior de los tépalos, y puede representar una guía para el polinizador efectivo. Blum *et al.* (1998) sugieren que el color de la garganta de la flor puede ser un carácter importante para el reconocimiento de grupos de especies en *Echinocereus*. Al comparar el color dominante de la flor con el tono del color de la garganta, se pueden distinguir tres estados.

(0) Garganta que contrasta con el tercio superior de los tépalos por sus colores claros, (1) garganta que contrasta con el tercio superior de los tépalos por sus colores oscuros, (2) garganta sin contraste de color con el tercio superior de los tépalos.

23. Sexualidad floral. La presencia de flores unisexuales ha sido reportada en diversas especies de la familia Cactaceae. Hoffman (1992) y Baker (2006b) han descrito flores funcionalmente femeninas en *Echinocereus*. Las observaciones realizadas en campo corroboran

la existencia de poblaciones de algunas especies de la sección *Triglochidiati* con dimorfismo floral, en donde algunos individuos producen flores pistiladas, mientras que otros individuos presentan flores bisexuales.

(0) Flores bisexuales, (1) flores unisexuales.

24. Longitud de los tricomas de las aréolas del tubo receptacular de la flor. Una de las características de las aréolas en Cactaceae es que están cubiertas por tricomas. En *Echinocereus* las aréolas del tubo receptacular de la flor presentan tricomas cortos en algunas especies, mientras que en otras existen tricomas largos, dando la apariencia de densidad (Taylor, 1985; Blum *et al.*, 1998). Estos autores proponen que la densidad de los tricomas en el tubo receptacular permite distinguir grupos de especies. Por lo tanto, este carácter fue evaluado midiendo la longitud de los tricomas de las aréolas del tubo receptacular, a través de un análisis de varianza ($P < 0.05$) y un análisis de comparación de medias ($P < 0.05$). Este análisis establece los siguientes estados de carácter.

(0) Tricomas cortos: ≤ 1.5 mm; (1) tricomas largos: > 1.5 mm.

25. Consistencia de las espinas en las aréolas del tubo receptacular de la flor. En Cactaceae, las espinas de las aréolas del tubo receptacular de la flor pueden ser rígidas o flexibles (setosas). La dureza y flexibilidad de las espinas están relacionadas con el grado de esclerificación de la espina (Mosco, 2009). En *Echinocereus*, se observa que independientemente de la consistencia de las espinas del tallo, algunas especies presentan una consistencia diferente en las aréolas del tubo receptacular de la flor. Por ejemplo *E. parkeri* presenta espinas rígidas en el tallo, pero espinas flexibles (setosas) en las aréolas de tubo receptacular.

(0) Espinas de consistencia rígida en las aréolas de la flor, (1) espinas de consistencia setosas en las aréolas de la flor.

26. Forma del fruto. En Cactaceae los frutos son globosos o piriformes de dimensión variable (Bravo-Hollis, 1978). En un plano, esta forma puede representarse de acuerdo a su relación de largo y ancho (Simpson, 2006). En *Echinocereus* se reconocen dos estados de carácter para la forma plana del fruto.

(0) Forma circular del fruto, 1:1- 6:5; (1) forma elíptica del fruto, 2:1 - 3:2.

27. Consistencia de la pulpa del fruto. Los frutos en Cactaceae son frutos accesorios, no obstante, son tratados como bayas (Buxbaum, 1955). En *Echinocereus*, la mayoría de las especies muestra frutos tipo baya, en donde los funículos son jugosos, mientras que otras especies presentan frutos semi-secos o secos en los que los funículos no son jugosos.

(0) Fruto con pulpa jugosa, (1) fruto con pulpa seca.

28. Nivel de ploidía. Los reportes de especies poliploides en Cactaceae han sido constantes (p. ej. Pinkava *et al.*, 1973; Cota y Philbrick, 1994). Cota y Wallace (1995) argumentan que en *Echinocereus* los caracteres citológicos, como el número de cromosomas, proveen información adicional para caracterizar especies. Se reconocen dos estados de carácter.

(0) Complemento cromosómico diploide, (1) complemento cromosómico tetraploide.

29. Capas celulares en la hipodermis. Por lo general en la subfamilia Cactoideae existe una hipodermis por debajo de la epidermis (Terrazas y Arias, 2002). La hipodermis está compuesta por colénquima, su grosor y cantidad de estratos celulares varía entre las especies (Loza-Cornejo y Terrazas, 2003). En *Echinocereus* y géneros hermanos se reconocen cuatro estados de carácter.

(0) Hipodermis con 1-2 capas, (1) hipodermis con 3-5 capas, (2) hipodermis con >6 capas, (3) hipodermis ausente.

30. Cuerpos de sílice en la epidermis del tallo. Las inclusiones celulares como cuerpos de sílice, representan caracteres taxonómicos importantes a diferentes niveles taxonómicos (Prychid *et al.*, 2003). En Cactaceae, Loza-Cornejo y Terrazas (2003) muestran la presencia de cuerpos de sílice en la epidermis e hipodermis de *Echinocereus pensilis* y *Stenocereus*.

(0) Epidermis sin cuerpos de sílice, (1) epidermis con cuerpos de sílice.

31. Xilema secundario. Terrazas y Arias (2002), sugieren que en Cactoideae el xilema secundario o madera se puede dividir en dos grandes grupos: madera fibrosa y madera no fibrosa. El primer tipo de madera presenta porosidad difusa con vasos solitarios o arreglados en pequeños grupos, fibras, parénquima paratraqueal escaso y radios por lo general esclerificados. El segundo tipo de madera presenta vasos, una matriz de traqueidas de banda ancha, parénquima paratraqueal escaso y radios no lignificados. Loza-Cornejo y Terrazas (1996) muestran que en algunas especies de *Echinocereus* existe madera fibrosa en donde los radios desaparecen.

(0) Xilema secundario fibroso con radios, (1) xilema secundario fibroso sin radios, (2) xilema no fibroso.

32. Tipo de haces corticales del tallo. El tejido vascular puede encontrarse fuera del cilindro vascular, ya sea en haces corticales o haces medulares. En Cactaceae encontramos haces corticales sólo en la subfamilia Cactoideae. Los haces corticales son colaterales, formados por floema y xilema primario y/o floema y xilema secundario (Terrazas y Mauseth, 2002). Se ha reportado que algunas especies presentan haces corticales con fibras floemáticas (Terrazas y Loza-Cornejo, 2002) o haces corticales con fibras xilemáticas, aunque estas últimas son raras (Mauseth y Sajeve, 1992). Se reconocen dos estados de carácter para este análisis.

(0) Haces corticales sin fibras floemáticas, (1) haces corticales con fibras floemáticas.

33. Taninos en la epidermis de los funículos de los óvulos. Buxbaum (1962) reporta la presencia de pigmentos en las células de epidermis del funículo en *Myrtillocactus*, a las cuales llamó células perla (“Perlzellen”). Gibson y Horak (1978) identifican estas células pigmentadas en *Polaskia* y *Stenocereus*, entre otros géneros. Fuentes (2004) realiza un estudio anatómico de las flores de especies de columnares mexicanas y corrobora la presencia de taninos en la epidermis del funículo en algunos géneros (p.ej. *Myrtillocactus*, *Stenocereus*, *Polaskia*). La autora detecta que otros géneros como *Lophocereus* o *Pachycereus* carecen de estos taninos en la epidermis del funículo del óvulo.

(0) Epidermis de los funículos sin taninos, (1) epidermis de los funículos con taninos.

34. Taninos en la epidermis del cuerpo del óvulo. Independientemente de la presencia de taninos en los funículos del óvulo, algunos géneros presentan células con taninos en el resto del óvulo. En *Stenocereus* se observan taninos en la epidermis del funículo y en el cuerpo del óvulo, mientras que en la mayoría de los *Echinocereus* sólo se observan taninos en la epidermis del cuerpo del óvulo, no en los funículos.

(0) Epidermis del óvulo sin taninos, (1) epidermis del óvulo con taninos.

35. Taninos en la epidermis de los filamentos de los estambres. Además de los “células pigmentadas” (taninos) en la epidermis del óvulo, Gibson y Horak (1978) mencionan que estos taninos también se encuentran en los filamentos de los estambres. Este carácter es corroborado por Fuentes (2004) para algunos géneros columnares.

(0) Epidermis de los filamentos de los estambres sin taninos, (1) epidermis de los filamentos de los estambres con taninos.

36. Taninos en la epidermis de la antera. Gibson y Horak (1978) y Fuentes (2004) reportan que algunas especies pueden presentar taninos en la epidermis de los filamentos, así

como en la pared de la antera. En *Echinocereus* se observan taninos en la epidermis de los filamentos de los estambres, pero no en la epidermis de la pared de la antera.

(0) Epidermis de la pared de la antera sin taninos, (1) epidermis de la pared de la antera con taninos.

37. Taninos en la epidermis de los tépalos. También, los tépalos pueden presentar taninos en las células epidérmicas (Gibson y Horak, 1978; Fuentes, 2004). En *Echinocereus* sólo algunas especies presentan este carácter. Taylor (1993) propone que el grupo *Costati* de *Echinocereus* puede reconocerse por la presencia de “pigmentos” (taninos) en los tépalos.

(0) Epidermis de los tépalos sin taninos, (1) epidermis de los tépalos con taninos.

38. Longitud de los cotiledones del embrión. Buxbaum (1955) menciona que en Cactoideae existe una tendencia en el embrión a reducir el tamaño de los cotiledones y trasladar las sustancias de reserva al hipocótilo. Blum *et al.* (1998) sugieren que en *Echinocereus* podemos encontrar semillas con cotiledones largos y semillas con cotiledones cortos. La extracción de los embriones de las semillas permitió reconocer tres estados.

(0) Embrión con cotiledones muy largos: > 1 mm), (1) embrión con cotiledones largos: > 0.5 mm, (2) embrión con cotiledones cortos: <0.5 mm.

39. Longitud de la semilla. Este carácter se refiere a la distancia que existe desde la zona apical de la semilla a la región hilo-micropilar. Para este carácter no se contó con suficientes semillas para realizar un análisis estadístico y establecer los estados de carácter. Por lo tanto, se utilizan los estados de carácter propuestos por Barthlott y Hunt (2000) en su estudio de la diversidad de semillas en Cactoideae.

(0) Muy larga: 3.0-3.9 mm, (1) larga: 2.0-2.9 mm, (2) media: 1.2-1.9 mm; (3) corta 0.9-1.1 mm.

40. Forma de la pared periclinal de las células de la testa en la región lateral. Al igual que en la epidermis del tallo, la pared periclinal de las células de la testa de la semilla presentan distintos niveles de convexidad. Los estados de carácter asociados a la pared periclinal de las células son descritos por Koch (2009). Aquí se reconocen cuatro estados para el grupo de taxones estudiado.

(0) Pared periclinal plana, (1) Pared periclinal convexa, (2) Pared periclinal hemisférica, (3) Pared periclinal cupular.

41. Ornamentación de la región lateral de la testa. Las paredes anticlinales de las células de la región lateral de la semilla pueden presentar diversos grados de individualidad. En las especies estudiadas se encuentran semillas en donde las paredes anticlinales de cada célula no se distinguen dando una escultura lisa; en otras semillas las paredes anticlinales son muy distintivas, permite observar la individualidad de cada célula, mostrando una escultura verrucosa; en otras semillas las paredes anticlinales no se distingue completamente y las células de la región lateral parecen estar unidas, dando una apariencia de cadenas de células típico de una escultura rugosa.

(0) Lisa, (1) Verrucosa, (2) Rugosa.

Apéndice 2. Lista de los números de acceso de las secuencias de cloroplasto de GenBank incluidas en el análisis.

Las especies se encuentran ordenadas alfabéticamente y las accesiones corresponden al siguiente orden: *rbcL*, *psbA-trnH*, *rpl16*, *trnL-F*, *trnQ-rps16*, *trnK/matK*.

Cephalocereus totolapensis (Bravo & T. MacDoug.) Buxb.: KF783855, KF783479, KF783557, KF783627, KF783698, — / KF783777. *Echinocereus acifer* (Otto ex Salm-Dyck) Jacobi: KF783404, KF783480, KF783559, KF783629, KF783700, — / KF783779. *Echinocereus adustus* Engelm.: KF783450, KF783481, KF783604, KF783674, KF783746, FN997021/ KF783825. *Echinocereus arizonicus* Rose ex Orcutt: KF783405, KF783482, KF783560, KF783630, KF783701, — / KF783780. *Echinocereus barthelowanus* Britton & Rose: KF783473, KF783532, KF783621, KF783691, KF783770, FN997309/ FN997309. *Echinocereus berlandieri* (Engelm.) Haage: KF783406, KF783483, KF783561, KF783631, KF783702, FN997365/ FN997365. *Echinocereus bonkeriae* Thornber & Bonker: KF783407, KF783484, KF783567, KF783632, KF783703, — / KF783782. *Echinocereus brandegeei* (J. M. Coult.) K. Schum.: KF783408, KF783485, KF783562, KF783633, KF783704, FN997311/ FN997311. *Echinocereus bristolii* W. T. Marshall: KF783409, KF783486, KF783563, KF783634, KF783705, FN997228/ KF783784. *Echinocereus chisosensis* W. T. Marshall: KF783475, KF783534, KF783623, KF783693, KF783772, — / KF783848. *Echinocereus chloranthus* (Engelm.) Hort. F.A. Haage: —, —, —, —, —, HQ620870/ HQ620870. *Echinocereus cinerascens* (D. C.) Lem.: KF783411, KF783488, KF783565, KF783636, KF783707, FN997038/ KF783786. *Echinocereus coccineus* Engelm.: KF783412, KF783489, KF783566, KF783637, KF783708, — / KF783787. *Echinocereus dasyacanthus* Engelm.:

KF783413, KF783490, KF783568, KF783638, KF783709, FN997564/ KF783788.
Echinocereus engelmannii (Parry ex Engelm.) Lem.: KF783414, KF783491, KF783570,
 KF783639, KF783710, FN997528/ KF783789. *Echinocereus enneacanthus* Engelm.:
 KF783415, KF783492, KF783573, KF783640, KF783711, FN997508/ FN997508.
Echinocereus fasciculatus (Engelm. ex S. Watson) L. D. Benson: KF783416, KF783493,
 KF783571, KF783641, KF783712, FN997220/ FN997220. *Echinocereus fendleri* (Engelm.)
 Rümpler: KF783417, KF783494, KF783572, KF783642, KF783713, FN997566/ FN997566
Echinocereus ferreirianus H. E. Gates, KF783418, KF783495, KF783574, KF783643,
 KF783714, FN997372/ KF783793. *Echinocereus grandis* Britton & Rose: KF783420,
 KF783497, KF783576, KF783645, KF783716, FN997344/ KF783795. *Echinocereus*
knippelianus Liebner: KF783421, KF783498, KF783577, KF783646, KF783717, FN997181/
 KF783796. *Echinocereus koehresianus* (G. Frank) W. Rischer: KF783422, KF783499,
 KF783578, KF783647, KF783718, FN997010/ KF783797. *Echinocereus laui* G. Frank:
 KF783451, KF783500, KF783605, KF783675, KF783747, FN997186/ KF783826.
Echinocereus leucanthus N. P. Taylor: KF783452, KF783501, DQ100001, DQ099932,
 KF783748, FN997230/ KF783827. *Echinocereus longisetus* (Engelm.) Lem.: KF783423,
 KF783502, KF783579, KF783648, KF783719, FN997515/ FN997515. *Echinocereus*
mapimiensis Anderson: KF783858, KF783535, KF783624, KF783694, KF783773, FN997198/
 FN997198. *Echinocereus maritimus* (M. E. Jones) K. Schum.: KF783424, KF783503,
 KF783580, KF783649, KF783720, FN997333/ KF783799. *Echinocereus metornii* G. Frank:
 KF783476, KF783536, KF783626, KF783696, KF783775, — / KF783851. *Echinocereus*
nicholii (L. D. Benson) B. D. Parfitt: KF783425, KF783504, KF783581, KF783650,
 KF783721, FN997031/ KF783800. *Echinocereus nivosus* Glass & R. A. Foster: KF783457,

