



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

POSICIÓN FILOGENÉTICA DE LAS ESPECIES DE *TILLANDSIA* L. (BROMELIACEAE, POALES) MEXICANAS

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

PRESENTA:

XOCHITL CITLALMINA GRANADOS AGUILAR

Directora de tesis: **Dra. Carolina Granados Mendoza**

Asesor Interno: **Dr. Carlos Castillejos Cruz**

Investigación realizada gracias al Programa UNAM-DGAPA-PAPIIT IG200316

Ciudad de México, 2016



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.

Índice

Agradecimientos	2
Índice de figuras y cuadros.....	4
Resumen	5
Introducción.....	6
Hipótesis.....	14
Objetivos.....	14
Materiales y métodos.....	15
Definición del grupo de estudio	15
Revisión bibliográfica	15
Revisión de herbarios	15
Colecta e identificación de ejemplares botánicos	16
Depósito de ejemplares en colecciones vivas	17
Métodos moleculares	17
Extracción de ADN	17
Amplificación y secuenciación de la región del cloroplasto <i>matK</i>	19
Edición de secuencias y alineamiento.....	21
Análisis filogenéticos y edición de árboles.....	21
Resultados	23
Discusión	37
Conclusión.....	45
Bibliografía Citada	46
Consultas electrónicas.....	53
Anexo 1	54
Anexo 2	61

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), así como a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza y el Instituto de Biología de la UNAM por haberme dado una formación integral a lo largo de casi toda mi vida y haberme dado los conocimientos necesarios para llegar a ser un profesional de excelencia.

La presente investigación fue realizada gracias al Programa UNAM-DGAPA-PAPIIT IG200316. Financiamiento adicional fue amablemente proporcionado por el Instituto Chinoín A. C.

Agradezco al programa de becas de Titulación de la Secretaría de Educación Pública (SEP) por el apoyo proporcionado para la realización de la presente tesis.

A los dirigentes y personal del Centro Universitario de Conservación e Investigación de Bromelias Mexicanas (CUCIBROM) y el Centro para la Sustentabilidad Incalli Ixcahuicopa (Centli) por el material vegetal proporcionado y por mantener en su colección plantas vivas de un gran número de las colectas realizadas en el presente trabajo. A la Dra. María Flores Cruz por el acceso a la colección de plantas vivas del CUCIBROM, así como por proporcionar información y colectas personales de *Tillandsia*. Un especial agradecimiento a la M. en C. Nora Berenice Vázquez Hurtado por procesar y mantener vivas nuestras colectas en el CUCIBROM.

A los curadores y personal del Herbario Nacional de México (MEXU) y el herbario de la Facultad de Ciencias (FCME) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por el material y atención proporcionados.

Al Personal de la biblioteca del Instituto de Biología, por su amable ayuda en la búsqueda de información.

A las comunidades de Oaxaca Ixtlán de Juárez y Santiago Textitlán que amablemente dieron su permiso para poder realizar colecta de ejemplares en su territorio.

A la Dra. Carolina Granados Mendoza por su asesoría, compartir su conocimiento y su ayuda en el trabajo de campo y laboratorio, así como por la revisión del presente manuscrito.

Al Dr. Gerardo A. Salazar Chávez por sus consejos, apoyo en el trabajo de campo, facilitación de espacio de oficina y laboratorio, y por proporcionar recursos económicos para el presente trabajo.

Al M. en C. Rafael Torres Colín por proporcionar diversas colectas de *Tillandsia* y por su invaluable apoyo en el trabajo de campo.

A la Dra. Lidia Irene Cabrera Martínez y la M. en C. Laura Margarita Márquez Valdelamar por su ayuda y enseñanzas en el Laboratorio de Sistemática Molecular del Departamento de Botánica y el Laboratorio de Biología Molecular y de la Salud del Instituto de Biología de la UNAM.

A Miguel Castañeda Zárate, Sabina Donadío, Jerónimo Reyes, Guadalupe Cornejo Tenorio y Guillermo Ibarra Manríquez por proporcionar colectas y/o secuencias de *Tillandsia* que enriquecieron el presente trabajo.

Al Dr. Carlos Castillejos Cruz por despertar en mí el interés y amor hacia la botánica, por todos sus consejos a lo largo de la carrera de Biología y la ayuda para este trabajo.

A mis sinodales M. en C. Florencia Becerril Cruz, Dr. David Nahum Espinosa Organista y M. en C. Sonia Rojas Chávez por sus comentarios y correcciones

A mi mamá, que me ha apoyado y me ha dado su comprensión siempre para que yo pudiera concluir todos mis estudios.

A mi tía Ofelia que siempre me ha cuidado y me ha ayudado en todo a lo largo de mi vida.

A Luis Fernando Morales que me dio su apoyo en las malas y en las buenas y por toda su ayuda.

A todas las personas, maestros, amigos y compañeros que brindaron apoyo para que este trabajo pudiera ser concluido.

Índice de figuras y cuadros

Figuras	Página
1. Hábito epífita en <i>Tillandsia schiedeana</i> .	Página 7
2. Animales asociados a especies de <i>Tillandsia</i> .	Página 7
3. Ubicación del orden Poales dentro de las plantas con flores.	Página 9
4. Representación esquemática del genoma del cloroplasto en angiospermas.	Página 12
5. Diagrama de la porción de la región del <i>matK-trnK</i> amplificada en el presente trabajo.	Página 19
6. La región del cloroplasto del <i>matK-trnK</i> en <i>Tillandsia utriculata</i> .	Página 23
7. Árbol de Máxima Verosimilitud modificado a ultramétrico con una escala de tiempo arbitraria de la región <i>matK-trnK</i> para la familia Bromeliaceae.	Página 24
8. Acercamiento del árbol de Máxima Verosimilitud referido en la figura 7 que muestra el clado K.	Página 25 y 26
9. Especies del género <i>Tillandsia</i> pertenecientes al clado K1.	Página 28
10. Especies del género <i>Tillandsia</i> pertenecientes al clado k.1a	Página 28
11. Especies del género <i>Tillandsia</i> pertenecientes al clado k.1.	Página 29
12. Especies del género <i>Tillandsia</i> pertenecientes al clado k.1.	Página 29
13. Especies del género <i>Tillandsia</i> pertenecientes al clado k.2.	Página 31
14. Especies del género <i>Tillandsia</i> pertenecientes al clado k.2a.	Página 31
15. Especies del género <i>Tillandsia</i> pertenecientes al clado k.2b.	Página 32
16. Especies del género <i>Tillandsia</i> pertenecientes al clado k.2b.	Página 32
17. Especies del género <i>Tillandsia</i> pertenecientes al clado k.2c	Página 34
18. <i>Tillandsia brevilingua</i> y <i>Tillandsia xerographica</i> perteneciente al clado k.2c	Página 34
19. Especies del género <i>Tillandsia</i> pertenecientes al clado <i>Tillandsia heterophylla</i> .	Página 35
20. Especies del género <i>Tillandsia</i> pertenecientes al clado <i>Tillandsia grandis</i> .	Página 35
21. Clado <i>Tillandsia grandis</i> .	Página 36
22. Clado <i>Tillandsia heterophylla</i> , las estrellas indican especies endémicas, la barra lateral indica los subgéneros.	Página 36
Cuadros	
A. Reactivos y volúmenes utilizados para la amplificación de la región <i>matK-trnK</i> .	Página 20
B. Programa de PCR utilizado para la amplificación de la región <i>matK-trnK</i> .	Página 20

Resumen

Se determinó la posición filogenética de 65 especies de *Tillandsia* presentes en México que aún no han sido incorporadas a estudios filogenéticos. También se analizó el tamaño y composición del clado K de *Tillandsia* identificado previamente por Barfuss *et al.* 2005; y se estableció la posición filogenética de las especies de *Tillandsia* endémicas a México. Como marcador molecular se utilizó la región del *matK-trnK* del genoma del cloroplasto del cual se encuentran disponibles numerosas secuencias en GenBank permitiendo establecer la posición de las especies de *Tillandsia* mexicanas dentro de un contexto filogenético global de Bromeliaceae. El análisis de Máxima Verosimilitud confirmó la monofilia de la familia Bromeliaceae, así como de seis de sus ocho subfamilias. Ninguno de los subgéneros actualmente reconocidos para *Tillandsia* fueron recuperados como monofiléticos. En relación a estudios previos nuestro muestreo incrementó en ca. 155% el número de especies de *Tillandsia* mexicanas incluidas en análisis filogenéticos. En total se analizaron 112 especies de *Tillandsia* s.s. con distribución en México, 94 de ellas se agruparon dentro del clado K y corresponden a especies pertenecientes mayoritariamente al subgénero *Tillandsia* y en menor proporción (7.21%) al subgénero *Allardtia*. Un 59.3% del total de especies que integran el clado K son endémicas a México. Otras 18 especies mexicanas se recuperaron fuera del clado K asociadas a especies Centro y Sudamericanas de los subgéneros *Allardtia*, *Phytarrhiza*, *Pseudalcantarea* y *Tillandsia*. Nuestro contexto filogenético sugiere una invasión importante de *Tillandsia* a los bosques húmedos de montaña tropical de México, cuya variación ambiental pudo haber promovido altas tasas de especiación en el grupo resultando en la gran diversidad específica actual de *Tillandsia* en México. Adicionalmente, el alto endemismo observado al interior del clado K sugiere que una buena parte de la historia evolutiva de dicho linaje se desarrolló en el territorio nacional.

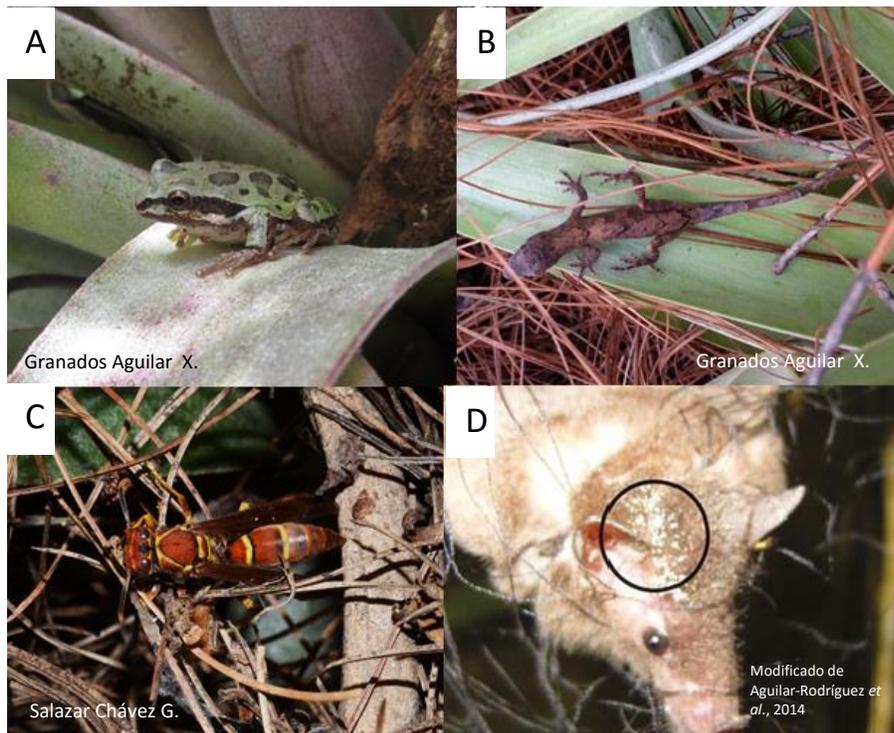
Introducción

Tillandsia L. es el género más diverso dentro de la familia Bromeliaceae (familia de la piña), con más de 620 especies (Luther, 2008), muchas de ellas ornamentales, distribuidas exclusivamente en el Neotrópico (Smith and Downs, 1977; Smith and Till, 1998). En México el género cuenta con alrededor de 192 especies, de las cuales 172 (74.13%) son endémicas al país (Espejo-Serna y López-Ferrari, 2004), por ello es uno de los géneros de monocotiledóneas más diversos y emblemáticos de México (Espejo-Serna, 2012).