KF783537, KF783608, KF783678, KF783752, FN997045/ FN997045. *Echinocereus palmeri*
Britton & Rose: KF783426, KF783505, KF783582, KF783651, KF783722, FN997301/
 FN997301. *Echinocereus pamanesiorum* **A. B. Lau:** KF783427, KF783506, KF783583,
 KF783652, KF783723, FN997199/ FN997199. *Echinocereus papillosus* **A. Linke ex**
Ruempler, —, —, —, —, —, FN997200/ FN997200. *Echinocereus parkeri* **N. P. Taylor:**
 KF783428, KF783507, KF783584, KF783653, KF783724, FN997144/ FN997144.
Echinocereus pectinatus (**Scheidw.**) **Engelm.:** KF783429, KF783508, KF783569, KF783654,
 KF783725, HM041682/ HM041682. *Echinocereus pentalophus* (**DC**) **Lem.:** KF783403,
 KF783509, KF783558, KF783628, KF783699, FN997260/ KF783778. *Echinocereus*
polyacanthus **Engelm.:** F783430, KF783510, KF783585, KF783655, KF783726, FN997219/
 FN997219. *Echinocereus poselgeri* **Lem.:** KF783453, KF783539, KF783606, KF783676,
 KF783749, FN997511/ KF783828. *Echinocereus primolanatus* **Fritz Shwarz ex N. P. Taylor:**
 KF783431, KF783511, KF783586, KF783656, KF783727, — / KF783806. *Echinocereus*
pseudopectinatus (**N.P.Taylor**) **N. P. Taylor:** KF783432, KF783512, KF783587, KF783657,
 KF783728, — / KF783807. *Echinocereus pulchellus* (**Mart.**) **C. F. Först ex F. Seitz:**
 KF783433, KF783513, KF783588, KF783658, KF783729, FN997023/ KF783808.
Echinocereus rayonesensis **N. P. Taylor:** KF783435, KF783515, KF783590, KF783660,
 KF783731, FN997242/ FN997242. *Echinocereus reichenbachii* (**Terscheck ex Walp.**) **Haage:**
 KF783436, KF783516, KF783591, KF783661, KF783732, FN997395/ FN997395.
Echinocereus rigidissimus (**Engelm.**) **Haage:** KF783437, KF783517, KF783592, KF783662,
 KF783733, FN997400/ KF783812. *Echinocereus russanthus* **Weniger:** —, —, —, —, —,
 FN997001/ FN997001. *Echinocereus santaritensis* **W. Blum & Rutow:** KF783438,
 KF783518, KF783593, KF783663, KF783734, — / KF783813. *Echinocereus scheeri* (**Salm-**

Dyck) Scheer: KF783439, KF783519, KF783594, KF783664, KF783735, FN997029/
 FN997029. *Echinocereus schereri* **G. Frank:** KF783440, KF783520, KF783595, KF783665,
 KF783736, — / KF783815. *Echinocereus schmollii* (**Weing.**) **N. P. Taylor:** KF783456,
 KF783521, DQ100005, DQ099936, KF783751, FN997435/ FN997435. *Echinocereus sciurus*
(K. Brandegee) Dams: KF783410, KF783487, KF783564, KF783635, KF783706, FN997413/
 KF783785. *Echinocereus scopulorum* **Britton & Rose:** KF783441, KF783522, KF783596,
 KF783666, KF783737, FN997194/ FN997194. *Echinocereus spinigemmatus* **A. B. Lau:**
 KF783442, KF783523, KF783597, KF783667, KF783738, FN997394/ FN997394.
Echinocereus stoloniferus **W. T. Marshall:** KF783443, KF783524, KF783598, KF783668,
 KF783739, — / KF783818. *Echinocereus stramineus* (**Engelm.**) **Engelm. ex F. Seitz:**
 KF783444, KF783525, KF783599, KF783669, KF783740, FN997145/ FN997145.
Echinocereus subinermis (**Salm-Dyck) Scheer:** KF783445, KF783526, KF783600, KF783670,
 KF783741, FN997022/ FN997022. *Echinocereus triglochidiatus* **Engelm.:** KF783446,
 KF783527, DQ100006, DQ099937, KF783742, FN997312/ FN997312. *Echinocereus viereckii*
Werderm.: KF783447, KF783528, KF783601, KF783671, KF783743, KF783822/ KF783822.
Echinocereus viridiflorus **Engelm.:** KF783448, KF783529, KF783602, KF783672, KF783744,
 — / KF783823. *Echinocereus waldeisii* **Haugg:** KF783455, KF783530, KF783607, KF783677,
 KF783750, — / KF783830. *Echinocerues websterianus* **G. E. Linds:** KF783449, KF783531,
 KF783603, KF783673, KF783745, FN997425/ KF783824. *Escontria chiotilla* (**Weber ex K.**
Schum.) Rose: KF783459, KF783542, KF783610, KF783680, KF783754, AY015308/
 AY015308. *Morangaya pensilis* (**K. Brandegee) G. D. Rowley:** KF783458, KF783538,
 KF783609, KF783679, KF783753, FN997053/ KF783832. *Myrtillocactus geometrizans* (**Mart.**
ex Pfeiff.) Console: KF783461, KF783546, KF783612, KF783682, KF783756, FN997236/

KF783836. *Pachycereus pringlei* (S. Watson) Britton & Rose: KF783463, KF783549, AY181589, AY181642, KF783759, FN997217/ FN997217. *Polaskia chichipe* (Gosselin) **Backeb.:** KF783465, KF783551, KF783614, KF783684, KF783761, FN997401/ KF783840. *Stenocereus alamosensis* (J. M. Coult.) A. C. Gibson & K. E. Horak: KF783466, KF783552, KF783615, KF783685, KF783762, FN997117/ KF783841. *Stenocereus eruca* (Brandege) A. C. Gibson & K. E. Horak: KF783467, KF783556, KF783616, KF783686, KF783763, HM041777/ KF783842. *Stenocereus montanus* (Britton & Rose) Buxb., KF783468, KF783553, KF783617, KF783687, KF783764, FN997471/ KF783852. *Stenocereus stellatus* (Pfeiff.) **Riccob.:** KF783470, KF783555, AY181590, AY181640, KF783766, FN997498/ FN997498.

	1-10				11-20				21-30				31-41																												
<i>E. polyacanthus</i>	0	2	0	1	0	2	0	1	0	0	0	1	1	2	3	0	1	1	0	1	4	0	1	0	0	0	0	1	1	0	2	0	0	1	1	0	0	1	2	1	1
<i>E. poselgeri</i>	0	0	0	0	0	1	2	0	2	0	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	3	1	0	0	0	1	0	0	3	0	1	0	0	1	1	0	0	2	3	1	2
<i>E. primolanatus</i>	0	2	0	1	1	4	0	3	0	0	1	1	1	0	0	0	0	2	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	1	0	0	2	2	?	?	
<i>E. pseudopectinatus</i>	0	2	0	1	1	3	0	1	0	0	2	1	1	0	0	0	0	1	1	0	3	1	0	1	0	0	0	0	1	0	2	0	0	1	1	0	0	2	2	?	?
<i>E. pulchellus</i>	0	4	1	1	1	2	1	0	0	0	1	1	0	0	0,2	0	2	1	0	3	2	0	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	1	1	0	0	2	2	2	1	
<i>E. rayonesensis</i>	0	3	2	1	0	2	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	3	2	0	1	1	0	0	0	0	2	0	0	1	1	0	1	1	2	1	1	
<i>E. reichenbachii</i>	0	2	0	1	1	2,3	0	3	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	1	1	0	0	2	2	2	1
<i>E. rigidissimus</i>	0	2	0	1	1	3	0	3	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	1	1	0	0	2	2	2	1
<i>E. rusanthus</i>	0	2	0	1	0	1	0	2	0	0	0	1	1	0	0	2	0	2	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	2	0	0	1	1	0	0	2	3	1	1
<i>E. santaritensis</i>	0	2	0	1	0	2	0	1	0	0	0	1	1	2	3	0	1	1	0	1	4	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	0	0	1	1	0	0	1	2	?	?
<i>E. scheeri</i>	0	3	2	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	2	2	1	1	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	1	1	0	0	1	2	1	1
<i>E. schereri</i>	0	2	0	1	1	1	0	3	0	0	1	1	1	0	0	0	0	2	1	0	3	2	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	1	1	0	0	2	2	2	1	
<i>E. schmollii</i>	0	3	0	0	0	1	1	1	0	2	0	1	1	0	1	2	0	2	1	0	3	2	0	0	2	0	1	0	0	2	0	0	1	1	0	0	2	2	2	1	
<i>E. sciurus</i>	0	2	0	1	1	3	1	1	0	0	2	1	1	0	0	0	0	1	1	0	3	2	0	1	0	0	0	0	1	0	2	0	0	1	1	0	0	2	2	2	1
<i>E. scopulorum</i>	0	2	0	1	1	3	0	2	0	0	2	1	1	0	0	0	0	1	1	0	3	1	0	1	0	0	0	0	1	0	2	0	0	1	1	0	0	2	2	?	?
<i>E. spinigemmatu</i>	0	2	2	1	0	2	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	3	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	1	0	0	2	2	2	1	
<i>E. stoloniferus</i>	0	2	2	1	0	2	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	1	0	0	2	2	2	1	
<i>E. stramineus</i>	0	2	0	1	0	2	0	1	0,2	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	3	2	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	1	1	0	1	1	2	1	1	
<i>E. subinermis</i>	0	4	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	1	0	0	2	2	2	1	
<i>E. triglochidiatus</i>	0	2	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	2	0	1	1	0	1	4	0	0	1	0	0	0	0	1	0	2	0	0	1	1	0	0	1	2	1	1
<i>E. viereckii</i>	0	3	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	3	2	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	1	1	0	1	1	2	1	1	
<i>E. viridiflorus</i>	0	2	0	1	1	2,3	0	0	0	0	1	1	0	1	2	0	2	1	0	1,5	0	0	1	0	0	0	0	1	0	2	0	0	1	1	0	0	2	3	1	1	
<i>E. waldeisii</i>	0	0	0	0	0	1	2	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	3	0	1	0	0	1	1	0	0	2	2	1	2
<i>E. websterianus</i>	0	2	0	1	0	3	0	2	0	0	2	1	1	0	0	0	0	1	1	0	3	1	0	1	0	0	0	0	?	0	2	0	0	1	1	0	0	2	2	2	1
<i>Escontria chiotilla</i>	1	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	2	1	2
<i>Morangaya pensilis</i>	0	3	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	2	1	1	0	0	0	4	2	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	2	1	2
<i>Myrtillocactus geometrizans</i>	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	2	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	1	1	1	1	1	?	1	1	2
<i>Pachycereus pringlei</i>	1	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>Polaskia chichipe</i>	1	0	0	2	0	1,2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	1	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	2	1	2
<i>Stenocereus eruca</i>	0	1	0	2	0	2	0	1	2	0	0	0	0	2	3	1	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	?	1	0	0	1	1	1	1	?	1	1	1	2
<i>S. alamosensis</i>	0	1	0	1	0	1	0	1	2	0	0	0	0	2	3	1	1	0	0	1	4	2	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	?	1	1	0	0
<i>S. montanus</i>	1	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	?	1	0	0	1	1	1	1	?	1	1	1	1
<i>S. stellatus</i>	1	0	0	2	0	1,2	0	1	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	2	1	0	0	1	1	1	1	1	1	2	1	2

Apéndice 4. Matriz de indels de las secuencias de DNA de cloroplasto.

	1-7	8-14	15-21	22-28	29-35
<i>Cephalocereus totolapensis</i>	0 0 0 1 1 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 1 0 0 0	0 0 0 0 0 1 0	0 0 1 0 0 ? ?
<i>E. acifer</i>	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 ? ?
<i>E. adustus</i>	1 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0
<i>E. arizonicus</i>	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 ? ?
<i>E. barthelowanus</i>	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0
<i>E. berlandieri</i>	0 0 0 0 0 1 0	0 0 0 0 0 0 0	0 1 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 1 0 0 0 0 0
<i>E. bonkerae</i>	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 1 0 1	0 0 0 0 1 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 ? ?
<i>E. brandegeei</i>	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0
<i>E. bristolii</i>	1 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 1 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 1
<i>E. chisosensis</i>	1 0 0 0 0 0 1	0 0 0 0 0 1 0	0 0 1 0 0 0 0	0 0 1 0 0 0 0	0 0 0 0 0 ? ?
<i>E. chloranthus</i>	? ? ? ? ? ? ?	? ? ? ? ? ? ?	? ? ? ? ? ? ?	? ? ? ? ? ? ?	? ? ? ? ? ? ?
<i>E. cinerascens</i>	0 0 0 0 0 0 0	1 0 0 0 0 0 0	1 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 1 1 0 0 0 0
<i>E. coccineus</i>	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 ? ?
<i>E. dasyacanthus</i>	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	1 1 0 0 0 1 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0
<i>E. engelmannii</i>	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 1 0 1	0 0 0 0 1 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 1
<i>E. enneacanthus</i>	0 0 0 0 0 1 0	0 0 0 0 0 0 0	0 1 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 1 0 0 0 0 0
<i>E. fasciculatus</i>	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 1 0 1	0 0 0 0 1 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 1
<i>E. fendleri</i>	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 1 0 1	0 0 0 0 1 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 1
<i>E. ferreirianus</i>	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 1 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 1 0 0 0 0 0
<i>E. grandis</i>	1 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 1 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 1 0 0 0 0 0
<i>E. knippelianus</i>	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 1 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 1 0 0 0	0 0 0 0 1 0 0
<i>E. koehresianus</i>	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0
<i>E. laui</i>	0 0 0 0 0 0 0	0 0 1 1 0 0 0	0 0 0 0 0 1 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0
<i>E. leucanthus</i>	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	1 0 0 0 0 1 0	0 0 0 0 0 0 0
<i>E. longisetus</i>	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0
<i>E. mapimiensis</i>	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0
<i>E. maritimus</i>	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 1 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0
<i>E. metornii</i>	1 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 1	0 0 0 0 0 0 0	0 1 0 0 0 0 0	0 1 0 0 0 0 ? ?
<i>E. nicholii</i>	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0
<i>E. niveus</i>	0 0 0 0 0 0 0	0 1 0 0 0 0 0	0 1 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 1 0 0 0 0
<i>E. palmeri</i>	1 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 1 0	0 0 0 0 0 0 0	1 0 0 0 0 0 0	0 1 0 0 0 0 0
<i>E. pamanesiorum</i>	0 1 1 0 0 0 0	1 0 0 0 0 1 0	0 0 0 0 0 1 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 1 0 0 0 0
<i>E. papillosus</i>	? ? ? ? ? ? ?	? ? ? ? ? ? ?	? ? ? ? ? ? ?	? ? ? ? ? ? ?	? ? ? ? ? ? ?
<i>E. parkeri</i>	0 0 0 0 0 0 0	0 1 0 0 0 0 0	0 1 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 1 0 0 0 0 0

Apéndice 5. Resumen nomenclatural de *Echinocereus* y su clasificación infragenérica.

Echinocereus Engelm., Wislitz. Tour North Mexico: 91 (1848). *Cereus* subgén. *Echinocereus* Engelm., Proc. Amer. Acad. Arts 3: 278 (1856). Lectotipo (designado por Britton & Brown 1913): *Echinocereus viridiflorus* Engelm.

Blum *et al.* (1998) sugieren que *Echinocereus* se divide en tres subgéneros (Cuadro 1) que no reflejan las relaciones filogenéticas del género. La propuesta seccional de Hunt *et al.* (2006) tampoco representa una clasificación natural, por lo tanto, con base en nuestra filogenia proponemos la siguiente clasificación seccional para el género *Echinocereus*.

Echinocereus sección ***Subinermes*** (K. Schum.) Mich. Lange, *Echinocereenfreund* 8: 16 (1995).

Echinocereus ser. *Subinermes* K. Schum., *Gesamtbeschr. Kakt.*: 246 (1899). Especie tipo: *Echinocereus subinermis* Salm-Dyck ex Scheer.

Incluye: *Echinocereus barthelowanus* Britton & Rose, *Echinocereus brandegeei* (J. M. Coulter) K. Schum., *Echinocereus ferreirianus* H. E. Gates, *Echinocereus knippelianus* Liebner, *Echinocereus laui* G. Frank, *Echinocereus maritimus* (M. E. Jones) K. Schum., *Echinocereus pentalophus* (DC.) Lem., *Echinocereus rigidissimus* (Engelm.) Haage, *Echinocereus stoloniferus* W. T. Marshall, *Echinocereus subinermis* Salm-Dyck ex Scheer.

Echinocereus sección ***Wilcoxia*** (Britton & Rose) N. P. Taylor, *Gen. Echinocereus*: 134 (1985).

Wilcoxia Britton & Rose, *Contr. U.S. Natl. Herb.* 12: 434 (1909). Especie tipo: *Echinocereus poselgeri* Lem.

Incluye: *Echinocereus leucanthus* N. P. Taylor, *Echinocereus poselgeri* Lem., *Echinocereus waldeisii* Haugg.

Echinocereus sección ***Costati*** (Engelm.) N. P. Taylor, *Piante Grasse* 13 (4, Suppl.): 94. 1994. [1993 publ. 1994]. *Cereus* sección *Costati* Engelm., *Mem. Amer. Acad. Arts.* ser. 2, 4: 50 (1849). Especie tipo: *Echinocereus enneacanthus* Engelm.

Incluye: *Echinocereus berlandieri* (Engelm.) Haage, *Echinocereus cinerascens* (DC.) Lem., *Echinocereus enneacanthus* Engelm., *Echinocereus longisetus* (Engelm.) Lem., *Echinocereus mapimiensis* Anderson, *Echinocereus nivosus* Glass & R. A. Foster, *Echinocereus parkeri* N. P. Taylor, *Echinocereus rayonesensis* N. P. Taylor, *Echinocereus schmollii* (Weing.) N. P. Taylor, *Echinocereus stramineus* (Engelm.) Engelm. ex F. Seitz, *Echinocereus viereckii* Werderm.

Echinocereus sección ***Sciuri*** Sánchez & Arias. **sect. nov., inéd.** Plants with cylindrical stems, **solitary stems** (rarely branched) with 5 to 15 ribs, areoles with 3 to 6 acicular central spines, funnel-shaped receptacle tube, flower 4 to 8.5 cm long, nectar chamber 3 to 8 mm long, **lateral and short nectarial tissue**, floral areole trichomes >1.5 mm long, juicy fruit pulp, seed with convex periclinal cell wall, embryo with short cotyledons. **Four sites simple sequence repeat in *psbA-trnH* cpDNA marker.** It differs from *Echinocereus* seccion *Reichenbachii* which has dry fruit pulp, seed with hemispherical periclinal cell wall and 54 sites gap in *trnL-F* cpDNA marker. Especie tipo: *Echinocereus sciurus* (K. Brandege) Dams, *Monatsschr. Kakteenk.* 14: 130 (1904).

Incluye: *Echinocereus adustus* Engelm., *Echinocereus bristolii* W. T. Marshall*, *Echinocereus chisosensis* W. T. Marshall, *Echinocereus grandis* Britton & Rose*, *Echinocereus metornii* G. Frank, *Echinocereus palmeri* Britton & Rose, *Echinocereus primolanatus* Fritz Shwarz ex N. P. Taylor, *Echinocereus pseudopectinatus* (N. P. Taylor) N. P. Taylor*, *Echinocereus sciurus* (K. Brandegees) Dams*, *Echinocereus scopulorum* Britton & Rose*, *Echinocereus websterianus* G. E. Linds*. * = Incluidas en el grupo informal *Sciurus* según Blum *et al.* (1998).

Echinocereus sección ***Reichenbachii*** N. P. Taylor, Gen. *Echinocereus*: 105 (1985). Especie tipo:

Echinocereus reichenbachii (Terscheck ex Walp.) Haage.

Echinocereus sección ***Pulchellus*** N. P. Taylor, Gen. *Echinocereus*: 140 (1985).

Incluye: *Echinocereus pamanesiorum* A. B. Lau, *Echinocereus pulchellus* (Mart.) C. F. Först ex F. Seitz, *Echinocereus reichenbachii* (Terscheck ex Walp.) Haage, *Echinocereus schererii* G. Frank, *Echinocereus spinigemmatum* A. B. Lau.

Echinocereus sección ***Echinocereus***. Engelm. *Cereus* sección ***Sulcati*** Engelm., Mem. Amer. Acad. Arts. ser. 2, 4: 50 (1849). Especie tipo: *Echinocereus viridiflorus* Engelm.

Incluye: *Echinocereus chloranthus* (Engelm.) Haage, *Echinocereus rusanthus* Weniger, *Echinocereus viridiflorus* Engelm.

Echinocereus sección ***Erecti*** (K.Schum.) Bravo, Cact. Suc. Mex. 27: 16 (1982). *Echinocereus* serie ***Erecti*** K.Schum., Gesamt. Kakt. 247 (1987). *Cereus* subsección ***Erecti*** (K.Schum.)

Berger, Rep. (Annual) Missouri. Bot. Gard. 16: 80 (1905). Especie tipo: *Echinocereus engelmannii* (Parry ex Engelm.) Lem.

Incluye: *Echinocereus bonkeriae* Thornber & Bonker, *Echinocereus dasyacanthus* Engelm., *Echinocereus engelmannii* (Parry ex Engelm.) Lem., *Echinocereus fasciculatus* (Engelm. ex S. Watson) L. D. Benson, *Echinocereus fendleri* (Engelm.) Rümpler, *Echinocereus nicholii* (L. D. Benson) B. D. Parfitt*, *Echinocereus papillosus* A. Linke ex Rümpler, *Echinocereus pectinatus* (Scheidw.) Engelm. * Provisionalmente en esta sección (ver discusión).

Echinocereus sección ***Triglochidiati*** Bravo, Cact. Suc. Mex. 28: 109 (1973). *Echinocereus* subgénero *Triglochidiatus* (Bravo) W. Blum, Mich. Lange & Rutow 1998: 357. Especie tipo: *Echinocereus triglochidiatus* Engelm.

Incluye: *Echinocereus acifer* (Otto ex Salm-Dyck) Jacobi, *Echinocereus arizonicus* Rose ex Orcutt, *Echinocereus coccineus* Engelm., *Echinocereus koehresianus* (G. Frank) W. Rischer, *Echinocereus polyacanthus* Engelm., *Echinocereus santaritensis* W. Blum & Rutow, *Echinocereus scheeri* (Salm-Dyck) Scheer, *Echinocereus triglochidiatus* Engelm., *Echinocereus yavapaiensis* M. A. Baker*.

*Ver discusión.

CAPÍTULO 4

Patrones de distribución de las especies del género *Echinocereus* (Cactaceae) y su contribución a la biogeografía histórica del norte de México

Resumen

Echinocereus es el género más diverso en la tribu Echinocereae con 64 especies. Se distribuye en el norte de América, desde el centro de México al centro de los Estados Unidos, abarcando 18 regiones biogeográficas. Datos del herbario MEXU y las bases de datos de la REMIB y SEINet fueron tomados para establecer la distribución de las especies de *Echinocereus* y géneros relacionados. Se realizó una reconstrucción de áreas ancestrales para la filogenia más reciente de *Echinocereus* y un análisis de biogeografía histórica (BPA) de las provincias del norte de México. El análisis de reconstrucción de áreas ancestrales mostró a la Sierra Madre Occidental como el área ancestral para el género *Echinocereus* y las secciones *Subinermes*, *Sciuri*, *Reichenbachii*. El Desierto Chihuahuense resultó el área ancestral para las secciones *Wilcoxia* y *Costati*. Mientras que un área compuesta por la Sierra Madre Occidental, las Montañas de Gila y el Desierto Chihuahuense resultó el área ancestral de las secciones *Echinocereus*, *Erecti* y *Triglochidiati*. El cladograma general de áreas mostró que las provincias del sur de México forman un grupo monofilético, mientras que las provincias del norte de México y sur de los Estados Unidos formaron un grupo monofilético con tres subclados. Estos patrones de distribución de *Echinocereus* y las secciones que lo componen se relacionan con eventos geológicos importantes, como el levantamiento de la Sierra Madre Occidental, que

provocó la aridificación del norte de América, la separación de la Península de Baja California y la aparición de la Faja Volcánica Transmexicana. También, los ciclos glaciares e interglaciares que ocurrieron durante los últimos 5 millones de años que provocaron la contracción y expansión de la distribución de algunos linajes.

Palabras clave: análisis de Parsimonia de Brooks, Bayesian Binary Method MCMC, corredor boscoso “trans-altiplano”, Desierto Chihuahuense, Montañas de Gila, reconstrucción de áreas ancestrales, refugios del plioceno, revolución del Mioceno, Sierra Madre Occidental.

Abstract

Echinocereus is the most diverse genus in tribe Echinocereae with 64 species. It is geographically distributed in North America from central México to central U. S. A. covering 18 biogeographic provinces. Data from the MEXU herbarium and the REMIB and SEINet data bases were taken to establish the distribution of the *Echinocereus* species and related genera. We performed an ancestral area reconstruction for the most recent phylogeny of *Echinocereus*, and a historical biogeographic analysis (BPA) of the provinces from northern Mexico. The ancestral area reconstruction showed that Western Sierra Madre was the ancestral area for genus *Echinocereus* and sections *Subinermes*, *Sciuri*, and *Reichenbachii*. Chihuahuan Desert resulted the ancestral area for sections *Wilcoxia* and *Costati*. A composed area formed by Western Sierra Madre, Gila Mountains, and Chihuahuan Desert, was the ancestral area for sections *Echinocereus*, *Erecti* y *Triglochidiati*. The area cladogram indicated that southern provinces of Mexico form a monophyletic group; while Northern provinces of Mexico and southern provinces of U. S. A. form a monophyletic group with three subclades. The distribution patterns of *Echinocereus* and their sections are related with the uplift of Western Sierra Madre, which

caused the aridification of North America, the separation of the Baja California Peninsula and the formation of the Trans-Mexican Volcanic Belt. Also, the glacial and interglacial cycles, which occurred during the last 5 my, caused the contraction and expansion on the geographical range of some lineages.

Key words: ancestral area reconstruction, Bayesian Binary Method MCMC, Brooks Parsimony analysis, Chihuahuan Desert, Gila Mountains, Miocene revolution, Pliocene refuges, trans-Altiplano corridor, Western Sierra Madre.

Introducción

La familia Cactaceae es un grupo monofilético (Nyffeler, 2002; Wallace y Gibson, 2002), formado por 1438 especies agrupados en 127 géneros (Hunt *et al.*, 2006). México representa el centro de diversidad más importante de la familia (Hernández y Bárcenas, 1995). Entre los géneros de cactáceas más diversos en México (Hunt *et al.*, 2006) están *Mammillaria* (163 spp.), *Opuntia* (75 spp.), *Echinocereus* (64 spp.) y *Coryphantha* (42 spp.). *Echinocereus* presenta una alta tasa de especiación (Hernández-Hernández *et al.*, 2014), es el género más diverso y tiene la distribución más amplia dentro de la tribu Echinocereae, que agrupa a las cactáceas columnares de América del Norte. *Echinocereus* se distribuye en matorrales xerófilos, bosques de encinos y coníferas (Taylor 1985), principalmente en las provincias biogeográficas del norte de México (sensu Morrone *et al.* 2006) y suroeste de los Estados Unidos (sensu U. S. EPA 2010). Taylor (1985) menciona que el oeste de México es el centro de radiación de *Echinocereus* y considera que la clasificación infragenérica “muestra una relación” con la distribución geográfica de las especies del género. Este autor resalta que la Sierra Madre Occidental ha funcionado como una barrera en el aislamiento de especies y grupos de especies y menciona que la distribución de la

sección *Erecti* representa la contraparte en el oeste, de las secciones *Echinocereus* y *Costati*, que habitan en la región este de México y Estados Unidos. Filogenias recientes del género *Echinocereus* (Sánchez *et al.* 2014; Sánchez, 2015, capítulo 3) corroboran que sólo algunas secciones son monofiléticas (p. ej. *Triglochidiati*); sin embargo, la mayoría de las secciones propuestas por Taylor (1985) son grupos parafiléticos o monofiléticos, por lo que sólo algunos patrones de distribución coinciden con las hipótesis biogeográficas de este autor.

El trabajo biogeográfico en Cactaceae consta de publicaciones que discuten el origen sudamericano y caribeño de varios linajes tempranos de la familia (Buxbaum, 1969; Wallace, 2002). Existen análisis biogeográficos de las cactáceas de Chile (Moreira-Muñoz, 2011) y las cactáceas columnares de América del Norte (Dávila-Aranda *et al.*, 2002). Para México, algunos estudios han contribuido al conocimiento de los patrones de distribución, diversidad, endemismo y conservación de las cactáceas en el Desierto Chihuahuense (Hernández y Bárcenas, 1995; Gómez-Hinostrosa y Hernández, 2000; Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2005, 2011) y la Sierra Madre Oriental (Santa Anna del Conde *et al.*, 2009). Asimismo, existen algunas discusiones biogeográficas breves concernientes a las filogenias moleculares de algunos grupos de Cactaceae (p. ej. *Pereskia*, Butterworth y Wallace, 2005; *Rhipsalis*, Calvente *et al.*, 2011; *Opuntia*, Majure *et al.*, 2012; Cactaceae, Vázquez-Sánchez *et al.*, 2013). Hasta el momento, no existe un análisis de distribución y biogeográfico que muestre los patrones geográficos de las secciones de *Echinocereus* y su relación con los procesos geológicos y ecológicos en México.

En biogeografía histórica, la biogeografía cladística asume una correspondencia entre las relaciones taxonómicas y las relaciones de áreas (Morrone y Crisci, 1995). Dentro de la biogeografía cladística (Morrone, 2005) se han categorizado dos tipos de aproximaciones, con base en patrones y en eventos (Ronquist, 1995). La primera aproximación establece

explicaciones entre los patrones de distribución y los procesos evolutivos acontecidos después (*a posteriori*) de obtener los primeros resultados del análisis (Ronquist y Sanmartín, 2011). La segunda especifica las distribuciones ancestrales y los procesos biogeográficos directamente en la reconstrucción, por lo que no es necesaria una explicación *a posteriori* (Sanmartín, 2006).

Los objetivos de este trabajo fueron: 1) elaborar los mapas de distribución de los diferentes clados recuperados para *Echinocereus*, de acuerdo a la última propuesta filogenética (Sánchez, 2015, capítulo 3); 2) proponer el área (provincia) de distribución ancestral del género y de cada uno de sus clados internos, así como los eventos de dispersión y vicarianza asociados a éstos, a través de un análisis basado en eventos; c) generar una hipótesis sobre la relación de las provincias biogeográficas de América del Norte basada en las relaciones filogenéticas de *Echinocereus* y géneros relacionados, a partir de un análisis basado en patrones como el análisis de Parsimonia de Brooks.

Materiales y métodos

Taxones. El muestreo de taxones está basado en la filogenia para la subtribu Echinocereinae (géneros *Echinocereus*, *Escontria*, *Morangaya*, *Myrtillocactus*, *Polaskia* y *Stenocereus*) del trabajo de Sánchez (2015, capítulo 3; Fig. 1A), así como en la filogenia de la subtribu Pachycereinae (géneros *Bergerocactus*, *Carnegiea*, *Cephalocereus*, *Lophocereus*, *Mitrocereus*, *Neobuxbaumia*, *Pachycereus*, *Peniocereus* y *Pterocereus*) del trabajo de Hernández-Hernández *et al.* (2011, Fig. 1B). Se obtuvieron registros de 60 especies de *Echinocereus* y 29 especies del grupo hermano (Pachycereinae y otros géneros de Echinocereinae), a partir de la revisión de ejemplares de herbarios de MEXU, las bases de datos

de la Red Mundial de Información sobre Biodiversidad (REMIB) (CONABIO, 2012) y la Southwest Environmental Information Network (SEINet, 2013).

Áreas de endemismo. *Echinocereus* presenta una distribución amplia en América del Norte, por lo que se utilizaron las Ecorregiones de Norteamérica Nivel II (U. S. EPA, 2010) con algunas modificaciones, con el fin de homologarlas con las provincias biogeográficas del norte de México reconocidas por Morrone (2006). La figura 2A y el cuadro 1 muestran la ubicación y el nombre de las provincias biogeográficas, acrónimo y código utilizados en este trabajo.