Las especies del género *Tillandsia* son en su mayoría epífitas, pero también las hay rupícolas o terrestres, y conforman uno de los principales componentes epífitos en diversos tipos de vegetación en México (Espejo-Serna and López-Ferrari, 1998; Espejo-Serna, 2012; Figura 1). Las tillandsias poseen adaptaciones fisiológicas y morfológicas altamente especializadas, como la fotosíntesis CAM y la presencia de tricomas peltados que les facilitan la absorción de agua y nutrientes permitiéndoles habitar en una gran variedad de ambientes (Givnish *et al.*, 2011). Sus rosetas tipo tanque acumulan agua, proporcionando alimento y refugio para muchos organismos del dosel incluyendo colibríes, murciélagos, ratones, hormigas, avispas, arañas, ranas, lagartijas, salamandras, serpientes, escorpiones, algas y microorganismos (Benzing, 1970; Dejean *et al.*, 1995; Gomes-da-Silva and Ferreira da Costa, 2013; Aguilar-Rodríguez *et al.*, 2014; Figura 2).

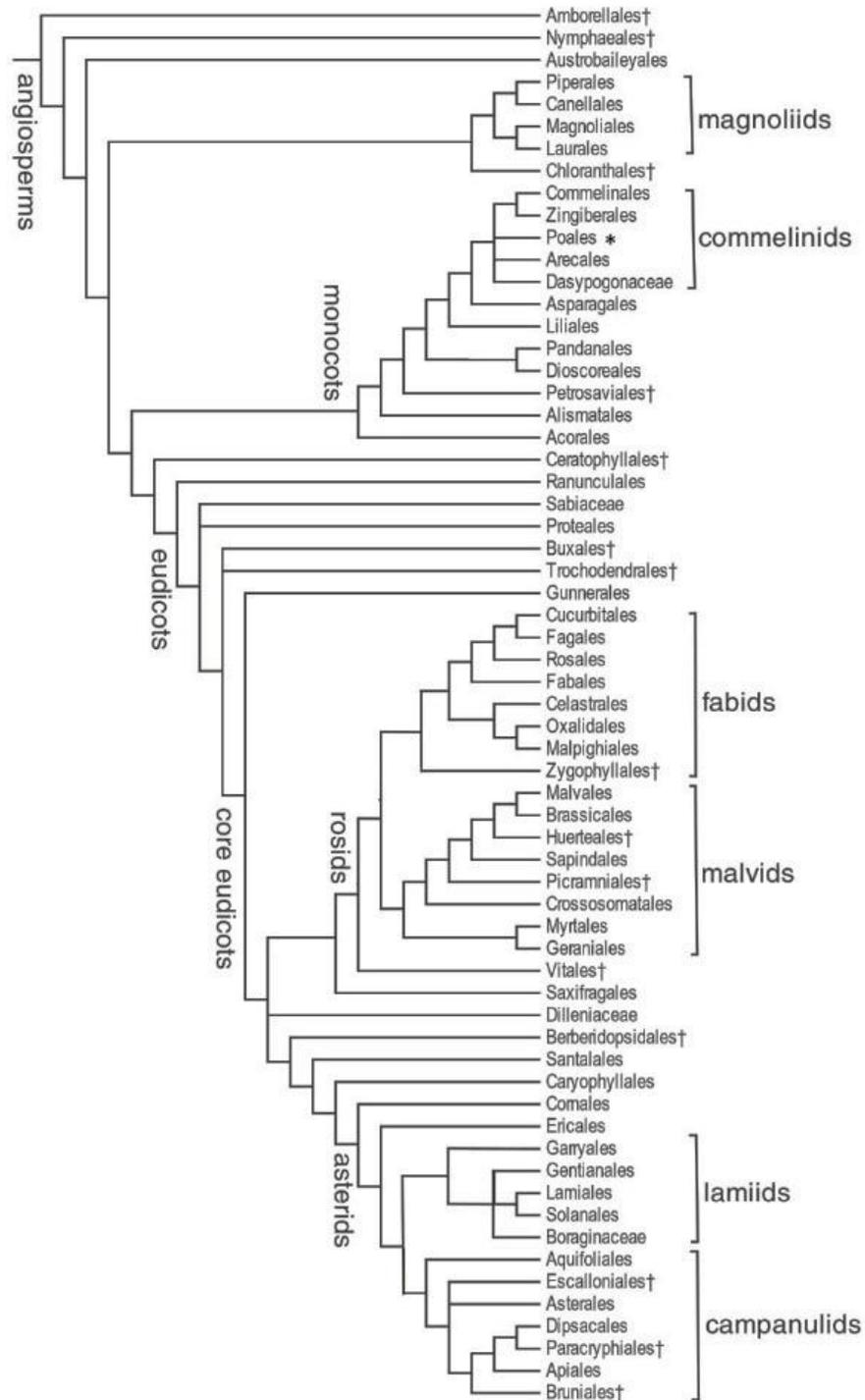


1. Hábito epífita en A) *Tillandsia schiedeana*. (Granados Aguilar, 3, Oaxaca) y B) *Tillandsia gymnotrya* (Granados Mendoza *et al.*, 2016-1, Puebla).



2. Animales asociados a especies de *Tillandsia*. A) Rana habitante del tanque de *Tillandsia cossonii* (Salazar Chávez *et al.*, 9410, Michoacán); B) Lagartija habitante en rosetas de *T. cossonii* (Granados Aguilar *et al.*, 51, Oaxaca,); C) Especie de avispa que construye su nido entre la roseta de *T. bourgaei* (Salazar Chávez *et al.*, 9343, Tlaxcala) y D) *Anoura geoffroyi* con granos de polen presumiblemente de *T. macropetala*.

La familia Bromeliaceae se clasifica en el orden de monocotiledóneas Poales que pertenece al grupo de los Comelinidos (APG III, 2009; Figura 3), al ser Thyphaceae su familia hermana. Tradicionalmente, la familia Bromeliaceae se dividió en tres subfamilias: 1) Bromelioideae, 2) Pitcairnioideae, y 3) Tillandsioideae distinguidas por caracteres morfológicos como el hábito, la posición del ovario y el tipo de fruto (Smith y Downs, 1977). Sin embargo, estudios filogenéticos recientes sugieren la división de la familia en ocho subfamilias: 1) Brocchinioideae, 2) Bromelioideae, 3) Hechtioideae, 4) Lindmanioideae, 5) Navioideae, 6) Pitcairnioideae, 7) Puyoideae, y 8) Tillandsioideae (7; Givnish *et al.*, 2007; Gomes-da-Silva y Ferreira da Costa, 2013). Entre ellas, la subfamilia Tillandsioideae se distingue por su hábito principalmente epífita, hojas con márgenes enteros, ovario súpero, una cápsula como fruto y semillas con un apéndice basal plumoso (Dahlgren *et al.*, 1985; Smith y Downs, 1977). Actualmente, la subfamilia Tillandsioideae está dividida en las tribus Catopsidae, Glomeropitcairnieae, Vrieseae, y Tillandsieae (Barfuss *et al.*, 2005; Gomes-da-Silva y Ferreira da Costa, 2013). La tribu Tillandsieae incluye a los géneros *Guzmania* Ruiz & Pav., *Mezobromelia* L.B. Sm., *Racinaea* M.A. Spencer & L.B. Sm., *Tillandsia*, y *Viridantha* Espejo (Barfuss *et al.*, 2005). Mientras que *Guzmania* y *Mezobromelia* forman dos linajes distintos, las especies de los géneros *Racinaea* y *Viridantha* se encuentran inmersas dentro de un clado pobremente resuelto que contiene en su mayoría especies de *Tillandsia* sensu stricto., que sugiere la parafilia de este último género (Gomes-da-Silva y Ferreira da Costa, 2013).



3. Ubicación del orden Poales en las plantas con flores. Contexto filogenético tomado de (APG III, 2009).

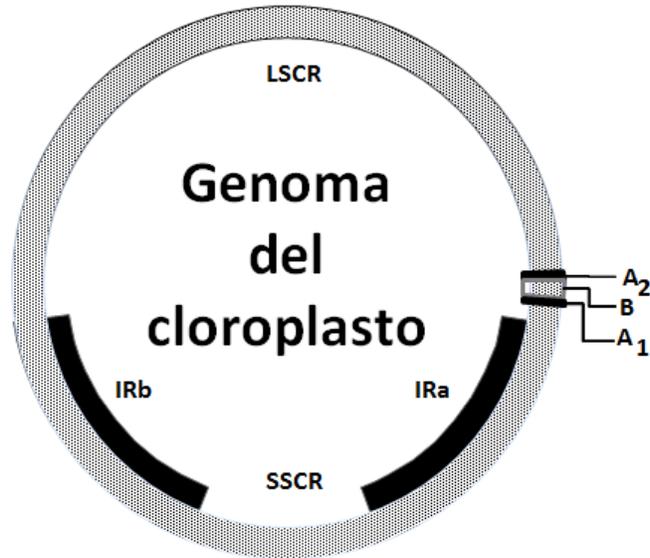
Morfológicamente *Tillandsia* s.s. se ha definido como plantas con crecimiento modular, con raíces adventicias para su anclaje al forofito, tallos con entrenudos cortos, hojas con tricomas absorbentes, inflorescencias terminales, flores perfectas con dos sépalos posteriores y uno anterior, corola tubular abierta o parcialmente cerrada, actinomorfas o zigomorfas con pétalos ligulados o espatulados, fruto una capsula septicida y elipsoide; y semillas con apéndices plumosos (Smith y Downs, 1977; Gardner, 1982.). El género *Tillandsia* s.s. se ha clasificado tradicionalmente en seis subgéneros: 1) *Allardtia*, 2) *Anoplophytum*, 3) *Diaphoranthema*, 4) *Phytarrhiza*, 5) *Pseudalcantarea*, y 6) *Tillandsia* (Barfuss *et al.*, 2005). Sin embargo, ninguno de estos subgéneros ha sido recuperado como monofilético en estudios filogenéticos recientes que usaron datos tanto morfológicos como moleculares (Barfuss *et al.*, 2005; Donadio *et al.*, 2014).

El trabajo de Barfuss *et al.* (2005) presentó el muestreo taxonómico y de loci más extenso hasta la fecha para Tillandsioideae y proporcionó un excelente contexto filogenético base para la subfamilia. Barfuss *et al.* (2005) identificaron un linaje denominado clado K (BS=100 y PP=1) conformado por especies distribuidas principalmente en México y en otros países de Centroamérica pertenecientes a los subgéneros *Tillandsia* (9 especies) y *Allardtia* (2 especies). Posteriormente, Granados Mendoza (2008) incorporó otras especies en su análisis encontrando que el clado K además incluye 18 especies adicionales también distribuidas en México y clasificadas en los subgéneros *Tillandsia* (17 especies) y *Allardtia* (1 especies).

La mayoría de los estudios filogenéticos que incluyen especies de *Tillandsia* han usado secuencias de ADN provenientes del genoma del cloroplasto como

fuerza primordial de información molecular, estos incorporan los genes *ndhF* y *rbcL*; los intrones de los genes *rps16* y *trnL*; los espaciadores intergénicos *atpB-rbcL*, *psbA-trnH*, *rbcL-accD* (parcial), *rpl32-trnL*, *trnD-trnT*, *trnH-psbA* y *trnL-trnF*; y la región completa o parcial de *matK-trnK* (Barfuss *et al.*, 2005; Donadío, 2012; Givnish *et al.*, 2011; Givnish *et al.*, 2007, p. 200; Granados-Mendoza, 2008; Horres *et al.*, 2000). Otros marcadores empleados menos frecuentemente son los espaciadores internos y externos transcritos (ITS y ETS, respectivamente) y el gen 5.8S del ADN ribosomal nuclear (Chew *et al.*, 2010; Donadío, 2012)

La región del *matK-trnK* ha sido consistentemente utilizada en estudios filogenéticos de la familia Bromeliaceae y son una valiosa fuente de información molecular ya que se encuentran disponibles numerosas secuencias en bases públicas como el GenBank. Dicha región está localizada en la porción grande de una sola copia del genoma del cloroplasto y está conformada por el gen *matK*, que codifica para una proteína madurasa involucrada en la eliminación de los intrones del tipo II de los transcritos de ARN, y sus regiones flanqueantes correspondientes al intrón del gen *trnK*, que codifica para el ARN de transferencia de la lisina (Figura 4; Soltis y Doyle, 1998; Granados-Mendoza, 2008). Dicha estructura provee a la región del *matK-trnK* de propiedades de variabilidad únicas ya que presenta una combinación de subregiones codificantes y no codificantes con una tasa de sustitución seis veces más alta que la del gen *rbcL* (Steele y Vilgalys, 1994), el gen del cloroplasto más utilizado en estudios filogenéticos de plantas con flores.