Distribución de *Echinocereus*. Se generaron siete mapas de distribución de *Echinocereus* y sus secciones, y del grupo externo (Sánchez, 2015, capítulo 3; Hernández-Hernández *et al.*, 2011) con la base de datos generada por el primer autor, que consta de 3136 registros. Se trazaron los puntos de distribución sobre la capa modificada de las Ecorregiones de Norteamérica Nivel II (U. S. EPA, 2010), en conjunto con la capa de 30 arc-second Digital Elevation Model of North America (US Geological Survey, 2010) con el programa Quantum Gis 2.01 (<http://qgis.osgeo.org>).

Análisis biogeográficos. Se realizó una reconstrucción de áreas ancestrales con el programa RASP 2.1b (Yu *et al.*, 2015), a través del “Bayesian Binary Method MCMC” (BBM). El BBM realiza un procedimiento estadístico para inferir la distribución geográfica en nodos ancestrales y permite inferir los estados ancestrales mientras pesa cada valor de acuerdo a la probabilidad dados los datos (Ronquist y Huelsenbeck, 2003). El análisis BBM utilizó como archivos de entrada al archivo del árbol de consenso estricto de la filogenia de *Echinocereus* (Fig. 1A) y un archivo separado con la distribución de los taxones. Se corrieron simultáneamente diez cadenas MCMC para cinco millones de generaciones, con una frecuencia de muestreo cada 100 generaciones y descartando 500 árboles, utilizando el modelo JC + G. El número máximo de

áreas agrupadas en la reconstrucción del área ancestral fue igual a seis. El enraizamiento se generó con la distribución del grupo externo.

Se realizó un análisis de Parsimonia de Brooks (BPA; Brooks, 1990) para indagar las relaciones de las regiones biogeográficas. En este caso, las áreas se consideran análogas a los taxones y los componentes como análogos a los caracteres. A partir de las filogenias antes citadas, se generaron los cladogramas de áreas, al sustituir los taxones por sus áreas actuales de distribución (Figs. 1A y 1B).

Los componentes fueron codificados en una matriz binaria (Cuadro 2) asignando un “1” cuando contenían al área ó “0” cuando el área estaba ausente en el componente (Zandee y Ross, 1987; Contreras-Medina *et al.*, 2007). Un área hipotética fue codificada con ceros para enraizar el árbol. El análisis de parsimonia se generó en TNT (Goloboff *et al.*, 2008), realizando una búsqueda heurística con 10,000 puntos de partida, reteniendo 10 árboles por replica, intercambio de ramas por TBR y retención de 10,000 árboles en la memoria.

Cuadro 1. Provincias biogeográficas utilizadas en este trabajo (modificadas de las provincias propuestas por Morrone 2006 y las Ecorregiones de América del Norte Nivel II, U. S. EPA 2010).

Provincias biogeográficas	Acrónimo	Código
Grupo externo	GE	-
California	California	D
Cordillera Occidental	COcc	P
Costa del Golfo de México	GolfoMex	S
Costa Occidental del Pacífico Mexicano	PacOcc	Q
Costa Sur del Pacífico Mexicano	PacSur	G
Depresión del Balsas	DepBal	C
Desierto Chihuahuense	DesChi	E
Desierto de Baja California	DesBCal	M
Desierto de Sonora	DesSon	N
Desiertos fríos	DesFríos	A
Faja Volcánica Transmexicana	FVoITMex	K
El Cabo	Cabo	F
Montañas de Gila	Gila	L
Península de Yucatán	Yucatán	T
Planicie Costera de Texas-Louisiana	PCTexLou	J
Planicie Semiárida de Tamaulipas-Texas	PSTamTex	I
Praderas Semiáridas Centrales del Sur	PradSaCSur	O
Sierra Madre del Sur	SMSur	H
Sierra Madre Occidental	SMOcc	R
Sierra Madre Oriental	SMOr	B

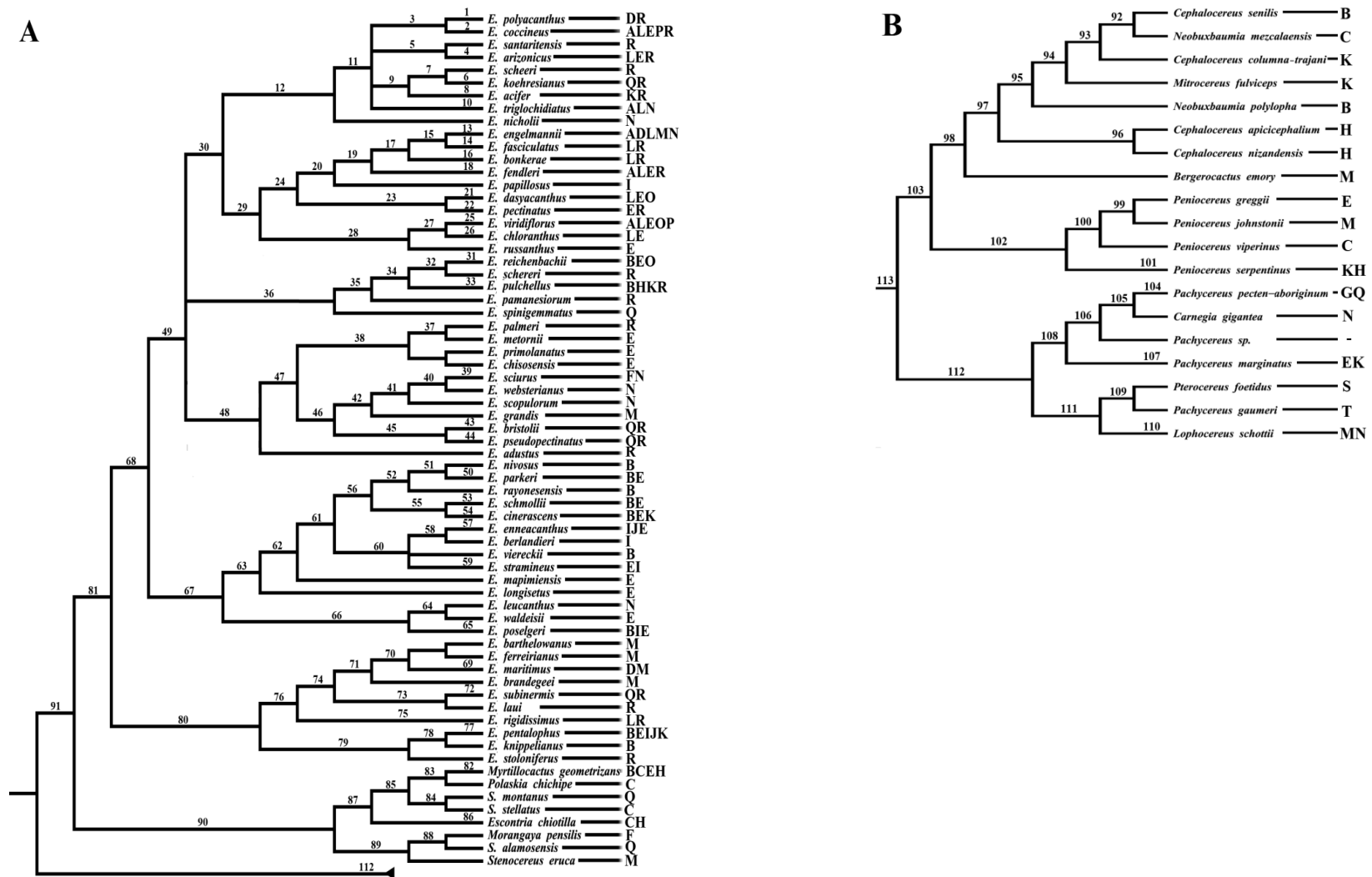


Figura 1. Cladogramas taxonómicos - áreas. A. Relaciones filogenéticas de Echinocereinae (modificado de Sánchez 2015). B. Relaciones filogenéticas de Pachycereinae (modificado de Hernández-Hernández *et al.* 2011). Letras después de los nombres representan sus áreas de distribución actual. Los números sobre las ramas representan los componentes codificados. (ver cuadro 1).

Cuadro 2. Matriz de datos del análisis de Parsimonia de Brooks.

Componentes	1-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	71-80	81-90	91-100	101-110	..
GE	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000
Cabo	000000000	000000000	000000000	000000001	100011110	000000000	000000000	000000000	100000000	100000000	001110100	11
California	101000000	111010101	001000011	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	100101001	100000000	100000000	00
COcc	011000000	110000000	000000001	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	100000000	100000000	00
DepBal	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	011111001	111111010	110010100	11
DesBCal	000000000	001010101	000000001	000000000	010011110	000000000	000000000	000000000	100101001	100000001	100000001	11
DesChi	011100000	110000011	111111111	110111100	000001111	111111111	111111111	111011100	000001111	110101001	100000110	11
DesFrios	011000001	111010111	000101111	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	100000000	100000000	00
Desson	000000001	110000000	000000001	000000001	110011110	000000000	001011100	000000000	100000000	100000000	000110101	11
FVoiTMex	000000110	110000000	000000001	001111000	000000010	000111000	111001100	000001111	100000000	100000000	110011000	11
Gila	011100001	111111111	101111111	000000000	000000010	000000000	000000000	000000000	000000000	100000000	100000000	00
GolfoMex	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	11
PacOcc	00001010	110000000	000000001	000010000	001111110	000000000	000000000	011010001	1001101001	100000000	001110100	11
PacSur	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	001110100	11
PCTexLon	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	100000000	100000000	00
PradSaCSur	000000000	000000000	000000000	101110111	101110000	000000000	000000000	000000000	100000000	100000000	100000000	00
PSTamTex	000000000	000000000	000100001	000000000	000000000	000000000	000000000	111011100	000001111	100000000	100000000	00
SMOcc	111111110	110111111	011100001	011111110	001111110	000000000	000000000	011111001	100000000	100000000	100000000	00
SMOR	000000000	000000000	000000000	111111000	000000001	1111110001	1110111001	000001111	111010101	111111000	010000000	01
SMSur	000000000	000000000	000000000	001111000	000000000	000000000	000000000	000000000	1110111001	100011001	110101000	11
Yucatan	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	11

Resultados

Distribución de Echinocereus. La distribución de *Echinocereus* abarca las provincias biogeográficas del norte de México y suroeste de Estados Unidos (Fig. 2B). El registro más meridional corresponde a *E. pulchellus* (Mart.) C. F. Först ex F. Seitz. en el estado de Oaxaca, México, en la Sierra Madre del Sur (Figs. 2B y 3A) y el registro más norteño corresponde a *E. viridiflorus*, en el estado de Dakota del Sur, Estados Unidos, en las Praderas Semiáridas Centrales del Sur (Figs. 2B y 3B). El registro más oriental está representado por *E. reichenbachii* en Oklahoma, Estados Unidos, en las Praderas Semiáridas Centrales del Sur (Figs. 2B y 3B) y el registro más occidental es para *E. maritimus* en Baja California, México, en la región de California (Fig. 2B y 2C).

Las especies de *Echinocereus* se encuentran representadas en 16 provincias biogeográficas de México y sur de Estados Unidos. Las provincias que presentan un mayor número de especies son la Sierra Madre Occidental (27 spp.), el Desierto Chihuahuense (24 spp.) y la Sierra Madre Oriental y las Montañas de Gila con (11 spp. cada una) (Figs. 2 y 3). Las especies pertenecientes a linajes relacionados con *Echinocereus* de las subtribus Echinocereinae y Pachycereinae se encuentran en el sur de México y regiones costeras de los estados de Baja California, Baja California Sur, Chiapas, Guerrero, Oaxaca, Puebla, Sinaloa, Sonora y Tamaulipas (Fig. 2B). Las figuras 2 y 3 muestran la distribución disyunta de las secciones *Subinermes* (K. Schum.) Mich. Lange, *Wilcoxia* (Britton & Rose) N. P. Taylor, *Sciuri* Sánchez & Arias y *Reichenbachii* N. P. Taylor; y la distribución continua de las secciones *Costati*, *Erecti*, *Echinocereus* y *Triglochidiati*.

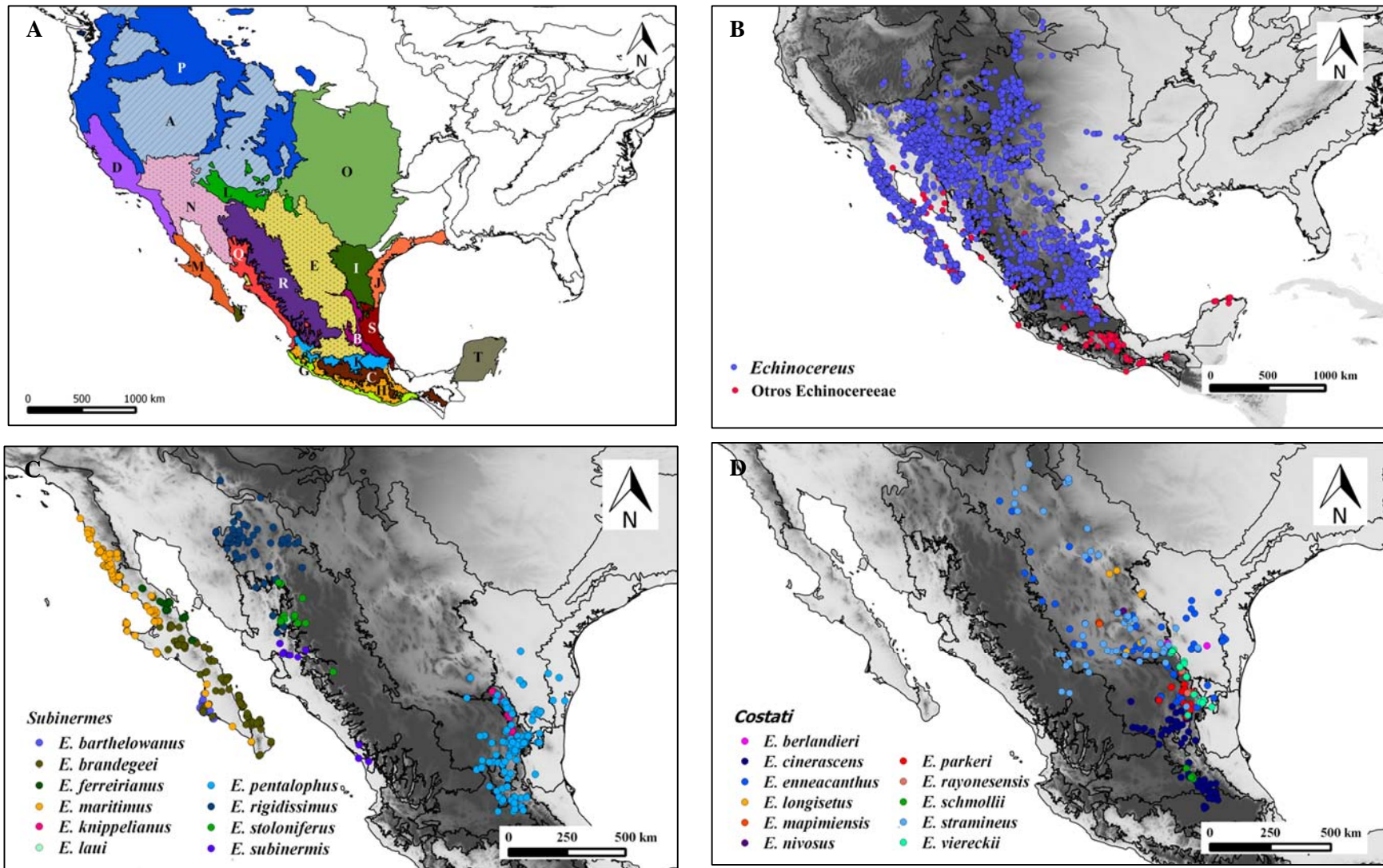


Figura 2. Distribución de *Echinocereus*. A. Provincias biogeográficas utilizadas en este trabajo (ver cuadro 1). B. Distribución general de *Echinocereus*. C. Distribución de la sección *Subinermes*. D. Distribución de la sección *Costati*.

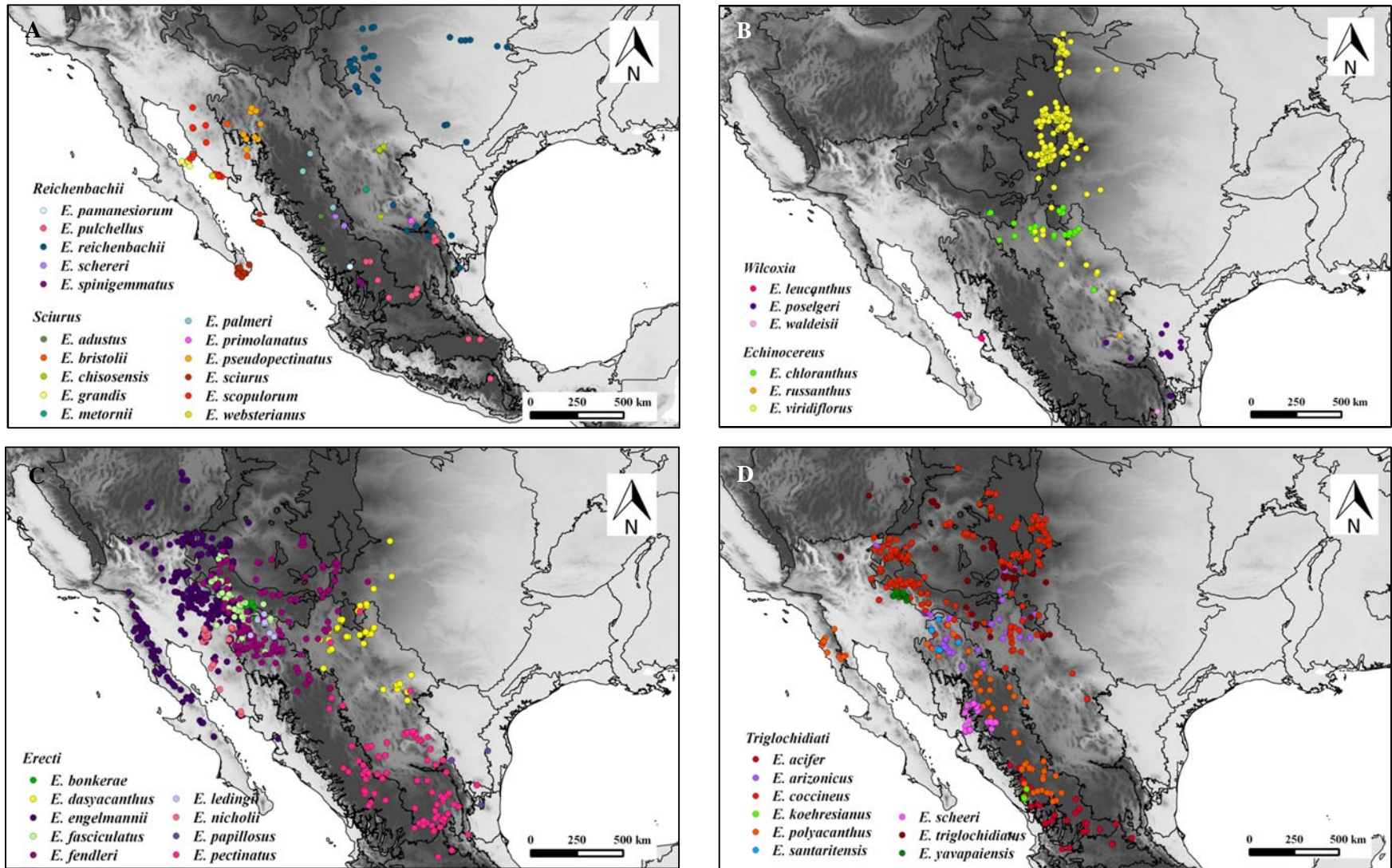


Figura 3. Distribución de *Echinocereus* continuación. A. Distribución de la secciones *Reichenbachii* y *Sciuri*. B. Distribución de la sección *Wilcoxia* y *Echinocereus*. C. Distribución de la sección *Erecti*. D. Distribución de la sección *Triglochidiati*.

Reconstrucción de áreas ancestrales. El análisis de reconstrucción de áreas ancestrales (Fig. 4) mostró que la Sierra Madre Occidental es el área de distribución ancestral para el género *Echinocereus* (nodo 123, probabilidad bayesiana, $P = 0.74$). Para el clado A que incluye sólo a la sección *Subinermes*, también la Sierra Madre Occidental resultó como el área de distribución ancestral (nodo 122, $P = 0.87$); asimismo se identificaron dos eventos de vicarianza dentro de dicha sección. Para el clado B, que incluye al resto de las secciones, el área ancestral está representada por un área compuesta por la Sierra Madre Occidental y el Desierto Chihuahuense (Fig. 4; nodo 113, $P = 0.37$) y se reconoció un evento de vicarianza. Dentro del clado B, el grupo 1, formado por las secciones *Wilcoxia* y *Costati*, presentó al Desierto Chihuahuense como área ancestral (Fig. 4; nodo 112, $P = 0.84$). Esta provincia también es el área ancestral para las secciones *Wilcoxia* y *Costati* por si solas (Fig. 4, nodo 111, $P = 0.63$; y nodo 109, $P = 0.93$, respectivamente). En el grupo 2, formado por las secciones *Sciuri*, *Reichenbachii*, *Echinocereus*, *Erecti* y *Triglochidiati*, la Sierra Madre Occidental es el área ancestral (Fig. 4; nodo 100, $P = 0.40$). También, la Sierra Madre Occidental es el área ancestral de las secciones *Sciuri* (Fig. 4; nodo 99, $P = 0.71$) y *Reichenbachii* (Fig. 4; nodo 89, $P = 0.72$). El subclado que agrupa la secciones *Echinocereus*, *Erecti* y *Triglochidiati* (nodo 85) presenta como área ancestral a la conjunción de la Sierra Madre Occidental, las Montañas de Gila y el Desierto Chihuahuense (Fig. 4; nodo 85, $P = 0.44$). La sección *Echinocereus* presenta como área ancestral a una región formada por el Desierto Chihuahuense y las Montañas de Gila (Fig. 4; nodo 83, $P = 0.61$). La sección *Erecti* (Fig. 4; nodo 81, $P = 0.65$) y la sección *Triglochidiati* (Fig. 4; nodo 74, $P = 0.24$) tuvieron como área ancestral al complejo de la Sierra Madre Occidental, las Montañas de Gila y el Desierto Chihuahuense.

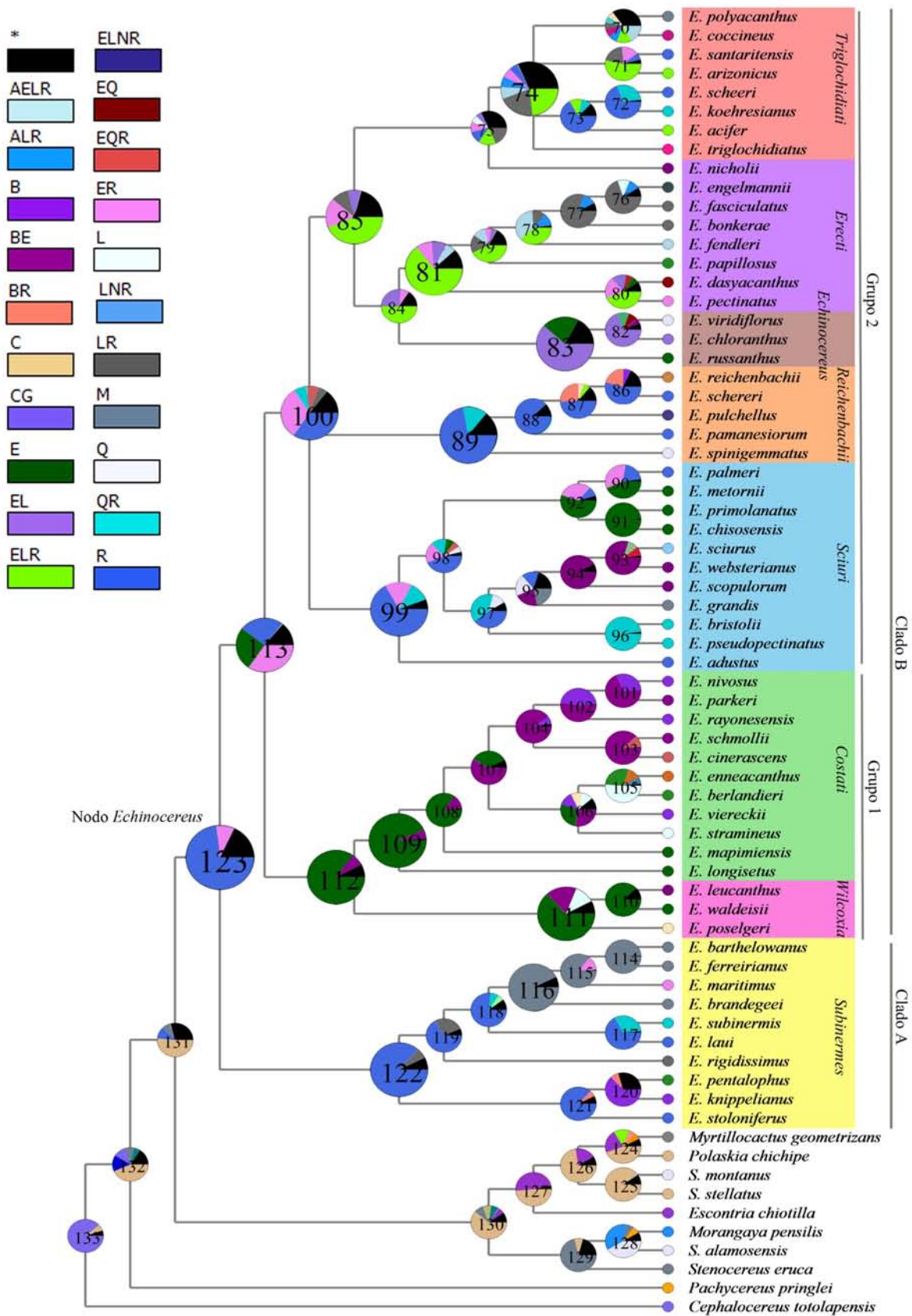


Figura 4. Reconstrucción de áreas de ancestrales del género *Echinocereus* y sus secciones.

Análisis de Parsimonia de Brooks (BPA). El BPA de las provincias biogeográficas de América del Norte resultó en seis árboles igualmente parsimoniosos. El árbol de consenso estricto presentó una longitud (L) = 271, un índice de consistencia (IC) = 0.41 y un índice de retención (IR) = 0.51. Este árbol mostró a dos clados principales (I y II; Fig. 5). El clado I agrupó a las provincias del Sur de México, en donde la Costa del Golfo de México y la Península de Yucatán son el grupo hermano del subgrupo formado por la Costa Sur del Pacífico Mexicano, la Sierra Madre del Sur y la Depresión del Balsas (Fig. 5). El clado II incluyó a las provincias del Norte de México y Sur de los Estados Unidos. Dentro del clado II existe una politomía de cuatro ramas: tres subclados (IIa, IIb y IIc) y las Praderas Semiáridas Centrales del Sur (Fig. 5). El subclado IIa comprendió a las provincias: Costa Occidental del Pacífico Mexicano, Desierto de Sonora y El Cabo. El subclado IIb agrupó a cinco provincias, en donde el subgrupo formado por la Faja Volcánica Transmexicana, la Sierra Madre Oriental y el Desierto Chihuahuense son el grupo hermano de la Planicie Costera de Texas-Louisiana y la Planicie Semiárida de Tamaulipas-Texas. El subclado IIc incluyó seis provincias: Cordillera Occidental, Desiertos fríos, Montañas de Gila, Sierra Madre Occidental, California y Desierto de Baja California.

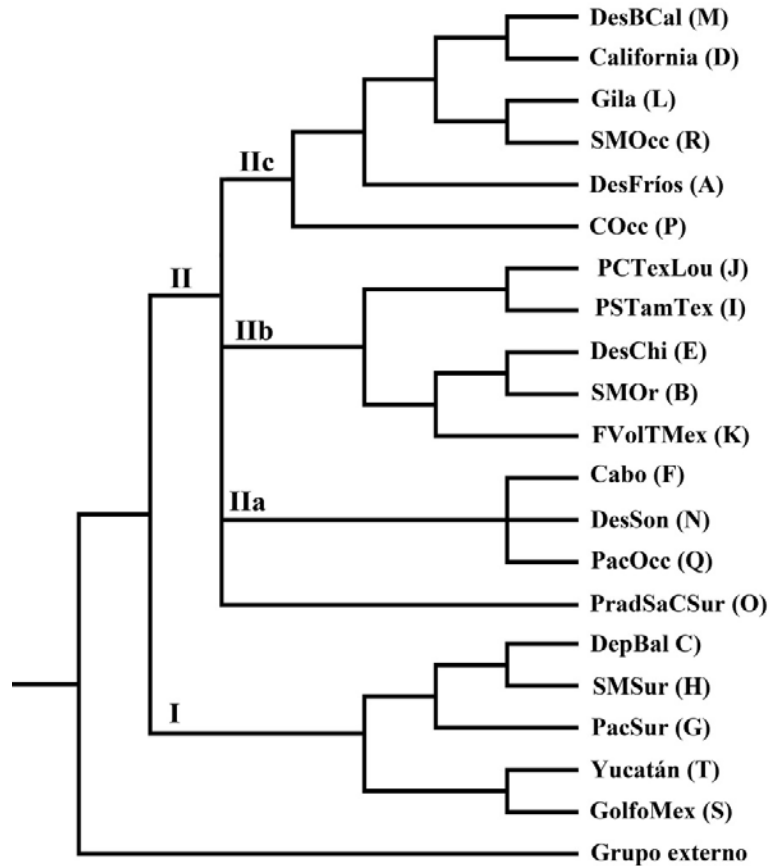


Figura 5. Cladograma resuelto de áreas, a partir de uno de los árboles más parsimoniosos del análisis de parsimonia de Brooks.

Discusión

Distribución y área ancestral de Echinocereus. Sánchez *et al.* (2015) sostienen que *Echinocereus* ha logrado habitar las regiones biogeográficas del Norte de México y Suroeste de los Estados Unidos debido al surgimiento de algunas innovaciones morfológicas, como la presencia de yemas errumpentes y abundante mucílago, que le permiten tolerar heladas durante el invierno. La mayoría de las especies de *Echinocereus* no supera los 30 cm de altura, García-Varela y Rada (2003) sugieren que las plantas que crecen cercanas al suelo están expuestas a temperaturas más frías, por lo que la tolerancia al frío adquirida por el ancestro de *Echinocereus* representó un factor importante para la diversificación del género con esta forma de crecimiento

cilíndrica y corta. La forma de crecimiento cilíndrica es ancestral para *Echinocereus*, estos tallos paedomórficos (Sánchez, 2015, capítulo 3), sin alcanzar una gran longitud, alcanzan la madurez sexual. En contraste, los géneros restantes de Echinocereinae y Pachycereinae relacionados con *Echinocereus* no tienen una gran tolerancia a heladas (Nobel 2002), además presentan una forma de crecimiento columnar, y deben alcanzar una longitud del tallo considerable para madurar sexualmente (p. ej. *Stenocereus* y *Pachycereus*). Estos rasgos morfológicos no les permitieron diversificar en las áreas donde habita *Echinocereus*. Esta hipótesis se corrobora en el patrón de distribución de *Echinocereus* y géneros relacionados (Figura 2B), que coincide con los resultados de Dávila-Aranda *et al.* (2002), quienes mostraron que los linajes hermanos de *Echinocereus* se distribuyen en regiones cálidas, a lo largo de la costa del Pacífico mexicano, centro y sur de México y norte de América Central.

Este escenario biogeográfico de distribución sur a norte, por las costas de México, de los géneros de Echinocereinae (excepto *Echinocereus*) y Pachycereinae, y la ocupación del centro y norte de México y suroeste de los Estados Unidos por el género *Echinocereus*, al parecer está relacionado con la “revolución del Mioceno” expuesta por Van Devender (1995, 2002), quien sostiene que erupciones volcánicas depositaron cenizas riolíticas y basaltos de hasta 2 km de grosor (35 - 12 ma) sobre la orogenia Laramide (90 - 40 ma), en donde la formación de cuencas, fallas y extensiones (15 - 5 ma) conformaron la moderna Sierra Madre Occidental. El levantamiento de la Sierra Madre Occidental, en conjunción con la Sierra Madre Oriental, provocó la aridificación del centro-norte de México, al bloquear el paso de humedad de ambos océanos, el Pacífico y el Atlántico. Este nuevo régimen climático segregó a las especies tolerantes a la sequía y al frío a tipos de vegetación como bosques de coníferas y pastizales.