4. Representación esquemática del genoma del cloroplasto en angiospermas modificado de (Granados Mendoza *et al.*, 2013). A1= porción 5' del gen *trnK*, A2= porción 3' del gen *trnK*, B= gen *matK*, LSCR= región grande de una sola copia (Large Single Copy Region), SSCR= región pequeña de una sola copia (Small Single Copy Region), IRa= repetición invertida a (Inverted repeat a) y IRb= repetición invertida b (Inverted repeat b).

En la subfamilia Tillandsioideae la región del *matK-trnK* presenta una longitud aproximada de 1800pb, de las cuales un 24.1% corresponden a sitios variables (Barfuss *et al.*, 2005). Estas características proporcionan a la región del *matK-trnK* la variabilidad necesaria para resolver relaciones filogenéticas a niveles profundos dentro de la subfamilia, es decir entre los principales linajes de Tillandsioideae. Pese a que la región *matK-trnK* no presenta la variabilidad suficiente para resolver relaciones filogenéticas más someras (i.e. entre especies estrechamente relacionadas), la información que proporciona ha permitido establecer un contexto filogenético de referencia para la subfamilia, al permitir el reconocimiento de clados principales como lo es el clado K de Barfuss *et al.* (2005), conformado esencialmente por especies distribuidas en México y Centroamérica.

Del total de 192 especies de *Tillandsia* documentadas para México, únicamente 66 se han incluido en estudios filogenéticos previos (Barfuss *et al.*, 2005; Givnish *et al.*, 2011; Granados-Mendoza, 2008; Terreros Olivares, 2012). El presente estudio tiene como finalidad determinar la posición filogenética de la mayor cantidad posible de especies de *Tillandsia* presentes en México que hasta hoy no han sido incluidas en análisis filogenéticos previos. En particular, el interés es determinar el tamaño y composición del clado K previamente identificado por Barfuss *et al.* (2005). Debido al alto nivel de endemismo del género *Tillandsia* en México, se tiene especial interés en conocer si las especies endémicas a México se ubican al interior del clado K. Como marcador molecular de referencia se utiliza la región del *matK-trnK* de la cual se cuenta ya con un número considerable de secuencias disponibles en GenBank y que además presenta el nivel de variación adecuado para establecer la posición de las especies de *Tillandsia* presentes en México dentro de un contexto filogenético global de la subfamilia Tillandsioideae.

Hipótesis

1. La mayor proporción de especies de *Tillandsia* distribuidas en México conforman un grupo natural o monofilético.

2. Las especies de *Tillandsia* endémicas a México se ubican principalmente dentro del clado México-Centroamericano identificado previamente por Barfuss *et al.* (2005).

Objetivos

1. Determinar la posición filogenética del mayor número posible de especies de *Tillandsia* presentes en México que aún no han sido incorporadas a estudios filogenéticos.

2. Determinar el tamaño y composición del clado K de *Tillandsia* identificado previamente por Barfuss *et al.* 2005.

3. Establecer la posición filogenética de las especies de *Tillandsia* endémicas a México.

Materiales y métodos

Definición del grupo de estudio

El grupo de estudio se extiende a las especies de *Tillandsia* s.s. presentes en México, sin embargo puesto que *Tillandsia* s.s. es uno de los géneros más diversos de México (i.e. 192 especies; Espejo-Serna y López-Ferrari, 2004), se plantea un muestreo lo más denso posible sin pretender abarcar la totalidad de su diversidad. Adicionalmente, y debido a que *Tillandsia* s.s. es un grupo parafilético, también serán incluidas especies de los géneros *Racinaea* y *Viridantha* presentes en el país.

Revisión bibliográfica

Para obtener información sobre la distribución de especies de *Tillandsia* s.s., *Racinaea* y *Viridantha* en México se realizó una revisión bibliográfica de diferentes listados taxonómicos y trabajos florísticos, (Diego-Escobar, 2005; Espejo-Serna *et al.*, 2005, 2007, 2010; Figueroa-Brito y Guzmán-Rivera, 2005; González Rocha, 2014; Lloyd F., 1991; Luther, 2008; Ramírez-Morillo *et al.*, 2004; Smith y Downs, 1977; Terreros Olivares, 2012), así como bases de datos públicas (unibio.unam.mx, tropicos.org, gbif.org y encyclopedia.florapix.nl).

Revisión de herbarios

Se consultaron las colecciones del Herbario Nacional de México (MEXU) y el herbario de la Facultad de Ciencias (FCME) de la Universidad Nacional Autónoma

de México (UNAM), para cotejar ejemplares, compilar información sobre las especies (distribución y fenología) y obtener tejido para la extracción de ADN de especies que no pudieron recolectarse en campo.

Colecta e identificación de ejemplares botánicos

Se realizaron viajes de campo a estados con alta diversidad de especies de la familia Bromeliaceae (Espejo-Serna y López-Ferrari, 2004), se incluyeron Chiapas, Michoacán, Oaxaca, Puebla y Tlaxcala. En ellos se registró información sobre el hábitat, forofito, coloración de las partes vegetativas y reproductivas, así como la arquitectura de la inflorescencia, caracteres que se pierden durante el proceso de herborización. Adicionalmente, los ejemplares colectados fueron fotografiados en su hábitat natural, se incluyó morfología general, hábito y detalles florales. También se fijaron flores en alcohol y se tomaron muestras de tejido (hojas o brácteas) para la extracción de ADN. El tejido para extracción de ADN fue lavado con jabón y abundante agua para evitar la posible contaminación por hongos o algas. El tejido ya limpio fue cortado en fragmentos de 1×1 cm y posteriormente secado en gel de sílice.

Todos los ejemplares voucher fueron depositados en el Herbario Nacional de México (MEXU). La determinación a nivel de especie fue realizada por medio de claves de identificación y literatura taxonómica disponible actualmente (Diego-Escobar, 2005; Espejo-Serna *et al.*, 2005, 2010; Espejo-Serna y López-Ferrari, 2014; González Rocha, 2014; Ramírez-Morillo *et al.*, 2004; Smith y Downs, 1977;

Terreros Olivares, 2012). También se consultaron los ejemplares tipo disponibles a través de JSTOR Global Plants (plants.jstor.org).

Depósito de ejemplares en colecciones vivas

Dentro de lo posible, los ejemplares vivos fueron depositados en la colección de bromelias vivas del Centro Universitario de Conservación e Investigación de Bromelias Mexicanas (CUCIBROM) para posteriores consultas. El CUCIBROM perteneciente a las Líneas de Investigación Forestal y Biodiversidad del Programa de Investigación Sierra Nevada de la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM), está resguardado por el Centro para la Sustentabilidad Incalli Ixcahuicopa (CENTLI) ubicado en Tlalmanalco, Estado de México. El CUCIBROM cuenta actualmente con más de 50 especies de Bromeliaceae de origen mexicano, es una valiosa fuente de tejidos vegetales y una colección de referencia para el presente estudio. Material adicional fue obtenido por medio de colectas proporcionadas por otros recolectores botánicos nacionales (Anexo 2).

Métodos moleculares

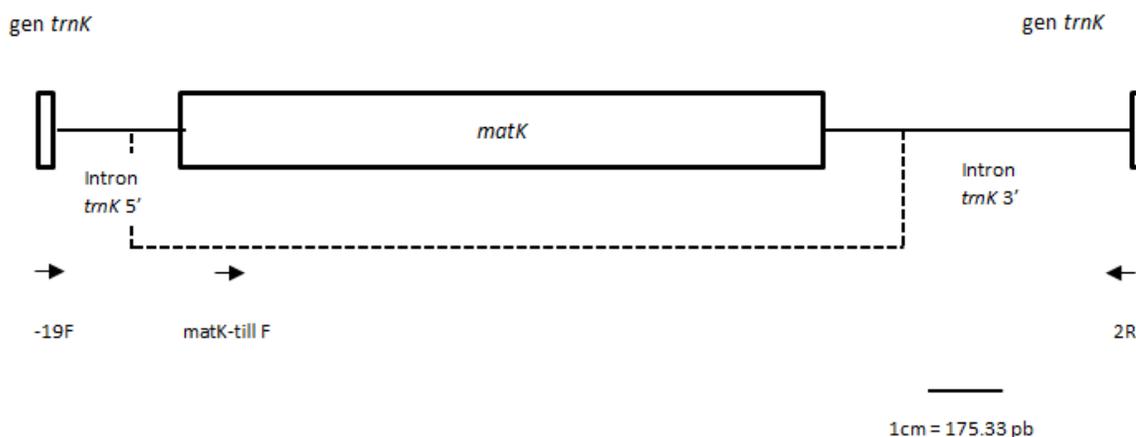
Extracción de ADN

Se extrajo ADN de tejido fresco o seco en gel de sílice, mediante una modificación del protocolo de 2× CTAB descrito por Doyle y Doyle, (1987). El tejido vegetal fue molido en nitrógeno líquido con la ayuda de un pistilo y mortero hasta obtener un polvo fino. El tejido ya molido fue trasladado a un tubo eppendorf de 1.5 mL. Posteriormente a cada muestra se le agregó una mezcla de 700 µL de CTAB

con 0.4% de 2-mercaptoetanol previamente calentada a 65°C y 7µL de RNasa A (Quiagen). Dicha mezcla se incubó a 65°C durante 45 minutos. Posteriormente se agregaron 35µL de proteinasa K (1mg/mL) y se procedió a una segunda incubación a 50°C durante 45 minutos. La extracción se realizó dentro de la campana de flujo laminar con 600µL de SEVAG, una solución de cloroformo y alcohol isoamílico 24:1), se mezcló suavemente el tubo y dejando escapar el gas. A continuación las muestras se colocaron en un agitador a velocidad moderada durante 15 minutos. Después los tubos fueron centrifugados a 9,000 RPM durante 10 min. El sobrenadante resultante fue transferido a un tubo nuevo de 1.5 µL, teniendo cuidado de no incluir la fase del tejido y la capa de aceite. La precipitación se realizó con 2/3 del volumen del sobrenadante recuperado de etanol absoluto pre-enfriado a -20°C, se mezcló por inversión suave del tubo hasta observar el enturbiamiento de la mezcla. El extracto se dejó reposar a -20°C por 24 horas. Subsecuentemente, se centrifugó a 13,000 RPM durante 5 minutos y se descartó el alcohol absoluto, se tuvo cuidado de no perder el pellet formado. Se realizaron cuatro lavados con 500 µL de alcohol al 70% y centrifugando a 13,000 RPM durante 3 minutos. Por último, el precipitado fue secado en la centrifuga de vacío por 15 minutos a temperatura ambiente y se resuspendió en 55µL de buffer AE (Quiagen). La presencia de ADN fue comprobada mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% teñido con GelRed (Biotium). El ADN fue almacenado a -20°C para su posterior uso.

Amplificación y secuenciación de la región del cloroplasto *matK*

En todos los casos, la pieza completa de la región *matK* fue amplificada usando los primers externos -19F (Molvray *et al.*, 2000) y 2R (Steele y Vilgalys, 1994). La secuenciación de la pieza completa fue realizada con los primers anteriores, así como un nuevo primer interno específico para *Tillandsia*, nombrado matK-till F (5' AAATCTTGGTTCAAATCCTTCAAT 3'), diseñado para el presente trabajo. Dicho primer se localiza en la porción 5' del gen *matK*. El nuevo primer permitió la secuenciación de la pieza completa de la región del *matK-trnK*, ya que en pocos casos no se logró el solapamiento de las secuencias obtenidas con los primers externos disponibles. La porción de la región del *matK-trnK* aquí amplificada abarca al gen *matK* completo y porciones los intrones 5' y 3' del gen *trnK* (5). Para la amplificación de la región *matK-trnK* se llevaron a cabo reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) usando el kit comercial Taq PCR Core Kit de Qiagen en volúmenes de 15 µL con la mezcla presentada en el cuadro A.



5. Diagrama de la porción de la región del *matK-trnK* amplificada en el presente trabajo. Las flechas muestran la posición de los primers externos e interno empleados.

La amplificación fue realizada en un termociclador Applied Biosystems® GeneAmp® PCR System 9700 con un programa que incluye una desnaturalización inicial a 94°C durante 2.5 minutos; seguido por 30 ciclos de desnaturalización a 94°C durante 1 minuto, hibridación a 52°C durante 45 segundos y elongación a 72°C durante 1 minuto; posteriormente se aplicó una extensión final a 72°C por 7 minutos (cuadro B).