El levantamiento de la Sierra Madre Occidental es congruente con el análisis de reconstrucción biogeográfica (Fig. 4), sugiriendo que ésta es el área ancestral del género *Echinocereus*, como ya lo había sugerido Taylor (1985). Las edades de divergencia calculadas para el “stem” de la tribu Echinocereae son de 8.7 - 4.7 ma y de 7.16 – 3.05 ma para el “stem” de *Echinocereus* (Arakaki *et al.*, 2011; Hernández-Hernández *et al.*, 2014). Por lo tanto, el origen de la tribu y en particular del género *Echinocereus*, debe ser forzado a su máxima edad de divergencia para encajar con la edad de la “revolución del Mioceno”. Hasta el momento se acepta que las edades de los linajes no son estables debido a la escasez de evidencia fósil, lo cual hace difícil generar una calibración más confiable que mejore los análisis y edades estimadas (Hernández-Hernández *et al.*, 2014). Un ajuste en las edades de divergencia de la tribu podría empatar con mayor robustez con las edades de los eventos geológicos aquí citados.

Distribución y áreas ancestrales de las secciones de Echinocereus. Con excepción de pocos rasgos fisiográficos, el paisaje de Norteamérica estaba prácticamente formado cuando el linaje *Echinocereus* divergió hace 7.16 – 3.05 ma (Arakaki *et al.*, 2011; Hernández-Hernández *et al.*, 2014) en la Sierra Madre Occidental. La diversificación de los linajes dentro del género fue resultado de su expansión geográfica hacia el Desierto Chihuahuense (Hernández-Hernández *et al.*, 2014), teniendo como límite la Faja Volcánica Transmexicana en el centro de México (19 - 1.8 ma, Gómez-Tuena *et al.*, 2007). El calentamiento global durante el Plioceno y los ciclos glaciales e interglaciales del Pleistoceno (Crowley, 1996; Van Devender, 2000; Davis y Shaw, 2001) provocaron cambios en la distribución de las especies (Davis y Shaw, 2001), como se observa en los linajes de *Echinocereus*, a través de eventos de vicarianza (p. ej. nodo 118, sección *Subinermes*), dispersión (p. ej. nodo 109, sección *Costati*), extinción y especialización

ecológica (p. ej. nodo 74, secciones *Echinocereus*, *Erecti* y *Triglochidiati*) lo cual promovió la diversificación del género.

La sección *Subinermes* (Fig. 4, clado A, nodo 122) tiene como área ancestral a la Sierra Madre Occidental, aunque presenta una distribución disyunta (Figs. 2C; 4; 6A). Un primer evento de vicarianza separó a las especies endémicas de Baja California (nodo 116, *E. barthelowanus*, *E. brandegeei*, *E. maritimus* y *E. ferreirianus*), de su grupo hermano (*E. subinermis*, *E. laui* y *E. rigidissimus*) que habita en la Sierra Madre Occidental. Este evento vicariante está relacionado con la separación de la península de Baja California de la porción continental de América del Norte ocurrida hace 5-6 ma (Umhoefer *et al.*, 1994). Un segundo evento vicariante separó a un grupo de especies que habitan el Desierto Chihuahuense-Sierra Madre Oriental (*E. knipellianus* y *E. pentalophus*) de su grupo hermano que ocupa la Sierra Madre Occidental (*E. stoloniferus*). Al parecer, este segundo evento vicariante está relacionado con los ciclos glaciales del Pleistoceno, en donde la expansión del bosque alcanzó áreas con condiciones más frías y secas provocando cambios en la distribución y abundancia de arbustos y suculentas (Van Devender, 1995; Metcalfe, 2006).

El clado B mostró como área ancestral a una región compuesta por la Sierra Madre Occidental-Desierto Chihuahuense (Fig. 4), que se interpreta como una expansión en la distribución de este linaje, a partir del cual divergieron el resto de las secciones de *Echinocereus*. La expansión de los bosques de pino piñonero y enebro en el Plioceno provocaron que las comunidades arbustivas de los desiertos estuvieran restringidas al sur del Desierto Chihuahuense y a la porción baja del Valle del Río Colorado (Van Devender, 1995). Estos “refugios” están asociados con el evento de vicarianza que dividió al clado B en dos grupos, el primero con el Desierto Chihuahuense como área ancestral (Fig. 4, incluye las secciones *Wilcoxia* y *Costati*) y

el segundo (Fig. 4, incluye secciones *Sciuri*, *Reichenbachii*, *Echinocereus*, *Erecti*, y *Triglochidiati*) con la Sierra Madre Occidental como área ancestral.

Nuestros resultados sugieren que la sección *Wilcoxia* es el grupo más tempranamente diversificado del clado B y con una distribución marcadamente disyunta; esta sección se originó en el Desierto Chihuahuense y se dispersó hacia la Sierra Madre Oriental, la Planicie Semiárida de Tamaulipas-Texas y la costa occidental del Pacífico Mexicano (Figs. 3B, 4 y 6A). De acuerdo con Taylor (1985), este patrón de distribución sugiere que antiguamente la sección fue más exitosa y el intervalo de distribución se contrajo posteriormente.

La sección *Costati* también se originó, dispersó y especió en el Desierto Chihuahuense y la vertiente oeste de la Sierra Madre Oriental (Figs. 2D,4 y 6A). El Valle del Mezquital en Hidalgo, México (Wells y Hunziker, 1976) y el Bolsón de Mapimí en Coahuila y Durango, México, han sido propuestos como un refugio para los matorrales y suculentas desérticas durante el Pleistoceno (Van Devender y Burgess, 1985). Lo anterior está apoyado con la existencia de polen de *E. enneacanthus* en el Bolsón de Mapimí a finales del Pleistoceno (Van Devender y Burgess, 1985). Posteriormente en el Holoceno, las comunidades de arbustos desérticos (incluyendo las especies de esta sección) pudieron expandirse al mismo tiempo en que los bosques se retraían (Van Devender, 1990). Este mismo patrón de distribución ha sido reportado para la tribu Cacteeae (Vázquez-Sánchez *et al.*, 2013), grupo ampliamente diverso en el Desierto Chihuahuense (Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2005).

Los resultados sugieren que la Sierra Madre Occidental es el área ancestral de las secciones *Reichenbachii* y *Sciuri*, mismas que presentan una distribución disyunta en varias provincias biogeográficas mexicanas (Figs. 3A; 4; 6B). La mayoría de las especies que componen estas secciones presentan una distribución muy restringida, muchas de ellas

endémicas de una o dos localidades del norte de México y sur de los Estados Unidos (p. ej. *E. chisosensis* en Chisos Mountains, Texas y San Pedro de las Colonias, Coahuila, ambos en el Desierto Chihuahuense; *E. schereri* en Minas Navidad, Durango, en el Desierto Chihuahuense; Blum *et al.*, 1998). *E. spinigemmatum* y *E. pamanesiorum* pertenecientes a la sección *Reichenbachii*, que habitan en la Sierra Madre Occidental son hermanas de *E. reichenbachii* que se distribuye en el Desierto Chihuahuense y las Praderas Semiáridas Centrales del Sur (Fig. 3A) y ejemplifican el patrón disyunto de la sección. Otro ejemplo es *E. pulchellus* con subespecies en la Sierra Madre Occidental (*E. pulchellus* ssp. *weinbergii* en Zacatecas y *E. pulchellus* ssp. *venustus* en Aguascalientes) y en la Sierra Madre Oriental (*E. pulchellus* ssp. *sharpii* en Nuevo León, *E. pulchellus* ssp. *pulchellus* en Hidalgo y Puebla). Este patrón de distribución no puede explicarse por zoocoria, ya que las especies de esta sección presentan frutos secos poco atractivos a mamíferos y aves. El patrón de distribución en la sección *Reichenbachii* puede explicarse a través de una distribución continua que posteriormente fue fragmentada. Existen evidencias de la existencia de un corredor boscoso “trans-Altiplano” entre la Sierras Madres Oriental y Occidental durante los períodos pluviales del Pleistoceno, que se fragmentó durante la transición al Holoceno, cuando el Desierto Chihuahuense comenzó a desecarse (Martin, 1958; Wells y Huziker, 1976, Liebherr, 1991, Marshall y Liebherr 2000). El análisis de Contreras-Medina *et al.* (2007) con base en un análisis de distribución de gimnospermas, muestran que la Sierra Madre Oriental, Desierto Chihuahuense y Sierra Madre Occidental se encuentran relacionadas y como se observa en la sección *Reichenbachii*. Por otro lado, en la sección *Sciuri*, el mismo patrón “trans-Altiplano” es observado en las especies hermanas *E. chisosensis* y *E. palmeri*, que habitan algunas serranías del Desierto Chihuahuense y la Sierra Madre Occidental, respectivamente. Mientras que otro grupo de especies de la sección *Sciuri* habita en el noroeste

de la Sierra Madre Occidental y los macizos rocosos de la Costa Occidental del Pacífico Mexicano, el Desierto de Baja California y El Cabo (Fig. 3A). Es probable que el linaje ancestral de este grupo se dispersara por zoocoria, ya que presentan frutos jugosos. Una vez disperso, el linaje se diversificó por aislamiento en cada uno de los hábitats colonizados (p. ej. *E. websterianus*, en Isla San Pedro Nolasco, en el Desierto de Sonora; *E. sciurus*, Los Cabos, en El Cabo).

El clado que incluye a las secciones *Echinocereus*, *Erecti* y *Triglochidiatus* presentó un área ancestral compuesta por la Sierra Madre Occidental, Montañas de Gila y el Desierto Chihuahuense (Figs. 4; 6B), área que coincide con el refugio de la cuenca del Río Colorado propuesto por Van Devender (1995). Las tres secciones de *Echinocereus* incluyen especies que habitan regiones relativamente frías y secas, con bosques de *Pinus* o *Juniperus* (p. ej. *Echinocereus engelmannii*, *E. scheeri* y *E. viridiflorus*), por lo que se explica su adaptación, expansión y especiación en las distintas regiones de América del Norte durante el Pleistoceno, cuando estos bosques tuvieron una mayor extensión. Las especies de estas secciones presentan una morfología floral marcadamente diferente (Sánchez, 2015, capítulo 3; Taylor, 1985), lo cual permite sugerir que cada linaje se adecuó a diferentes microambientes y síndromes de polinización, a pesar de confluir en algunos puntos de su distribución.

La sección *Echinocereus* con flores cortas (hasta 4 cm de longitud) de color amarillo a marrón, se dispersó y diversificó en el este de América del Norte, habitando el Desierto Chihuahuense y las Praderas Semiáridas Centrales del Sur (Figs. 3B; 6B). La sección *Erecti* compuesta por especies con flores con tubos receptaculares amplias y de 5 hasta 8 cm de longitud, de colores principalmente rosa a púrpura, presentó un clado compuesto por *E. dasyacanthus* y *E. pectinatus*, que se dispersó hacia el Desierto Chihuahuense, mientras que el

resto de las especies de la sección se dispersó y diversificó en las montañas de Gila, Sierra Madre Occidental y California (Figs. 3C; 6B). La sección *Triglochidiati*, con flores con tubos receptaculares tubulares de 5 hasta 12 cm de longitud, principalmente de color rojo, presenta una gran diversidad en la Sierra Madre Occidental, pero también se dispersó y diversificó en las Montañas de Gila y el Desierto Chihuahuense (Fig. 3D; 6B).

Relaciones de las provincias biogeográficas de América del Norte. El cladograma resuelto de áreas realizado con el BPA (Fig. 5) mostró las relaciones de las provincias biogeográficas de América del Norte que se agruparon en dos clados principales. El clado I agrupó a las provincias del sur de México: Costa del Golfo de México, Península de Yucatán, Costa Sur del Pacífico Mexicano, Sierra Madre del Sur y Depresión del Balsas. Los componentes que definieron al clado A (111 y 112) corresponden a las relaciones filogenéticas y distribución de la subtribu Pachycereinae (Fig. 1B). De acuerdo a nuestro análisis, las provincias del sur de México se definieron más tempranamente, respecto a las provincias del norte de México y apoyan la hipótesis de que la tribu Echinocereae ha diversificado en México en un sentido geográfico de sur a norte (Buxbaum, 1969; Wallace, 2002). El clado II agrupó a 15 provincias del centro y norte de México, y sur de los Estados Unidos, en las cuales el género *Echinocereus* ha diversificado notablemente (Fig. 5). Este clado se dividió en tres subclados (IIa, IIb y IIc; Fig. 5) y está soportado por cinco componentes (30, 49, 68, 81 y 91) que corresponden a la filogenia y distribución de las secciones de *Echinocereus* y el resto de los géneros de la subtribu Stenocereinae incluidos en el análisis (Fig. 1A).

El subclado IIa incluyó a tres provincias del noroeste de México: Costa Occidental del Pacífico Mexicano, Desierto de Sonora y El Cabo. Este clado está soportado por ocho componentes (46, 47, 48, 104, 105, 107, 111, 112) asociados a las relaciones filogenéticas y

distribución de *Echinocereus* sección *Sciuri* y la subtribu Pachycereinae (Fig. 1). La relación de El Cabo con provincias pertenecientes al noroeste del macizo continental (Costa Occidental del Pacífico Mexicano y Desierto de Sonora) ha sido mostrada en análisis biogeográficos de la tribu Echinocereae (Dávila-Aranda *et al.*, 2002) y otras familias de angiospermas (p. ej. Espinosa *et al.*, 2006; Peinado *et al.*, 2008). Es probable que la relación de la provincia de El Cabo con el macizo continental se deba a que, al inicio de la separación de la Península de Baja California del resto del macizo continental, en el Plioceno, dicha región quedó aislada por inundaciones marinas en el Istmo de la Paz (Grismer, 1994; Riddle *et al.*, 2000), evitando el intercambio biótico con el resto de la península y manteniendo características ambientales similares a las del macizo continental. Este hecho sugiere que la Península de Baja California, a pesar de que es un área continua, no representa una unidad biogeográfica natural. La presencia del Desierto de Sonora en este clado puede explicarse dado que muchas especies de plantas típicas de esta provincia tienen un origen tropical, requieren de humedad, lluvias en verano e inviernos libres de heladas (Van Devender, 1990); tal es el caso de la mayoría de las especies de la subtribu Pachycereinae y el género *Stenocereus*.

El subclado Iib agrupó cinco provincias del centro y noreste de México: Faja Volcánica Transmexicana, la Sierra Madre Oriental, Desierto Chihuahuense, Planicie Semiárida de Tamaulipas-Texas y Planicie Costera de Texas-Louisiana (Fig. 5). Este grupo está soportado por ocho componentes (61, 62, 63, 67, 77, 78, 79 y 80) ligados a las relaciones filogenéticas y distribución de la sección *Costati* y de *Echinocereus pentalophus*. La relación de estas provincias coincide con la propuesta de Morrone *et al.* (1999) y Contreras-Medina *et al.* (2007) quienes recuperaron la hermandad de la Sierra Madre Oriental y el Desierto Chihuahuense. La mayor parte de las especies de la sección *Costati* prefieren suelos de origen calizo (p. ej. *E. parkeri*, *E.*

ennacanthus), este tipo de suelo está presente en ambas provincias (Grande, 1967), ya que el Desierto Chihuahuense y la Sierra Plegada de la Sierra Madre Oriental pertenecen al mismo terreno estratotectónico (González, 1986). La inclusión de la Faja Volcánica Transmexicana en este clado se debe a la presencia de especies de amplia distribución como *E. cinerascens* que habita en las Serranías de Pachuca, Hidalgo y *E. pentalophus* que se distribuye en la Sierra de Guadalupe en el Valle de México.