A. Reactivos y volúmenes utilizados para la amplificación de la región *matK-trnK*.

Reactivos	Volúmenes
H ₂ O	11.625 µL
PCR Buffer 10X	1.5 µL
Suero de albúmina bovina (BSA)	0.6 µL
DNTP's Mix 10 mM de cada dNTP	0.3 µL
Primer Forward 10 pmol/µL	0.15 µL
Primer Reverse 10 pmol/µL	0.15 µL
MgCl ₂ 25 mM	0.3 µL
DMSO 4% vol/vol	0.3 µL
Taq DNA Polimerasa 5 U/µL	0.075 µL
ADN genómico	0.5 uL-1 uL

B. Programa de PCR utilizado para la amplificación de la región *matK-trnK*.

	Temperatura	Tiempo	
Desnaturalización inicial	94°C	2.5 min	
Desnaturalización	94°C	1 min	30 ciclos
Hibridación	52°C	45s	
Extensión	72°C	2.5 min	
Extensión final	72°C	7 min	

La calidad de cada producto de PCR fue evaluado en gel de agarosa al 1% teñido con GelRed. Aquellos productos que presentaron baja calidad, bandas poco visibles o ausencia de estas, se repitió el procedimiento con mayor cantidad de ADN. La secuenciación y limpieza de los productos de PCR se llevó a cabo en el Laboratorio de Secuenciación Genómica de la Biodiversidad y la Salud del Instituto de Biología de la UNAM.

Edición de secuencias y alineamiento

La edición de secuencias fue realizada con la ayuda del programa Sequencher versión 4.9 (Genes Codes Corp.). El alineamiento de las secuencias fue inicialmente realizado con la versión en línea del programa MAFFT versión 7 (<http://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>) y posteriormente afinado manualmente.

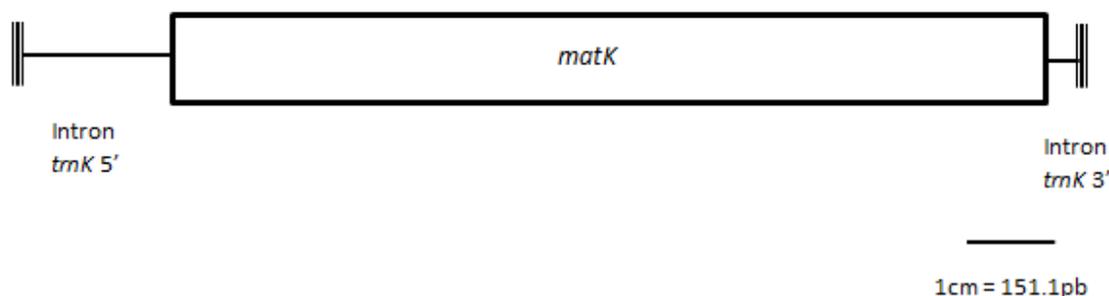
Análisis filogenéticos y edición de árboles

Se realizaron análisis filogenéticos usando el método de Máxima Verosimilitud para las siguientes particiones: 1) la región del *matK-trnK* completa, 2) el gen *matK* y 3) el intron *trnK*. Dichos análisis fueron realizados con la versión en línea del programa IQ-Tree versión 1.3.13 (<http://iqtree.cibiv.univie.ac.at/>) y se usó la opción de “Auto”, que permite al programa determinar el modelo de sustitución que mejor se ajuste a los datos. El apoyo bootstrap fue calculado al aplicar 1000 réplicas, se utilizó el algoritmo “Ultrafast”. Para facilitar su visualización, los árboles resultantes fueron convertidos a ultramétricos con el programa TreeEdit V1.1 y se usó una escala de tiempo arbitraria de 0 en las puntas de las ramas y 1 en la raíz.

Posteriormente, los árboles fueron editados con los programas FigTree versión v1.4.2. y la herramienta en línea Interactive Tree Of Life (<http://itol.embl.de/>).

Resultados

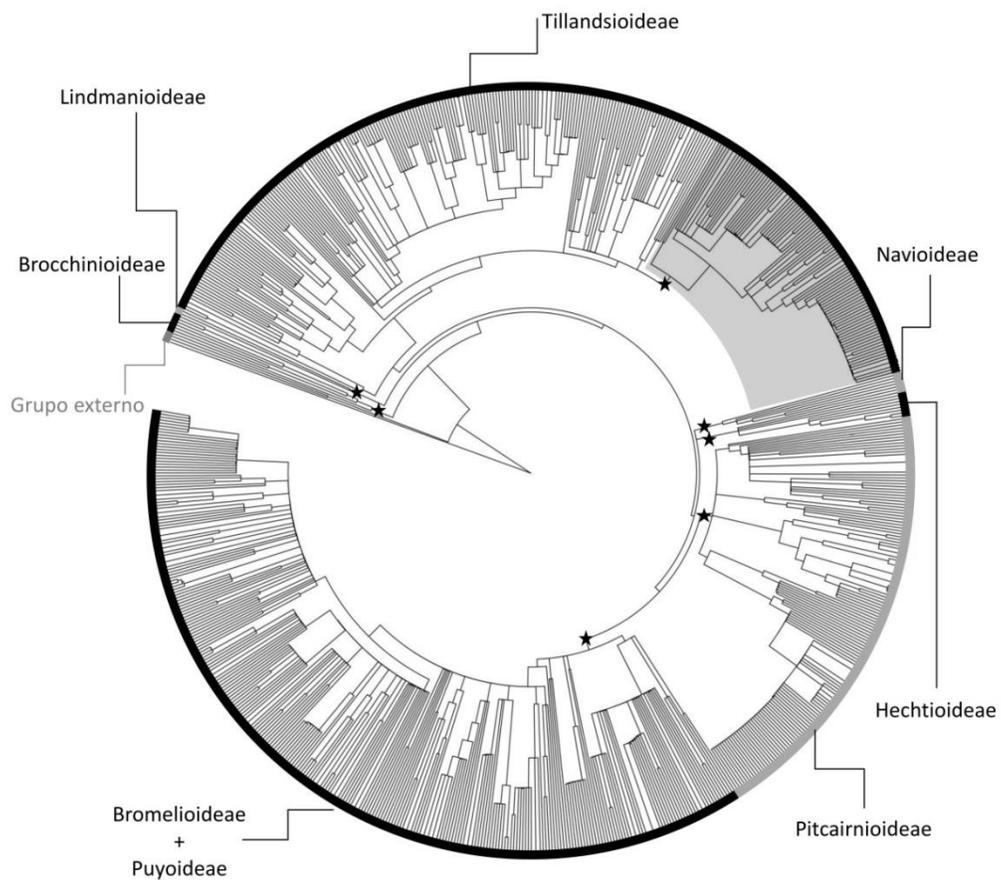
La matriz alineada completa consistió en un total de 1898 caracteres, de los cuales, 318 corresponden al intrón parcial *trnK* y 1580 al gen *matK* completo. En la especie tipo del género (*T. utriculata*) la longitud del gen *matK* fue de 1514 pb (6), mientras que en el resto de las especies la longitud de dicho gen varió entre los 1530 pb en *T. butzii* (Granados M. *et al.*, 405) y los 1504 pb en *T. dasyliriifolia* (Salazar C. *et al.*, 8886). Se analizaron un total de 773 secuencias de Bromeliaceae, de las cuales 705 corresponden a los trabajos previos de Barfuss *et al.* (2005), Donadío (2012) y Givnish *et al.* (2011). Las 68 secuencias restantes fueron generadas en el presente trabajo.



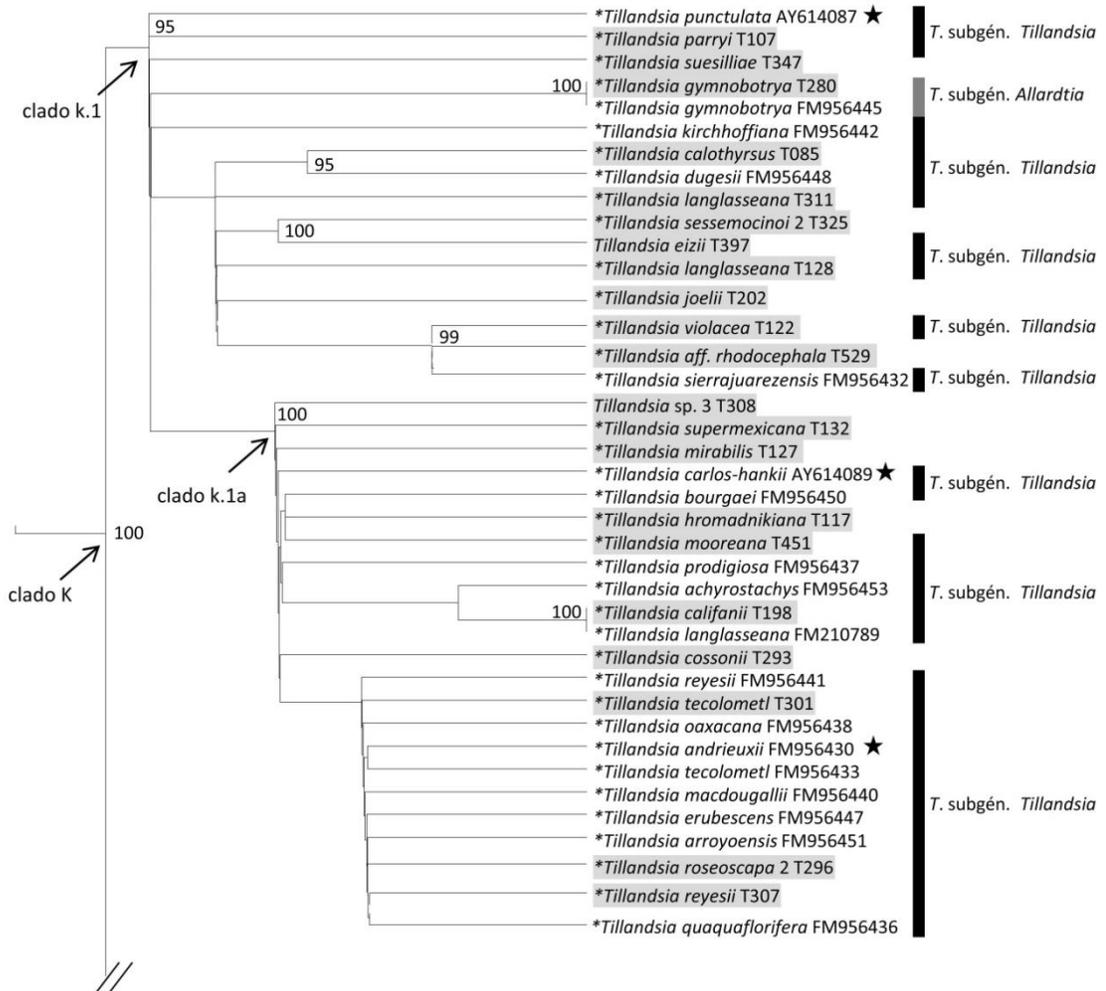
6. La región del cloroplasto del *matK-trnK* en *Tillandsia utriculata* (Torres, 17935) con una extensión total de 1744 pb, de las cuales 1514 pb corresponden al gen *matK*.