El subclado IIC se formó por seis provincias del noroeste de México y suroeste de los Estados Unidos: Cordillera Occidental, Desiertos fríos, Montañas de Gila, Sierra Madre Occidental, California y Desierto de Baja California (Fig. 5). Dos componentes en *Echinocereus* sección *Triglochidiati* (2, 3; Fig. 1A) soportan al clado IIC. Dentro de este clado la hermandad de las Montañas de Gila y la Sierra Madre Oriental está soportado por algunos componentes de *Echinocereus* sección *Triglochidiati* y sección *Erecti* (Fig. 1A). Los resultados obtenidos en el BPA son congruentes con el origen geológico de la Cordillera Oeste, las Montañas de Gila y la Sierra Madre Occidental que forman un continuo montañoso, como resultado de la subducción de la placa Farallón y la Orogenia Laramide hace más 40 ma (Ferrari *et al.*, 2005). Por otro lado, la provincia de California y el Desierto de Baja California formaron un grupo monofilético con base en cuatro componentes (1, 69, 70, 71) de *Echinocereus* sección *Subinermes* (Fig. 1A). Esta relación contrasta con la propuesta de MacMahon (2000) que incluye al Desierto de Baja California como parte del Desierto de Sonora. Sin embargo, la cantidad de endemismos de la tribu Echinocereae en el Desierto de Baja California (p. ej. *E. brandegeei*, *E. ferreirianus*), soportan la propuesta de Riddle *et al.* (2000) quienes separan al Desierto de Baja California (Desierto Peninsular) del Desierto de Sonora. Ambas provincias tienen una historia común ya que estuvieron unidas en el macizo continental hace aproximadamente 5 my, promoviendo

eventos vicariantes en vertebrados (p. ej. Riddle *et al.*, 2000) y plantas (p. ej. Nason *et al.*, 2002). Sin embargo, nuestro muestreo favoreció el agrupamiento de las provincias de California y Desierto de Baja California por las especies de *Echinocereus* que comparten (p. ej. *E. engelmannii* y *E. maritimus*; Figs. 2C y 3C). Los resultados obtenidos en este estudio no apoyan la propuesta de unir a los Desiertos de Sonora, Baja California y Chihuahuense para formar el área natural: Desiertos Calientes (MacMahon, 2000). Aunque el concepto de Desiertos Calientes es establecido como una Ecorregión de México (CONABIO 2008; U. S. EPA 2010), nuestro análisis no reconoció esa relación, ya que el Desierto de Sonora, el Desierto de Chihuahuense y el Desierto de Baja California se encuentran en clados distintos (Fig. 5).

No obstante, el patrón de distribución marcadamente disyunto en *Subinermes* y *Wilcoxia* (las secciones más tempranamente diversificadas en *Echinocereus*) podría suponer una edad de divergencia mayor a la propuesta (Arakaki *et al.*, 2011; Hernández-Hernández *et al.*, 2014), cuando todavía la Sierra Madre Occidental no se levantaba por completo y el Golfo de California aún no se formaba, y esto permitía la distribución continua del linaje. Riddle (1995) sugirió eventos de vicarianza en el Neógeno tardío-Pleistoceno tardío, que separaron a ciertos roedores (*Perognathus*, *Chaetodipus* y *Onychomys*) de los desiertos continentales del oeste (Sonora, Sinaloa y Mojave) y del este (Chihuahua), asociados principalmente con el levantamiento de la Sierra Madre Occidental y el Altiplano Mexicano (aquí considerado como parte del Desierto Chihuahuense).

Por lo tanto, concluimos que la tribu Echinocereae se dispersó y diversificó en América del Norte, en un sentido geográfico de sur a norte. En general, la tolerancia a las heladas en invierno representa el límite ecológico entre *Echinocereus* y el resto de los géneros de la tribu. La tolerancia de *Echinocereus* a las bajas temperaturas está relacionada con algunas

innovaciones morfológicas, como la formación de yemas errumpentes y la presencia de una gran cantidad de mucílago en el tallo. La tolerancia a las heladas, la adquisición de una forma de crecimiento de cilindros cortos y la modificación de los caracteres florales, permitieron la diversificación de los linajes de *Echinocereus* a través de los cambios geológicos y climáticos ocurridos durante el Mioceno, Plioceno y Pleistoceno. El patrón de distribución marcadamente disyunto de las secciones más tempranamente diversificadas (*Subinermes* y *Wilcoxia*) podría suponer una edad de divergencia para *Echinocereus*, más antigua de la que se ha propuesto, en donde la Sierra Madre Occidental no se había levantado completamente y permitía una continuidad en la distribución de esos linajes.

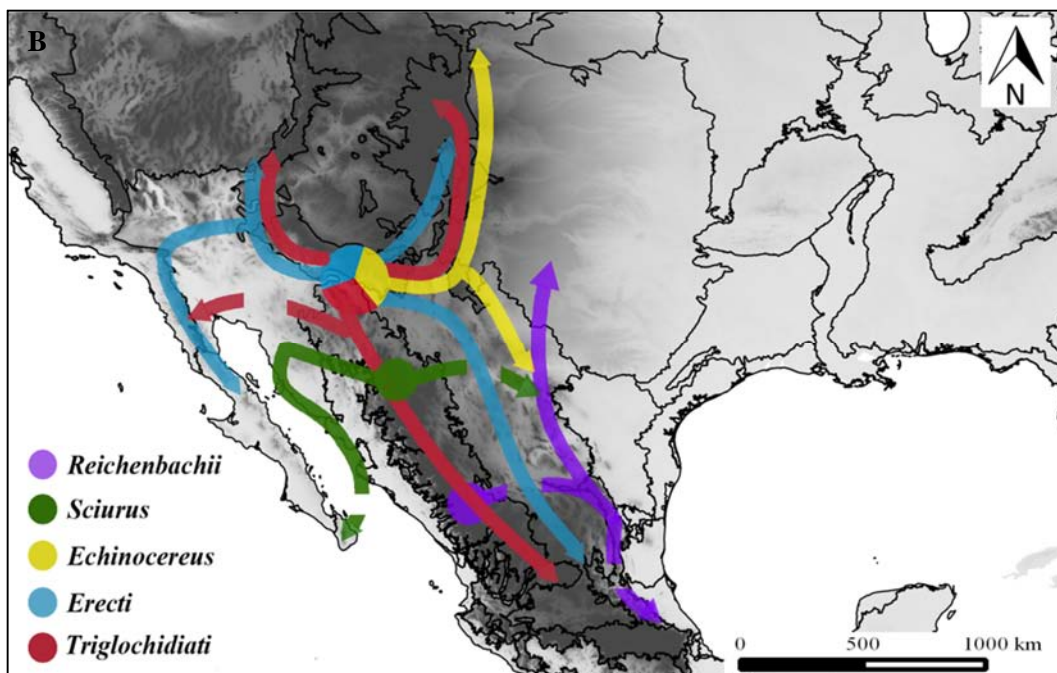
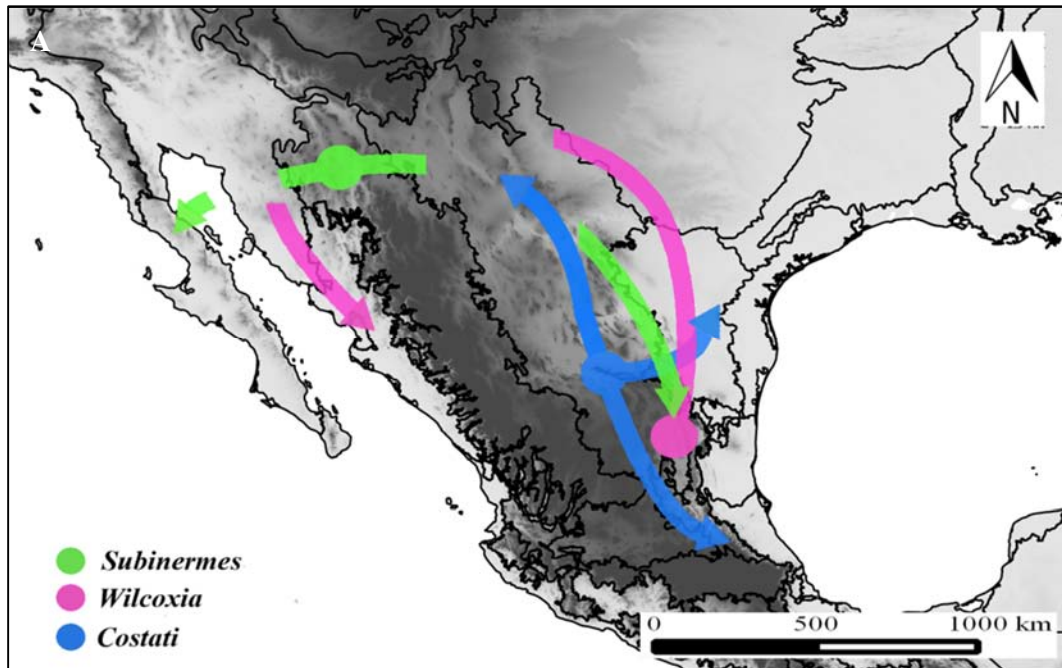


Figura 6. Áreas ancestrales de las secciones de *Echinocereus* y sus posibles rutas de dispersión. A. Secciones *Subinermes*, *Wilcoxia* y *Costati*. B. Secciones *Reichenbachii*, *Sciuri*, *Echinocereus*, *Erecti* y *Triglochidiati*.

Literatura citada

- Arakaki M., Christin P.A., Nyffeler R., Lendel A., Eggli U., Ogburn R. M., Spriggs E., Moore M. J. y Edwards E. J. 2011. Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plants lineages. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 108: 8379-8384.
- Blum, W., Lange D., Rischer M., y Rutow J. 1998. *Echinocereus, Monographie*. Aachen: Selbstverlag.
- Brooks D. R. 1990. Parsimony analysis in historical biogeography and coevolution: methodological and theoretical update. *Systematic Zoology* 39: 14-30.
- Butterworth, C. A. y Wallace R. S. 2005. Molecular phylogenetics of the leafy cactus genus *Pereskia* (Cactaceae). *Systematic Botany* 30: 800-808.
- Buxbaum 1969. F. 1969. Die entwicklungswege der Kakteen in Sudamerika. En: *Biogeography and ecology in South America* Fittkau E. J., Illies J., Klinge H., Schwabe G. H. y Sioli H. , (eds.). Pp. 583–623. The Hague: Junk.
- Calvente A., Zappi D. C., Forest F., y Lohmann L. G. 2011. Molecular phylogeny, evolution, and biogeography of South American epiphytic cacti. *International Journal of Plant Sciences* 172: 902-914.
- CONABIO. 2008. Ecorregiones de México. Acceso abril 2014. http://www.conabio.gob.mx/informacion/metadatos/gis/ecort08gw.xml?_httpcache=yes&_xsl=/db/metadatos/xsl/fgdc_html.xsl&_indent=no
- Contreras-Medina R, Luna-Vega I. y Morrone J. J. 2007. Gymnosperm and cladistic biogeography of the Mexican transition zone. *Taxon* 56: 905-915.
- Crowl T. J. 1996. Pliocene climates: the nature of the problem. *Marine Micropaleontology* 27: 3-12.

- Dávila-Aranda P., Arias S., Lira-Saade R., Villaseñor J.L. y Valiente-Banuet A. 2002. Phytogeography of the columnar cacti (Tribe Pachycereeae) in Mexico: a cladistic approach. En: *Columnar cacti and their mutualists: evolution, ecology, and conservation*, Fleming T. H. y Valiente-Banuet A. (eds.). Pp. 25-41. Tucson: Arizona University Press.
- Davis M.B. y Shaw R.G. 2001. Range shifts and adaptive responses to Quaternary climate change. *Science* 292: 673-679.
- Espinosa D., Llorente J. y Morrone J. J. 2006. Historical biogeographic patterns of the species of *Bursera* (Burseraceae) and their taxonomic implications. *Journal of Biogeography* 33: 1945-1958.
- Ferrari L., Valencia-Moreno M. y Scott B. 2005. Magmatismo y tectónica en la Sierra Madre Occidental y su relación con la evolución de la margen occidental de Norteamérica. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana, Volumen Conmemorativo del Centenario, tomo LVII* 3:343-378.
- García-Varela S. y Rada F. 2003. Freezing avoidance mechanism in juveniles of giant rosette plants of the genus *Espeletia*. *Acta Oecologica* 24: 165-167.
- Goloboff P. Farris A. J. y Nixon K. 2008. T.N.T. Tree analysis using new technology. *Cladistics* 24: 774-786.
- Gómez-Hinostrosa C. y Hernández H. M. 2000. Diversity, geographical distribution, and conservation of Cactaceae in the Mier y Noriega region, Mexico. *Biodiversity and Conservation* 9: 403-418.
- Gómez-Tuena A., Orozco-Esquivel M. T. y Ferrari L. 2007. Igneous petrogenesis of the Trans-Mexican Volcanic Belt. *Geological Society of America Special Papers* 422: 129-181.

- González H. M. G., Miranda P. L. R. y Flores L. R. 1986. La carta de terrenos estratotectónicos de la República Mexicana. *Revista de Geografía* 1: 27-44.
- Grande López R. 1967. Morfología y génesis de suelos yesíferos de Matehuala, SLP. *Agrociencia* 1: 130-146.
- Grismer L. L. 1994. The origin and evolution of the peninsular herpetofauna of Baja California, México. *Herpetological Natural History* 2: 51-106.
- Hernández H. M. y Bárcenas R. T. 1995. Endangered cacti in the Chihuahuan Desert: I. Distribution patterns. *Conservation Biology* 9: 1176-1188.
- Hernández H. y Gómez-Hinostrosa C. 2005. Cactus diversity and endemism in the Chihuahuan Desert region. En *Biodiversity, ecosystems, and conservation in Northern Mexico*, Cartron J.E., Ceballos G., y Felger R. (eds.). Pp. 264-275. New York: Oxford University Press.
- Hernández H. M. y Gómez-Hinostrosa C. 2011. Areas of endemism of Cactaceae and the effectiveness of the protected area network in the Chihuahuan Desert. *Oryx* 45: 191-200.
- Hernández-Hernández T., Brown J. W., Schlumpberger B. O., Eguiarte L. E., y Magallón S. 2014. Beyond aridification: multiple explanations for the elevated diversification of cacti in the New World Succulent Biome. *New Phytologist* 202: 1382-1397.
- Hernández-Hernández T., Hernández H. M., De-Nova J. A., Puente R., Eguiarte L. E. and Magallón S. 2011. Phylogenetic relationships and evolution of growth form in Cactaceae (Caryophyllales, Eudicotyledoneae). *American Journal of Botany* 98: 44-61.
- Hunt D. R., Taylor N. P. y Charles G. 2006. *The new cactus lexicon*. Milborne Port: DH Books.
- MacMahon J. A. 2000. Warm deserts. En: *North American terrestrial vegetation*, Barbour M. G. y Billings W. D. (eds.). Pp. 285-322. Cambridge: Cambridge University Press.

- Martin P. S. 1958. A biogeography of reptiles and amphibians in the Gomez Farias region, Tamaulipas, Mexico. *Miscellaneous publications, Museum of Zoology, University of Michigan* 101: 1-102.
- Majure L. C., Puente R., Griffith M. P., Judd W. S., Soltis P. S. y Soltis D. E. 2012. Phylogeny of *Opuntia s.s.* (Cactaceae): Clade delineation, geographic origins, and reticulate evolution. *American Journal of Botany* 99: 847-864.
- Marshall C. J. y Liebherr J. K. 2000. Cladistic biogeography of the Mexican transition zone. *Journal of Biogeography* 27: 20-216.
- Metcalf S. 2006. Late Quaternary environments of the Northern deserts and central transvolcanic belt of Mexico. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 93: 258-273.
- Morrone J. J. (2006). Biogeographic areas and transition zones of Latin America and the Caribbean islands based on panbiogeographic and cladistic analyses of the entomofauna. *Annual Review of Entomology* 51: 467-494.
- Morrone J. J. 2005. Cladistic biogeography: identity and place. *Journal of Biogeography* 32: 1281-1286.
- Morrone J. J. y Crisci J.V. 1995. Historical biogeography: Introduction to methods. *Annual Review of Ecology and Systematics* 26: 373-401.
- Morrone J. J., Espinosa D., Zúñiga C. A., y Llorente J. 1999. Preliminary classification of the Mexican biogeographic provinces: a parsimony analysis of endemism based on plant, insect, and bird taxa. *The Southwestern Naturalist* 44: 507-514.
- Nason J. D., Hamrick J. L. y Fleming, T. H. 2002. Historical vicariance and postglacial colonization effects on the evolution of genetic structure in *Lophocereus*, a Sonoran Desert columnar cactus. *Evolution* 56: 2214-2226.