El análisis de Máxima Verosimilitud recuperó a la familia Bromeliaceae como monofilética con un apoyo Bootstrap (BS)=100 (7). Las subfamilias Brocchinioideae (BS=100), Hechtioideae (BS=98), Lindmanioideae (BS=100), Navioideae (BS=98), Pitcairnioideae (BS=95) y Tillandsioideae (BS=100) también fueron recuperadas

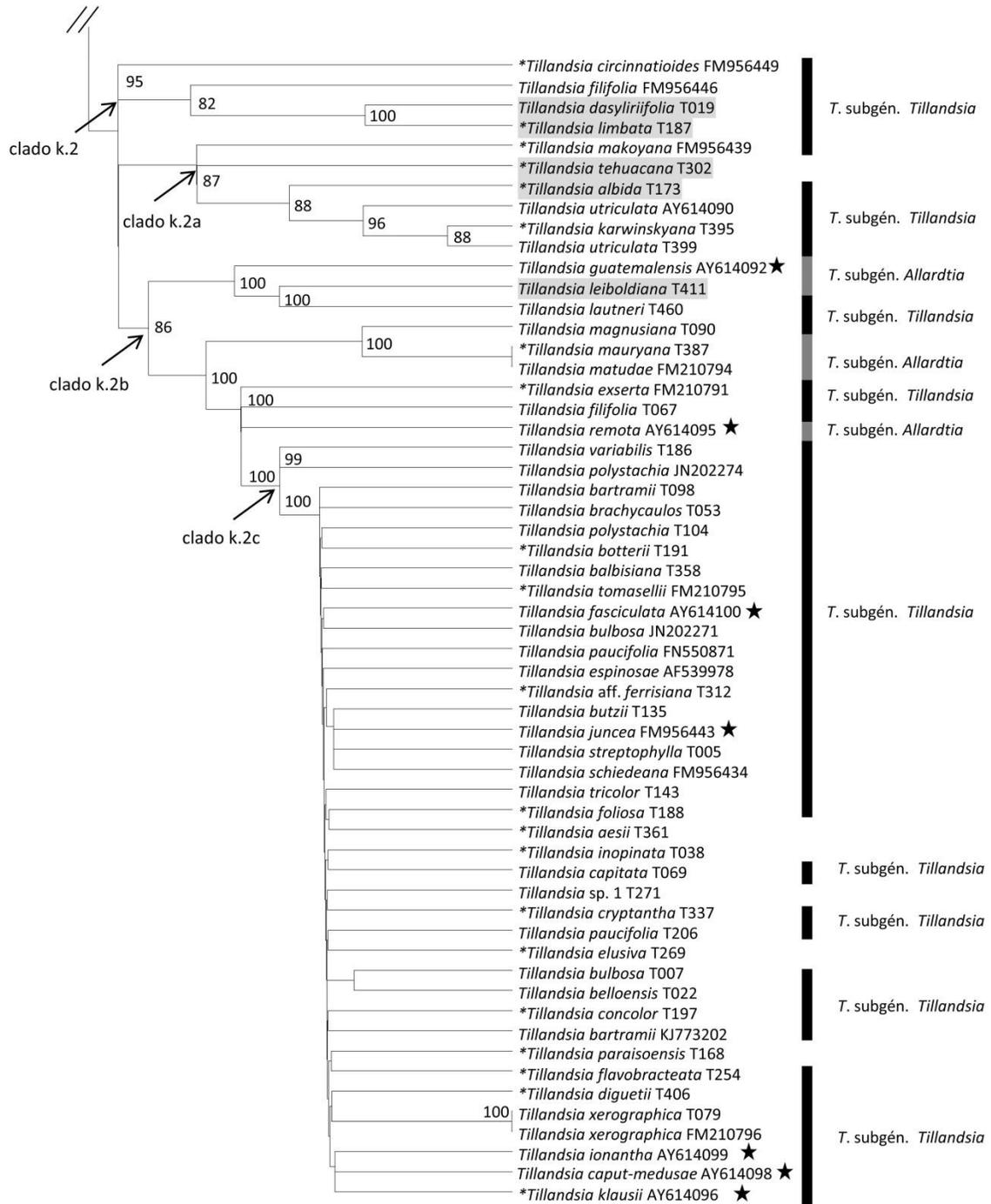
como monofiléticas, mientras que los representantes de las subfamilias Bromelioideae y Puyoideae fueron recuperados dentro de un mismo clado (BS=48) con poca resolución interna (7). Ninguno de los subgéneros de *Tillandsia* s.s. en los que se incluyeron más de una especie fueron recuperados como monofiléticos (i.e. *Allardtia*, 28 especies; *Anoplophytum*, 25 especies; *Diaphoranthema*, 63 especies; *Phytarrhiza*, 33 especies; y *Tillandsia* 97 especies; Figura 7).



7. Árbol de Máxima Verosimilitud modificado a ultramétrico con una escala de tiempo arbitraria de la región *matK-trnK* para la familia Bromeliaceae. Los nodos que subtienden las subfamilias están marcados con una estrella (todos BS≥85). El área sombreada de gris denota el clado K (BS=100).



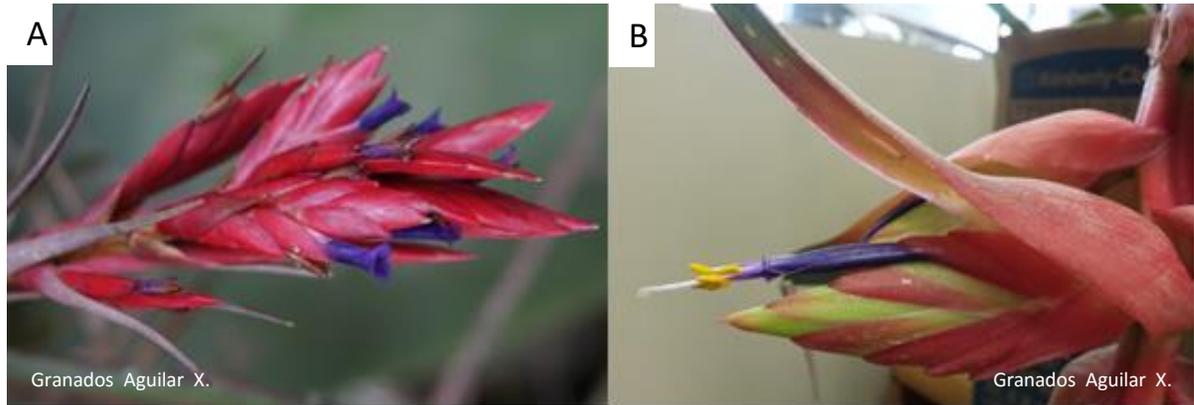
8. Acercamiento del árbol de Máxima Verosimilitud referido en la figura 7 que muestra el clado K. Las especies secuenciadas para el presente trabajo están resaltadas en gris. La clasificación subgenérica (*sensu* Smith y Downs, 1977) se muestra a la derecha con barras negras y grises. Los asteriscos indican las especies endémicas a México. Las estrellas indican las especies que previamente conformaron este clado en el trabajo de Barfuss *et al.*, 2005.



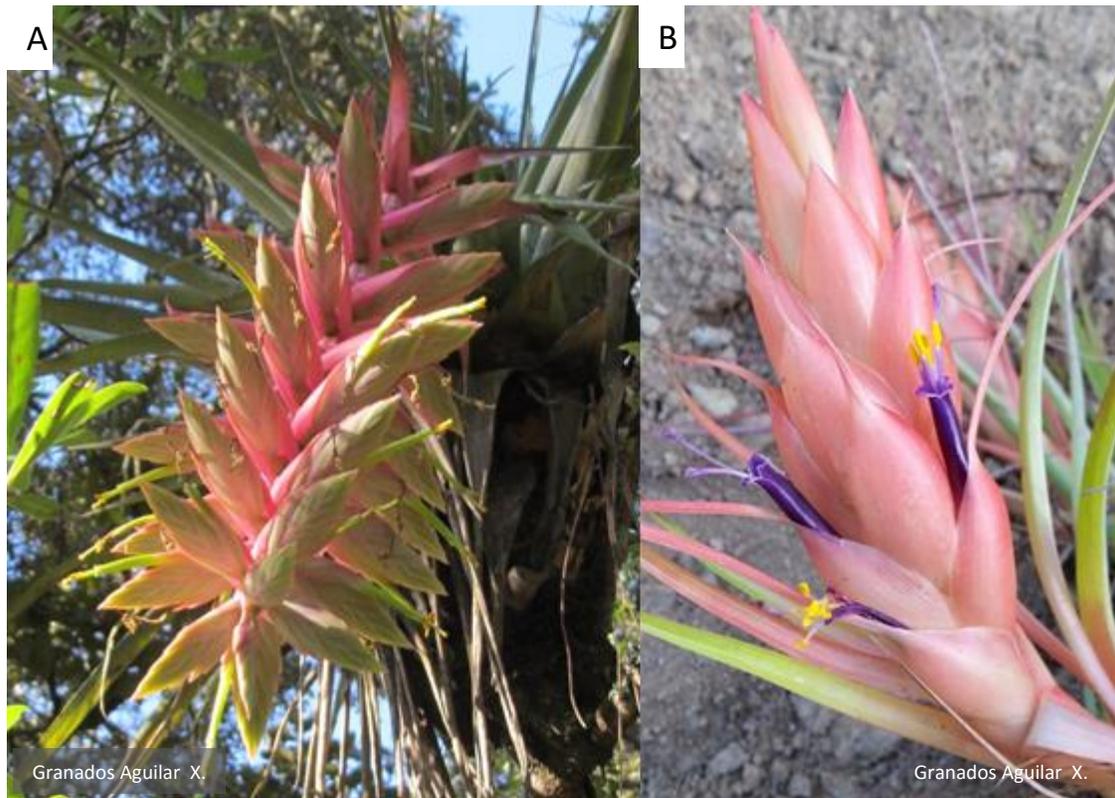
8. Continuación

En total se analizaron 112 especies de *Tillandsia* s.s. con distribución en México, la mayoría (94 especies) se agruparon en el clado K (Figura 8), abajo descrito, y 18 más fuera de éste, asociadas a otras especies Centro y Sudamericanas de los subgéneros *Allardtia*, *Phytarrhiza*, *Pseudalcantarea* y *Tillandsia* (Anexo 1).

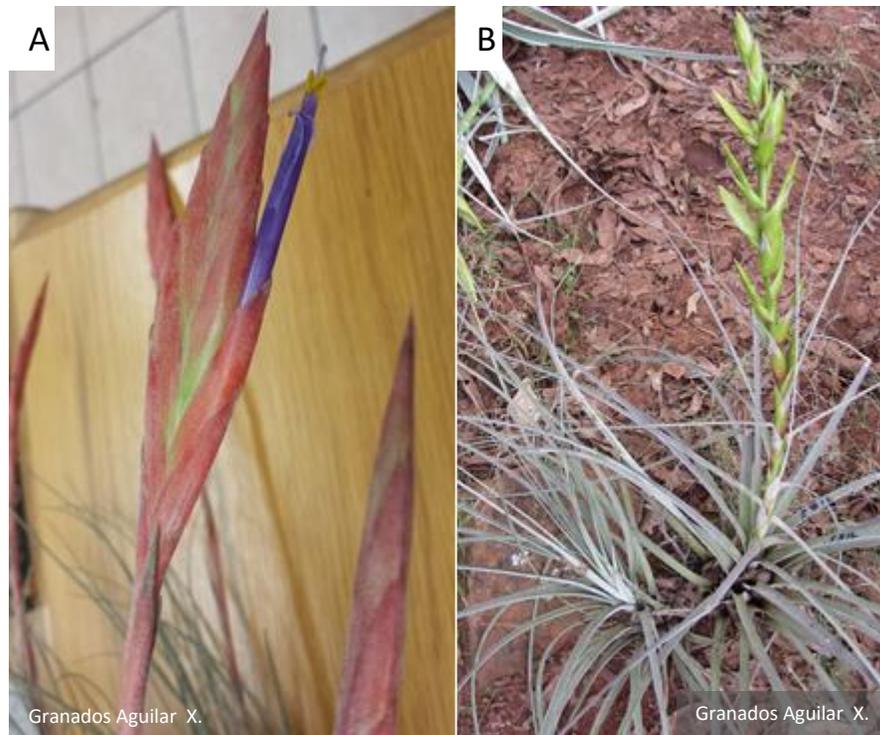
Todos los representantes del clado K previamente reconocidos por Barfuss *et al.* (2005) fueron recuperados en un clado más inclusivo (BS=100) integrado por un total de 94 especies (Figura 8) pertenecientes a los subgéneros *Tillandsia* (79 especies) y *Allardtia* (7 especies), así como otras 11 especies que aún no han sido clasificadas dentro de algún subgénero. El clado K está a su vez dividido en dos subclados altamente apoyados (BS=95), aquí nombrados como clado k.1 y clado k.2 (Figura 8). Dentro del clado k.1 se recuperó un grupo altamente apoyado (clado k.1a; BS=100; Figura 8) integrado por varias especies de inflorescencias compuestas del tipo de *Tillandsia carlos-hankii*, especies con inflorescencias simples y dísticas del tipo de *T. achyrostachys* y especies con inflorescencias simples y polísticas del tipo de *T. erubescens* (Figura 10). Otras relaciones altamente apoyadas al interior del clado k.1 son los clados de [*T. calothyrsus* + *T. dugesii*] (BS=95), [*T. sessemocinoi* + *T. eizii*] (BS= 100; Figura 11) y el grupo de *T. violacea*, *T. aff. rhodocephala* y *T. sierrajuarezensis* (BS=99; Figura 12). El resto de las relaciones recuperadas al interior del clado k.1 recibieron un apoyo bootstrap menor al 85%, con excepción de los clados conformados por las dos accesiones de *T. gymnobotrya* (BS=100) y *T. califanii* (BS=100; Figura 9).



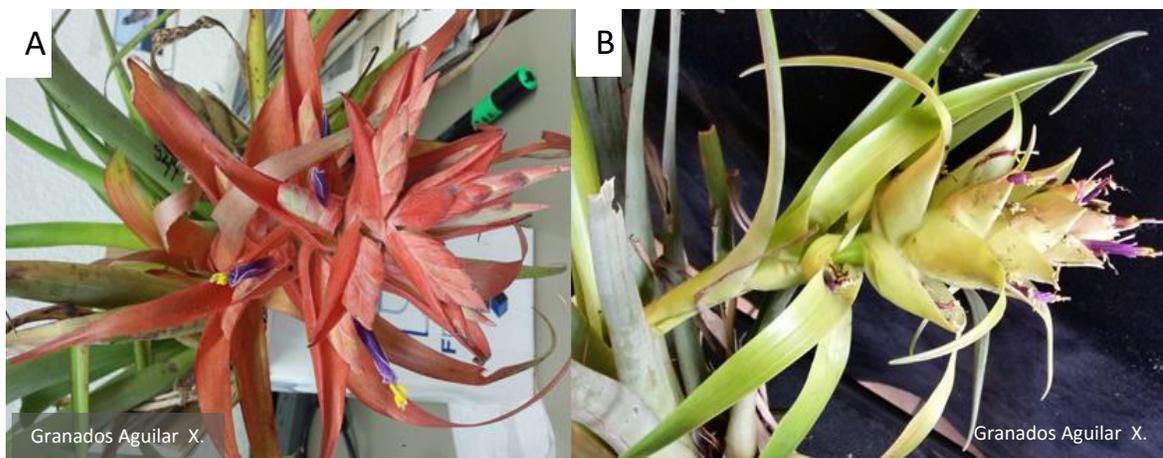
9. Especies del género *Tillandsia* pertenecientes al clado K1, A) *Tillandsia gymnotrya* (Salazar Chávez, *et al.*, 9431, Puebla) B) *Tillandsia violacea* (Jerónimo Reyes, 8568, Oaxaca).



10. Especies del género *Tillandsia* pertenecientes al clado k.1a, A) *Tillandsia prodigiosa* (Salazar Chávez, *et al.*, 9232, Michoacán) B) *Tillandsia oaxacana* (Granados Aguilar *et al.*, 29, Oaxaca)



11. Especies del género *Tillandsia* pertenecientes al clado k.1, A) *Tillandsia sessemocinoi* (Granados Mendoza Carolina *et al.*, 2015-01, Michoacán), B) *Tillandsia dugesii* (Salazar Chávez Gerardo *et al.*, 9185, Michoacán).

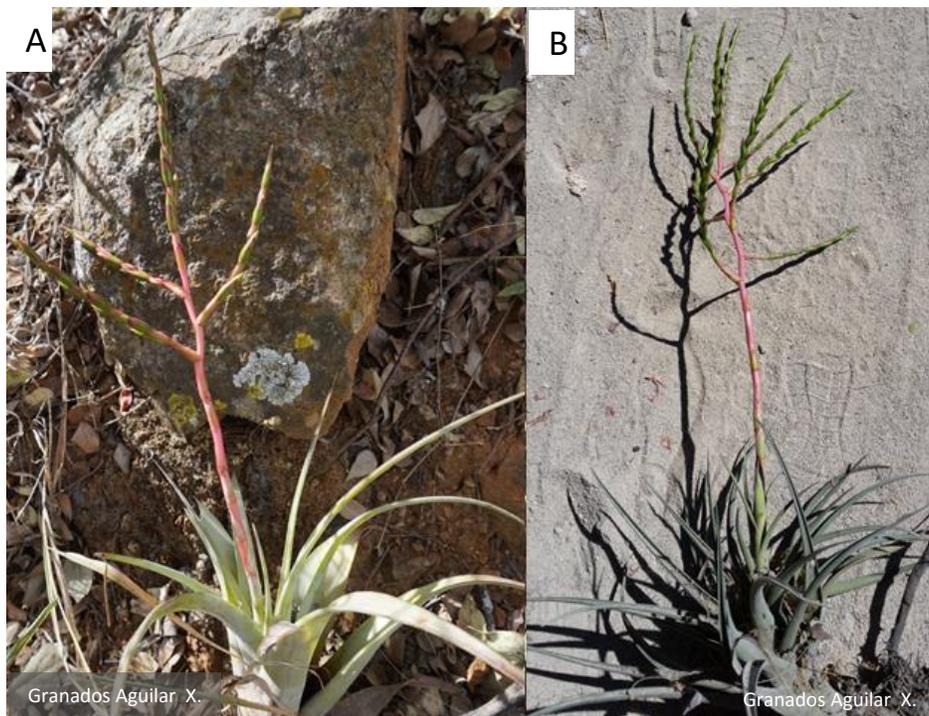


12. Especies del género *Tillandsia* pertenecientes al clado k.1 A) *Tillandsia sierrajuarezensis* (Salazar Chávez Gerardo *et al.*, 9442, Oaxaca) B) *Tillandsia* aff. *rhodocephala* (Granados Aguilar Xochitl *et al.*, 58, Oaxaca).

Al interior del clado k.2, *T. dasyliiriifolia* es recuperada como especie hermana de *T. limbata* (BS=100; Figura 13). También se recuperó el clado [*T. makoyana* [*T. tehuacana* [*T. albida* [*T. utriculata* [*T. karwinskyana* + *T. utriculata*]]]], denominado aquí k.2a, con un apoyo BS>85 tanto para el grupo, como para todas sus relaciones internas, con excepción de la posición de *T. tehuacana* (Figura 14). Así mismo, al interior del clado k.2 se recuperó un linaje altamente apoyado (BS=86), nombrado aquí como clado k.2b, conformado por 9 especies (Figura 15). Al interior del clado k.2b diverge un primer linaje (BS=100) integrado por *T. guatemalensis* como especie hermana de [*T. leiboldiana* + *T. lautneri*] (BS=100), seguido en grado (BS=100) por un clado (BS=100) donde *T. magnusiana* es especie hermana de [*T. mauryana* + *T. matudae*] (BS=100), y *T. exserta* (BS=100; Figura 16). Anidado dentro del clado k.2b también se recuperó otro linaje altamente apoyado (BS=100), identificado como clado k.2c, dentro del cual diverge un primer linaje (BS=99) conformado por *T. variabilis* y *T. polystachia*, seguido en grado por *T. bartramii* (BS=100; Figura 17). Otras relaciones altamente apoyadas al interior del clado k.2c son *T. bulbosa* como especie hermana de *T. belloensis* (BS=94), así como el clado conformado por las dos accesiones de *T. xerographica* (BS=100; Figura 18). Todas las especies contenidas al interior del clado K se distribuyen en México y Centroamérica, con excepción de *T. espinosae* que se distribuye en Ecuador y Perú.



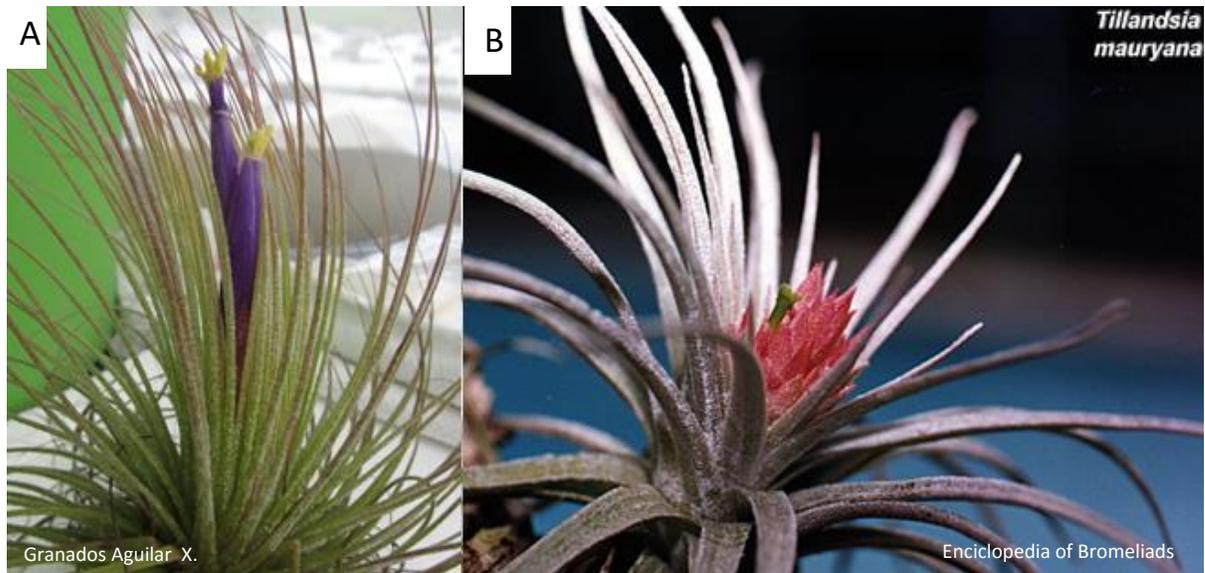
13. Especies del género *Tillandsia* pertenecientes al clado k.2, A) *Tillandsia dasyliirifolia* (Salazar Chávez Gerardo *et al.*, 8886, Chiapas) B) *Tillandsia karwinskyana* (Rafael Torres Colín, 17901, Querétaro).



14. Especies del género *Tillandsia* pertenecientes al clado k.2a, A) *Tillandsia tehuacana* (Salazar Chávez Gerardo *et al.*, 9488, Puebla) B) *Tillandsia makoyana* (Granados Aguilar Xochitl *et al.*, 35, Oaxaca).



15. Especies del género *Tillandsia* pertenecientes al clado k.2b, A) *Tillandsia lautneri* (Salazar Chávez Gerardo *et al.*, 9578, Chiapas) B) *Tillandsia guatemalensis* (Salazar Chávez Gerardo *et al.*, 9563, Chiapas).

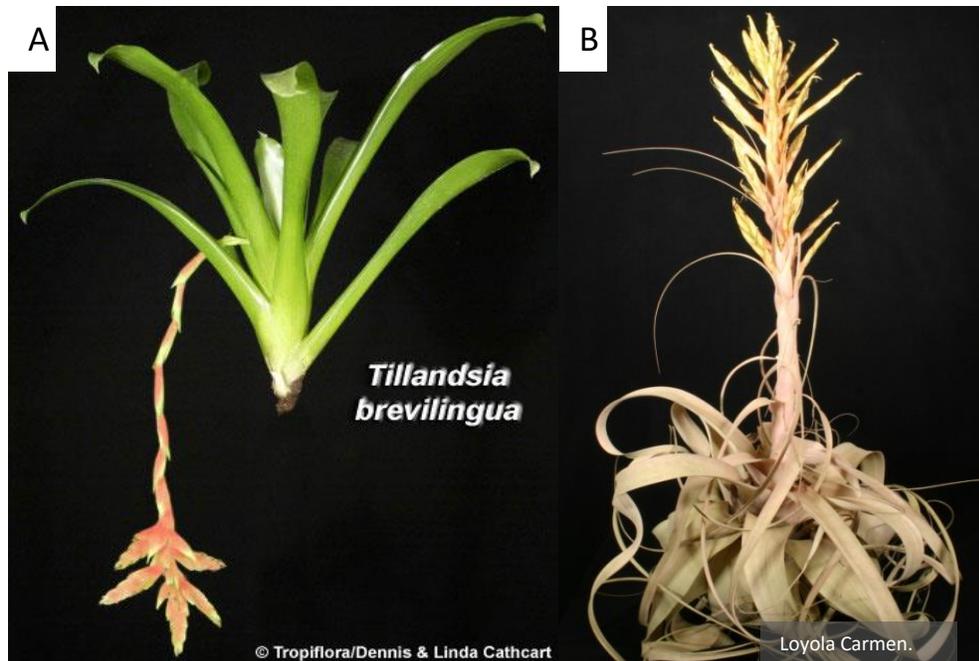


16. Especies del género *Tillandsia* pertenecientes al clado k.2b, A) *Tillandsia magnusiana* (María Flores Cruz 1815, CUCIBROM) B) *Tillandsia mauryana* (Gouda, E.J., Butcher, D. & Gouda, C.S., Enciclopedia of Bromeliads).