- Nobel P. S. 2002. Physiological ecology of columnar cacti. En: *Columnar cacti and their mutualists: evolution, ecology, and conservation*, Fleming T. H. y Valiente-Banuet A. (eds.). Pp. 189-204. Tucson: Arizona University Press.
- 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: 312-326.
- Peinado M., Aguirre J. L., Delgadillo J. y Macías M. Á. 2008. A phytosociological and phytogeographical survey of the coastal vegetation of western North America. Part I: plant communities of Baja California, Mexico. *Plant Ecology*: 196: 27-60.
- Quantum GIS Development Team. 2013. Quantum GIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org>
- CONABIO. 2012. Red Mundial de Información sobre Biodiversidad. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- http://www.conabio.gob.mx/remib_ingles/doctos/remib_ing.html. Acceso en enero 2012.
- Riddle B. R. 1995. Molecular biogeography in the pocket mice (*Perognathus* and *Chaetodipus*) and grasshopper mice (*Onychomys*) the Late Cenozoic development of a North American arid lands rodent guild. *Journal of Mammalogy* 76: 283-301
- Riddle B. R., Hafner D. J., Alexander L. F. y Jaeger J. R. 2000. Cryptic vicariance in the historical assembly of a Baja California Peninsular Desert biota. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97: 14438-14443.
- Ronquist F. 1995. Reconstructing the history of host-parasite associations using generalized parsimony. *Cladistics* 11: 73-89.
- Ronquist F., Sanmartin I. 2011. Phylogenetic methods in biogeography. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 42: 441-64.

- Ronquist, F. and Huelsenbeck J. P. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.
- Sánchez D., Arias S. y Terrazas T. 2014. Phylogenetic relationships in *Echinocereus* (Cactaceae, Cactoideae). *Systematic Botany* 39: 1183-1196.
- Sánchez D., Arias S. y Terrazas T. 2015b. Análisis filogenético combinado basado en caracteres moleculares y morfológicos de *Echinocereus* (Cactaceae). Tesis de Doctorado. México, D. F.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Sánchez D., Grego-Valencia D., Terrazas T. y Arias S. 2015. How and why does move areole meristem in *Echinocereus* (Cactaceae)? *Annals of Botany* 115: 19-26.
- Santa Anna del Conde H. Contreras-Medina R. y Luna-Vega I. 2009. Biogeographic analysis of endemic cacti of the Sierra Madre Oriental, Mexico. *Biological Journal of the Linnean Society* 97: 373-389.
- Sanmartín I. 2006. Event based biogeography: integrating patterns, process, and time. En: *Biogeography in a changing world*, Ebach M. C. y Tangney R. S. (eds.). Pp. 135-159, Boca Raton: CRC Press.
- SEINet. 2013. Southwest Environmental Information Network. <http://swbiodiversity.org/seinet/index.php>. Acceso en abril 2013.
- Taylor N. P. 1985. *The genus Echinocereus*. Middlesex: Kew Magazine Monograph.
- U.S. Environmental Protection Agency, Western Ecology Division. 2010. Level II Ecoregions. Acceso en abril 2014. http://www.epa.gov/wed/pages/ecoregions/na_eco.htm#Downloads.
- U.S. Geological Survey's Center for Earth Resources Observation and Science (EROS). 2010. 30 arc-second DEM of North America. Acceso abril 2014. <http://app.databasin.org/app/pages/datasetPage.jsp?id=d2198be9d2264de19cb93fe6a380b69c>

- Umhoefer P. J., Dorsey R. J. y Renne P. 1994. Tectonics of the Pliocene Loreto basin, Baja California Sur, Mexico, and evolution of the Gulf of California. *Geology* 22: 649-652.
- Van Devender R. T. 1995. Desert grassland history. Changing climates, evolution, biogeography, and community dynamics. En: *The desert grassland*, McClaran M. P. y Van Devender T. R. (eds.). Pp. 68-99. Tucson: University of Arizona Press.
- Van Devender R. T. 2000. The Deep History of the Sonora Desert. En *A natural history of the Sonora Desert*, eds. Phillips S. y Comus P. W. Tucson: Arizona-Sonora Desert Museum.
- Van Devender R. T. 2002. Environmental history of the Sonora Desert. En *Columnar cacti their mutualist*, T. H. Fleming and A. Valiente-Banuet (eds.). Pp. 3-24. Tucson: University of Arizona Press.
- Van Devender T. R. y Burgess T. L. 1985. Late Pleistocene woodlands in the Bolson de Mapimí: A refugium for the Chihuahuan Desert Biota? *Quaternary Research* 24: 346-353.
- Van Devender, T. 1990. Late quaternary vegetation and climate of the Chihuahuan Desert, United States and Mexico. En *Packrat middens: the last 40,000 years of biotic change*, Betancourt J. Van Devender T. R. and Martin P. (eds.). Pp. 104-133. Tucson: The University of Arizona Press.
- Vázquez-Sánchez, M., Terrazas T., Arias S., y Ochoterena H. 2013. Molecular phylogeny, origin, and taxonomic implications of the tribe Cactaeae (Cactaceae). *Systematics and Biodiversity* 11: 103-116.
- Wallace R. S. y Gibson A. C. 2002. Evolution and systematics. En: *Cacti biology and uses*, Nobel P. S. (ed.). Pp. 1-21. Berkeley: University of California Press.
- Wells P. V. y Hunziker J. H. 1976. Origin of the creosote bush (*Larrea*) deserts of southwestern North America. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 63: 843-861.

Yu Y., Harris A.J., He X.J. 2015. RASP (Reconstruct Ancestral State in Phylogenies): a tool for historical biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 87: 46-49.

Zandee M. y Roos M.C. 1987. Component-compatibility in historical biogeography. *Cladistics* 3: 305-332.

CONCLUSIONES

El análisis filogenético que incluyó sólo a los marcadores de ADN de cloroplasto generó una hipótesis robusta de las relaciones filogenéticas de las especies tradicionalmente clasificadas en *Echinocereus*. Se redefinen los límites del género al excluir a *E. pensilis* y se propone que *Echinocereus s. s.* está apoyado por dos caracteres morfológicos: yemas errumpentes y lóbulos del estigma de color verde. Las secciones propuestas en la clasificación previa representan grupos parafiléticos o polifiléticos, con excepción de *Triglochidiati* que se recuperó como un grupo monofilético. Sin embargo, fue necesario usar otra fuente de evidencia para resolver y/o confirmar las relaciones de taxones con posición incierta.

En ausencia de un marcador de núcleo, la inclusión de caracteres morfológicos bien conceptualizados funcionó como un complemento congruente y robusto para poner a prueba, corroborar y apoyar las hipótesis filogenéticas generada a través del análisis de caracteres moleculares. El análisis filogenético combinado permitió el flujo de señal secundaria, resolvió el problema de atracción de ramas largas en uno de los clados internos de la filogenia y resultó con una mejor resolución. El análisis combinado permite que cada linaje tenga un sentido más práctico al contener información morfológica (Assis, 2009). De esta forma, el género *Echinocereus* y ocho clados internos, reconocidos como secciones, pudieron ser descritos a través de sinapomorfías o con una combinación única de caracteres morfológicos y moleculares.

Todas las especies de *Echinocereus* presentaron yemas errumpentes, aún aquellas que habían sido consideradas por autores previos como especies con yemas no errumpentes. La formación de yemas errumpentes, por el movimiento del meristemo de la aréola, es un proceso anatómico bien coordinado que representa la sinapomorfía del género. Esta modificación

constituye una adaptación que consideramos promovió la diversificación del linaje, ya que protege al meristemo de la aréola o yema de las heladas que ocurren en los lugares donde habita el género.

Echinocereus representó un linaje ideal para explorar la biogeografía histórica de México, ya que es un género diverso y con una amplia distribución en América del Norte. La Sierra Madre Occidental resultó un área importante en el establecimiento de los patrones biogeográficos en la tribu Echinocereae. El levantamiento de esta cadena montañosa propició la vicarianza en Echinocereinae que separó a *Echinocereus* del resto de los géneros. Las relaciones filogenéticas de las especies de *Echinocereus* permiten proponer una historia biogeográfica de la provincias biogeográficas de México, congruentes con patrones descritos en otras familias de plantas, asociados a los mismos cambios geológicos y climáticos.

LITERATURA CITADA

- Arias S. y Terrazas T. 2006. Análisis cladístico del género *Pachycereus* (Cactaceae) con caracteres morfológicos. *Brittonia* 58 (3): 197-216.
- Arias S., Terrazas T., Arreola-Nava H., Vázquez-Sánchez M. y Cameron K. 2005. Phylogenetic relationships in *Peniocereus* (Cactaceae) inferred from plastid DNA sequence data. *Journal of Plant Research* 118: 317-328.
- Assis L. 2009. Coherence, correspondence, and the renaissance of morphology in phylogenetic systematics. *Cladistics* 25: 528–544.
- Backeberg C. 1960. *Die Cactaceae*. Band IV. Gustav Fisher Verlag, Jena.
- Barba J. A. 2012. Diversificación de Pachycereeae (Cactaceae, Caryophyllales, Eudicotylodoneae) en relación al síndrome de polinización. Tesis de Maestría. Instituto de Biología, UNAM. Distrito Federal. México.
- Bárcenas R. T., Yesson C. y Hawkins A.. 2011. Molecular systematics of the Cactaceae. *Cladistics* 27: 470-489.
- Berger A. 1926. *Die entwicklungslinien der Kakteen*. G. Fisher, Jena, Germany.
- Berger A. 1929. *Kakteen*. Verlag von Eugen Ulmer in Stuttgart.
- Blum W, Lange D., Rischer M. y Rutow J. 1998. *Echinocereus, Monographie*. Fa. Proost N. V. Belgium.
- Bravo-Hollis H. y Sánchez Mejorada H. 1991. *Las Cactáceas de México*. Vol. 2. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

- Bravo-Hollis, H. 1978. *Las Cactáceas de México*. Vol. I. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Britton N.L. y Rose J. N. 1919-1923. *The Cactaceae*. Vols. I-IV. Carnegie Institution of Washington. Gibson Brothers. Washington.
- Butterworth C.A. y Wallace R. S. 2005. Molecular phylogenetics of the leafy cactus genus *Pereskia* (Cactaceae). *Systematic Botany* 30: 800-808.
- Buxbaum F. 1951-1955. *Morphology of cacti*. Sections I-III. Abbey Garden Press, Pasadena.
- Buxbaum F. 1958. The phylogenetic division of the subfamily Cereoideae, Cactaceae. *Madroño* 14: 177-206.
- Calvente A., Zappi D. C., Forest F. y Lohmann L. G. 2011. Molecular phylogeny of tribe Rhipsalideae (Cactaceae) and taxonomic implications for *Schlumbergera* and *Hatiora*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 58: 456-468.
- Crozier B.S. 2004. Subfamilies of Cactaceae Juss., including Blossfeldioideae subfam. nov. *Phytologia* 86: 52-64.
- Demaio P.H., Barfuss M.H., Kiesling R., Till W. y Chiapella J.O. 2011. Molecular phylogeny of *Gymnocalycium* (Cactaceae): assessment of alternative infrageneric system, a new subgenus, and trends in the evolution of the genus. *American Journal of Botany* 98: 1841-1854.
- Edwards E.J., Nyffeler R. y Donoghue M. J.. 2005. Basal cactus phylogeny: implications of *Pereskia* (Cactaceae) paraphyly for the transition to the cactus life form. *American Journal of Botany* 92: 1177-1188.

- Engelmann G. 1859. Cactaceae of the Boundary. En: Emory W.H. United States and Mexican Boundary Survey.
- Farris J. 1983. The logical basis of phylogenetic analysis. En Paltnick N.I. y V. Funk (Eds.). *Advances in cladistics 2*: 7-36. Columbia University Press. New York.
- Gibson A.C. y Nobel P. S. 1986. *The Cactus Primer*. Harvard University Press. Cambridge.
- Hernández-Hernández T, Hernández H. M., De-Nova J. A., Puente R., Eguiarte L. E. y Magallón S. 2011. Phylogenetic relationships and evolution of growth form in Cactaceae (Caryophyllales, Eudicotyledoneae). *American Journal of Botany* 98: 44-61.
- Hunt D.R., Taylor N. P., y Charles G. 2006. *The new cactus lexicon*. DH Books. The Manse Chapel Lane Milborne Port.
- Hunt D. R. 2012. Taxonomic implications of DNA studies relating to Cactaceae subfam. Cactoideae. *Bulletin of the International Cactaceae Systematics Group* 26: 3-20
- Korotkova N., Borsch T., Quandt D., Taylor N. P., Muller K. F. y Barthlott W.. 2011. What does it take to resolve relationships and to identify species with molecular markers? An example from epiphytic Rhipsalideae (Cactaceae). *American Journal of Botany* 98: 1549-1572.
- Lewis P. O. 2001. A likelihood approach to estimating phylogeny from discrete morphological character data. *Systematic Biology* 50: 913-925.
- Luna-Vega I. 2008. Aplicaciones de la biogeografía histórica a ladistribución de las plantas mexicanas. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 79: 217-241.

- Majure L.C., Puente R., Griffith M. P., Judd W.S., Soltis P. S. y Soltis D. E. 2012. Phylogeny of *Opuntia* s.s. (Cactaceae): Clade delineation, geographic origins, and reticulate evolution. *American Journal of Botany* 99: 847-864.
- Morrone J.J. 2006. Biogeographic areas and transition zones of Latin America and the Caribbean islands based on panbiogeographic and cladistics analyses of the entomofauna. *Annual Review of Entomology* 51: 467-494.
- Nixon K. C. y Carpenter J. M. 1996. On simultaneous analysis. *Cladistics* 12: 221-241.
- Nyffeler R. 2002. Phylogenetic relationship in the cactus family (Cactaceae) based on evidence from *trnK/matK* and *trnL-trnF* sequences. *American Journal of Botany* 89: 312-326.
- Nyffeler R. y Eggli U. 2010. A farewell to dated ideas and concepts: molecular phylogenetics and revised suprageneric classification of the family Cactaceae. *Schumannia* 6: 1-42
- Nylander J. A. A., Ronquist F., Huelsenbeck J. P. y Nieves-Aldrey J. L. 2004. Bayesian phylogenetic analysis of combined data. *Systematic Biology* 53:47-67.
- Ritz C.M., Martins L., Mecklenburg R., Goremykin V. y Hellwig F H.. 2007. The molecular phylogeny of *Rebutia* (Cactaceae) and its allies demonstrates the influence of paleogeography on the evolution of South American Mountain cacti. *American Journal of Botany* 94: 1321-1332.
- Ronquist F. 1997. Dispersal-Vicariance analyses: a new approach to the quantification of historical biogeography. *Systematic Biology* 46: 195-203.
- Rowley G. D. 1974. The unhappy medium: *Morangaya* a new genus of Cactaceae. *Ashingtonia* 1: 43-45.

Salm-Dyck J. 1850. *Cactaeae in Horto Dyckensi Cultae anno 1849*. Bonn: Henry & Cohen.

Schumann K. 1899. *Gesamtbeschreibung der Kakteen*. Neudamm.

Scotland, R. W., Olmstead R. G. y Bennett J. R. 2003. Phylogeny reconstruction: the role of morphology. *Systematic Biology* 52: 539-548.

Taylor N. P. 1985. *The genus Echinocereus*. Kew Magazine Monograph. Middlesex, England.

Taylor N. P. 1988. Supplementary notes on Mexican *Echinocereus* (1). *Bradleya* 6: 65-84.

Taylor N. P. 1989. Supplementary notes on Mexican *Echinocereus* (2). *Bradleya* 7: 73- 77.

Taylor N. P. 1993. Ulteriori studi su *Echinocereus*. *Piante Grasse* 13: 79-96.

Vázquez-Sánchez M., Terrazas T., Arias S. y Ochoterena H. 2013. Molecular phylogeny of tribe Cactaeae (Cactaceae): taxonomic implications. *Systematics and Biodiversity* 11: 103-116.

Wallace R. S. y Fourquer E. D. 1995. Molecular evidence for the systematic placement of *Echinocereus pensilis* (K. Brandegees) J. Purpus (Cactaceae). *Haseltonia* 3: 751-756.

Wislizenus F.A. 1848. *Memoir of a tour to northern Mexico, 1846 and 1847*. Rio Grande Press.