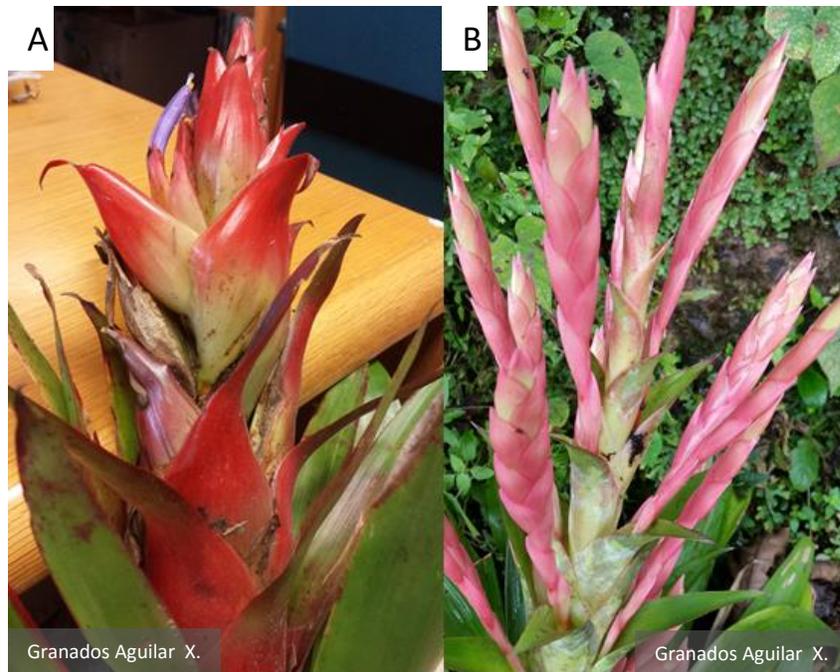
Otras especies mexicanas que no fueron recuperadas dentro del clado México-Centroamericano (clado K) se agruparon en dos linajes distintos (Figuras 21 y 22). El primero de ellos (BS=100) conformado por *T. heterophylla*, seguida en grado por *T. multicaulis* (ambas especies mexicanas) y un clado con bajo apoyo (BS=42) que a su vez se divide en un clado Caribeño-Sudamericano, donde *T. baliophylla* es especie hermana (BS= 100) de [*T. demissa* + *T. fendleri*] (BS= 100), y el clado [[*T. lucida* + *T. imperialis*] [*T. brevilingua* [*T. deppeana* + *T. ponderosa*]] integrado en su mayoría por especies mexicanas con excepción de *T. brevilingua* del Perú (Figura 18). Las relaciones al interior éste último clado recibieron un apoyo $BS \leq 85$, con excepción de la relación de hermandad entre *T. lucida* y *T. imperialis* (BS=100; Figura 18). El segundo linaje está conformado casi en su totalidad por especies distribuidas en México, con excepción de *T. tectorum* de Ecuador y el Perú. Dicho linaje se divide en dos clados, uno de ellos integrado por *T. grandis* como especie hermana de *T. viridiflora* (BS=100). El otro conformado por *T. tectorum* como especie hermana (BS=97) de un clado (BS=100) conformado por cuatro especies previamente clasificadas bajo el género *Viridantha*: [[*V. atroviridipetala* + *V. plumosa*] [*V. tortilis* [*V. tortilis* + *V. lepidosepala*]]]. Todas las relaciones al interior de éste último clado recibieron apoyos $BS \geq 85$ con excepción de la relación de hermandad entre una de las accesiones de *V. tortilis* y *V. lepidosepala*.



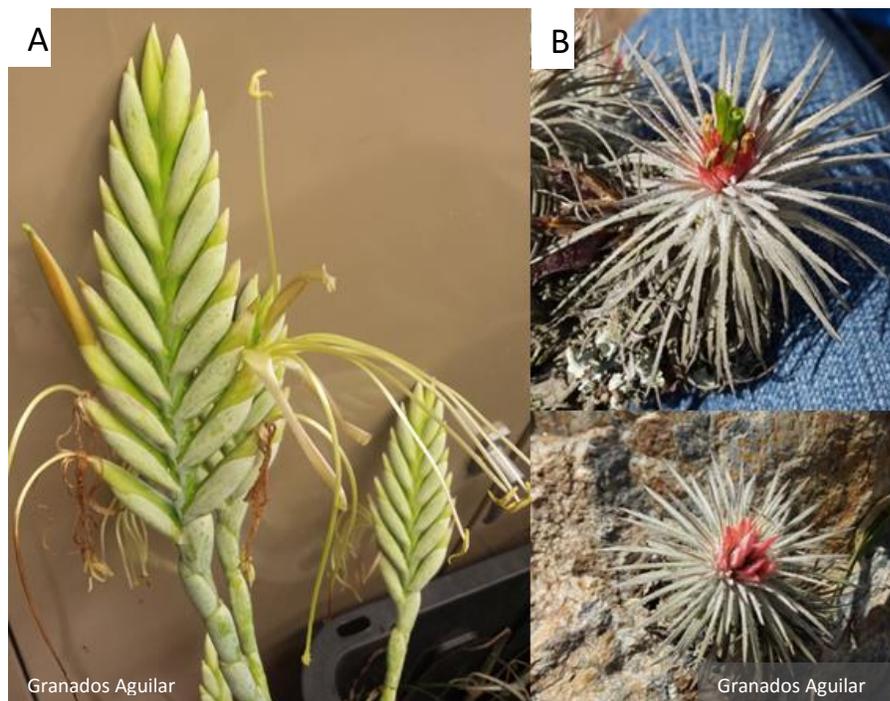
17. Especies del género *Tillandsia* pertenecientes al clado k.2c, A) *Tillandsia variabilis* (Imagen tomada de Bromeliad Encyclopedia Florida Council of Bromeliad Societies) B) *Tillandsia bartramii* (Salazar Chávez Gerardo *et al.*, 8060, Jalisco).



18. Especies del género *Tillandsia*. A) *Tillandsia brevilingua*, imagen tomada de Bromeliad Encyclopedia Florida Council of Bromeliad Societies B) *Tillandsia xerographica* perteneciente al clado k.2c (Granados Mendoza Carolina *et al.*, 318, Oaxaca).



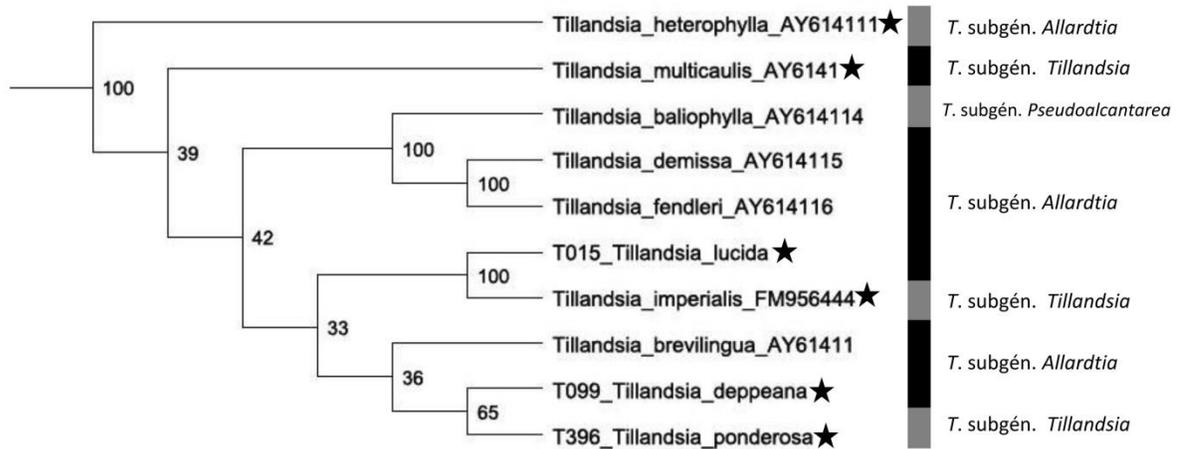
19. Especies del género *Tillandsia* pertenecientes al clado *T. heterophylla* (Figura 22) A) *Tillandsia imperialis* (Salazar Chávez Gerardo *et al.*, 9438, Oaxaca) B) *Tillandsia deppeana* (Granados Aguilar Xochitl *et al.*, 89, Puebla).



20. Especies del género *Tillandsia* pertenecientes al clado *T. grandis* (Figura 21). A) *Tillandsia grandis* (Instituto de Biología, Puebla) B) *Tillandsia atroviridipetala* (Salazar Chávez Gerardo *et al.*, 9409, Puebla).



21. Clado *Tillandsia grandis*, las estrellas indican especies endémicas, la barra lateral indica los subgéneros.



22. Clado *Tillandsia heterophylla*, las estrellas indican especies endémicas, la barra lateral indica los subgéneros.

La mayoría de las especies de *Tillandsia* endémicas a México (35 especies) fueron recuperadas dentro del clado K. Únicamente cinco especies endémicas a México no fueron recuperadas en el clado K, incluyendo a *T. plumosa*, *T. tortillis*, *T. deppeana*, *T. lepidosepala* y *T. atroviridipetala*.

Discusión

El presente estudio representa un avance importante en el conocimiento de la posición filogenética de las especies de *Tillandsia* hasta ahora reportadas para México. En relación a estudios previos (Barfuss *et al.*, 2005; Givnish *et al.*, 2007; Terry *et al.*, 1997) nuestro muestreo incrementó cerca del 155 % el número de especies de *Tillandsia* mexicanas incluidas en análisis filogenéticos. La utilidad filogenética de la región *matK-trnK* se concentró principalmente a niveles taxonómicos profundos, como es el reconocimiento y apoyo de la familia Bromeliaceae, así como de seis de sus ocho subfamilias, como monofiléticas. La monofilia de la familia Bromeliaceae, así como la de las subfamilias Brocchinioideae, Hechtioideae, Lindmanioideae, Navioideae, Pitcairnioideae, Tillandsioideae, fue también confirmada en trabajos previos (Barfuss *et al.*, 2005; Givnish *et al.*, 2007, 2011). Los representantes de las subfamilias Bromelioideae y Puyoideae fueron aquí recuperados dentro de un mismo clado con poca resolución. Otros estudios previos basados en el marcador de cloroplasto *ndhF* (Givnish *et al.*, 2007, 2011; Terry *et al.*, 1997) también fallaron en resolver las relaciones entre estas dos subfamilias. Sin embargo, el estudio de Schulte *et al.* (2009), el cual analizó gen nuclear *PRK* en conjunción con varios marcadores del cloroplasto (i.e. gen *matK*, los intrones de los genes *trnK* y *trnL*, y los espaciadores intergénicos *trnL-trnF* y *atpB-rbcL*), recuperó a las subfamilias Bromelioideae (BS=60) y Puyoideae (BS=100) como monofiléticas. En general, los genes nucleares presentan mayor variación que muchos marcadores del cloroplasto (Duarte *et al.*,

2010), el cual sugiere que la falta de resolución entre estas dos subfamilias puede ser debida a la baja variabilidad, y por lo tanto, informatividad proporcionada por la región del *matK-trnK* y por otras regiones del cloroplasto. Las regiones de cloroplasto son especialmente útiles para resolver relaciones a niveles taxonómicos profundos como al nivel de familias o hasta géneros, debido a su tasa de sustitución más baja, comparado con loci nucleares (Granados Mendoza *et al.*, 2015).

Al interior de la subfamilia Tillandsioideae, la región *matK-trnK* también permitió la identificación y apoyo de varios linajes principales, así como otros clados menos inclusivos. Otras relaciones, especialmente a niveles más someros, carecieron de resolución. La región del *matK-trnK* aquí analizada contiene porciones de secuencias de ADN codificantes para proteínas (i.e. gen *matK*), como no codificantes (i.e. intron *trnK*). Las regiones codificantes tienden a ser más conservadas ya que si las bases nitrogenadas cambian, las proteínas para las que codifican pueden dejar de ser funcionales (Alberts *et al.*, 2006). En contraste, las regiones no codificantes permiten un mayor número de cambios ya que dicha variación no afecta la funcionalidad de ninguna proteína (Alberts *et al.*, 2006). El gen *matK* es una región codificante importante durante el desarrollo de la planta y la fase luminosa de la fotosíntesis, por lo que su variación se ve limitada en cierto grado por dicha funcionalidad (Barthet y Hilu, 2007).

Puesto que el gen *matK* abarca el 83.24% del total de la matriz alineada, la matriz generada está en su mayoría compuesta por sitios poco variables. No obstante el bajo poder resolutivo de la región *matK-trnK* a niveles taxonómicos

finos, dicha región presentó el nivel de utilidad filogenética suficiente para poder determinar la posición filogenética de las especies de *Tillandsia* mexicanas dentro del marco filogenético global de la subfamilia Tillandsioideae y la familia Bromeliaceae, permitiendo abordar los objetivos del presente trabajo.

La familia Bromeliaceae se originó hace cerca 100 millones de años en el Macizo Guayanés, un ambiente húmedo e infértil del norte de Sudamérica (Givnish *et al.*, 2011). A partir de esta región los linajes migraron de manera centrífuga al resto del Neotrópico (Givnish *et al.*, 2011). El género *Tillandsia* tuvo una diversificación importante en el norte de los Andes y a partir de este lugar migró hacia el Norte a México y hacia el sur a Chile (Barfuss *et al.*, 2005). La radiación evolutiva de *Tillandsia* sucedió en un tiempo geológico corto, al ser la subfamilia Tillandsioideae originada hace solo 15 millones de años (Givnish *et al.* 2014). Comparado con su alta diversidad morfológica, la variación a nivel molecular es considerablemente limitada (presente trabajo y Barfuss *et al.*, 2005), al parecer las especies de *Tillandsia* han tenido poco tiempo para acumular diferencias genéticas, al resultar en una baja resolución de sus relaciones filogenéticas con base al menos en marcadores del cloroplasto (Barfuss *et al.*, 2005).

En el presente estudio ninguno de los subgéneros propuestos para *Tillandsia* fueron recuperados como monofiléticos. Los estudios de Barfuss *et al.* (2005), Donadío (2012) y Donadío *et al.* (2014) tampoco confirmaron la monofilia de dichos subgéneros. Estos subgéneros fueron delimitados al utilizar características morfológicas vegetativas y florales (Smith y Downs, 1977). El contexto filogenético aquí obtenido sugiere que dichos caracteres morfológicos son homoplásicos y

resulta en agrupaciones artificiales. Sin embargo, en este análisis se muestran ciertos patrones en donde la mayoría de las especies dentro de un mismo clado pertenecen a un mismo subgénero. Por ejemplo el clado K está conformado principalmente por especies clasificadas dentro del subgénero *Tillandsia*, mientras que otro clado, está conformado principalmente por especies sudamericanas pertenecientes al subgénero *Phytarrhiza*. Futuros estudios que logren incrementar la resolución y apoyo filogenético en el grupo permitirán reevaluar las clasificaciones tradicionales de manera que puedan establecerse nuevos límites genéricos y subgenéricos que atiendan el reconocimiento de grupos monofiléticos. Esto favorecerá una clasificación más natural en Tillandsioideae que refleje la historia evolutiva del grupo.

Como ya se mencionó, la mayoría de las especies recuperadas dentro del clado K están clasificadas al interior del subgénero *Tillandsia* (*sensu* Smith y Downs, 1977), sin embargo un porcentaje pequeño (7.21%) pertenecen al subgénero *Allardtia*. El subgénero *Tillandsia* se caracteriza por la presencia de estambres exsertos, mientras que el subgénero *Allardtia* se distingue por presentar dicho verticilo floral inserto (Smith y Downs, 1977). Otros subgéneros con estambres insertos son *Pseudo-Catopsis*, *Anoplophytum*, *Diaphoranthema* y *Phytarrhiza*. Representantes de dichos subgéneros con estambres insertos fueron principalmente recuperados dentro de otro linaje altamente diverso de Tillandsioideae integrado principalmente por especies Centro-Sudamericanas. Una posible explicación es que la presencia de estambres insertos está estrechamente relacionada al tipo de polinizador, que en este caso corresponde principalmente a

polillas y otros insectos (Gardner, 1986). En contraste, las especies de estambre exsertos (e.g. subgénero *Tillandsia*) son mayoritariamente polinizadas por colibríes (Gardner, 1986; Carranza-Quiceno y Estévez-Varón, 2008; Aguilar-Rodríguez, 2013). La presencia de linajes independientes con estambres insertos y polinización por polillas y otros insectos, sugiere diferentes orígenes para dicho síndrome de polinización y características florales (i.e. estambres insertos). El clado k.1 presenta especies que pertenecen en su mayoría al subgénero *Tillandsia* con excepción de la especie *T. gymnobotrya* que ha sido clasificada en el subgénero *Allardtia* debido a la presencia de estambres insertos, esta característica puede ser una reversión u origen independiente dentro de este grupo ya que otros linajes sudamericanos presentan en su mayoría esta característica y son polinizadas por polillas (Gardner, 1986). El subclado k.1a tiene solo especies del subgénero *Tillandsia* sus representantes son por una parte especies del tipo de *T. prodigiosa*, de tamaño grande con tanques que almacenan agua, y especies del grupo de *T. erubescens*, de tamaño más pequeño y con rosetas tanto xeromórficas como mesomórficas. El subclado k.1a comparte la característica morfológica de flores con estambres exsertos y polinización aparentemente por colibríes (Smith y Downs, 1977; Gardner, 1986; Barfuss *et al.*, 2005). Los subclados k.2 y k.2a contienen especies pertenecientes al subgénero *Tillandsia*, a diferencia de los clados k.2b y k.2c que tienen en su interior algunos miembros de *Allardtia* cuya explicación sea probablemente una reversión del carácter predominante (estambres exsertos) al carácter que les permite una polinización entomófila (Aguilar-Rodríguez, 2013; Gardner, 1986).

El género *Tillandsia* es especialmente diverso en Centroamérica y México, este gran número de especies en el país se debe a su compleja orografía (e.g. Sierras Madre Oriental, Occidental y del Sur, Eje Neovolcánico Transversal) y el rango latitudinal que abarca el país (Miranda y Hernandez, 1963) dando origen a una alta heterogeneidad ambiental (Villaseñor, 2010). El clado K invadió principalmente los boques húmedos de montaña tropical de México cuya variación ambiental pudo haber promovido altas tasas de especiación el grupo al resultar en la radiación evolutiva que dio lugar la gran diversidad de especies de *Tillandsia* en México (Espejo-Serna y López-Ferrari, 2004; Espejo-Serna, 2012). El alto porcentaje de especies endémicas a México presente al interior del clado K (59.3%) sugiere que una buena parte de la historia evolutiva de dicho linaje se desarrolló en el territorio nacional.

El complejo de especies de *Tillandsia plumosa* fue elevado a nivel de género *Viridantha* con base en caracteres morfológicos por Espejo-Serna, (2002). Aunque una primera aproximación con datos moleculares y un muestreo incompleto de las especies sugirió la monofila del grupo (Barfuss *et al.*, 2005), al realizar un muestreo más exhaustivo en el presente trabajo con cinco de las seis especies de este género, se observó la segregación de *T. mauryana* del resto de las especies de “*Viridantha*”, al ser recuperada dentro del clado k.2b donde se relaciona con *T. matudae* especie con la cual comparte algunos caracteres morfológicos. Estas dos especies son plantas pequeñas, acaules, se encuentran en lugares con climas secos y sus hojas tienen escamas densamente lepidotas. Una diferencia principal entre estas dos especies es el color de la corola y la posición relativa de los

estambres en relación a la corola. *T. mauryana* presenta corola de color verde y estambres insertos, mientras que *T. matudae* tiene corolas moradas y estambres exsertos (Espejo-Serna, 2002; Smith y Downs, 1977), sin embargo, como se discutió antes, la posición inserta de los estambres parece haber tenido múltiples orígenes en el grupo. Las otras cuatro especies de este complejo (i.e. *T. atroviridipetala*, *T. lepidosepala.*, *T. plumosa* y *T. tortilis*) se agruparon fuera del clado K y están cercanamente relacionadas a *T. tectorum* una especie sudamericana perteneciente al subgénero *Allardtia*. Gardner, (1986) clasificó éste complejo dentro del grupo V al ser todas especies clasificadas en el subgénero *Allardtia*. La segregación del género *Viridantha* de *Tillandsia* no es apoyada por el contexto filogenético generado en este análisis, se reconoce *Viridantha* como sinónimo de *Tillandsia* por Luther (2008). A pesar de que todas las especies del complejo de *T. plumosa* son endémicas de México, las cuatro especies asociadas a otras especies sudamericanas corresponden a un linaje integrado en su mayoría por especies del subgénero *Allardtia* que se diversificó principalmente en los Andes, siendo una línea evolutiva independiente al igual que una migración hacia Centroamérica y México con respecto al clado K donde se ubica *T. mauryana* (Barfuss *et al.*, 2005).

Las especies mexicanas *T. grandis*, *T. viridiflora* y *T. heterophylla* fueron previamente agrupadas por ciertos caracteres morfológicos compartidos como la presencia de corolas blancas, pétalos libres y hojas esparcidamente lepidotas (Smith y Downs, 1977). Sin embargo, estas especies fueron recuperadas en diferentes clados. *Tillandsia grandis* y *T. viridiflora*, especies clasificadas dentro del

subgénero *Pseudalcantarea* y que son polinizadas por murciélagos (Aguilar-Rodríguez *et al.*, 2014), fueron recuperadas como especies hermanas, al ser su linaje hermano el clado que contiene las especies del grupo de *T. plumosa*. *Tillandsia heterophylla*, del subgénero *Allardtia*, se recuperó en su lugar asociada a especies mexicanas y centro-sudamericanas con las cuales comparte algunas características ecológicas como el hábitat (i.e. bosque de pino-encino y bosque húmedos de montaña), así características morfológicas como las hojas esparcida a densamente lepidotas (Espejo-Serna *et al.*, 2005; Gouda *et al.*). La mayoría de las especies que conforman el clado de *T. heterophylla* pertenecen al subgénero *Allardtia* (*T. heterophylla*, *T. demissa*, *T. fendleri*, *T. lucida*, *T. brevilingua* y *T. deppeana*) y en menor proporción los subgéneros *Tillandsia* (*T. multicaulis* Steud. y *T. imperialis*) y *Pseudalcantarea* (*T. baliophylla*).

Aunque el presente trabajo duplico el número de especies mexicanas de *Tillandsia* incluidas dentro de un marco filogenético, aún queda una buena proporción de especies mexicanas de *Tillandsia* que deben ser incluidas en estudios futuros. Las relaciones dentro de este género han sido objeto de estudio debido a la gran variedad de formas que se presentan, se han hecho clasificaciones que intentan agrupar esta gran diversidad, pero los caracteres morfológicos no han sido suficientes para poder aclarar las relaciones en este grupo y por ello se han utilizado métodos moleculares de secuenciación tradicional con marcadores del cloroplasto. Dichos marcadores han aportado un panorama de clasificación más natural, sin embargo, aún falta resolución a niveles más someros. Futuros estudios podrían enfocarse en probar la utilidad de otras regiones más

variables y potencialmente más informativas como son los genes nucleares de pocas copias. Así mismo, futuros estudios con técnicas de secuenciación de nueva generación para obtener datos moleculares a nivel masivo quizás permitirán resolver las relaciones filogenéticas del grupo.

Conclusión

Las especies mexicanas de *Tillandsia* no forman un grupo monofilético, ya que los diferentes linajes que se diversificaron (*Tillandsia* y *Allardtia*) forman diferentes clados con relaciones a niveles taxonómicos superficiales no resueltos, las cuales podrían resolverse mediante futuros estudios con marcadores nucleares o secuenciación de nueva generación.

La mayoría de especies de *Tillandsia* endémicas se agruparon dentro del clado K, conformado por especies principalmente del subgénero *Tillandsia*, con algunas especies del subgénero *Allardtia*. Pocas especies endémicas se encuentran fuera del clado K, por lo que la historia evolutiva de dicho linaje se desarrolló en el territorio nacional.

Bibliografía Citada

- Aguilar-Rodríguez, P.A., 2013. Tesis de Maestría. Biología floral y reproductiva de *Tillandsia heterophylla* Y *Tillandsia macropetala* (Bromeliaceae), en el municipio de San Andrés Tlanelhuayocan, en la región central de Veracruz, México. Universidad Veracruzana, México.
- Aguilar-Rodríguez, P.A., MacSwiney G., M.C., Krömer, T., García-Franco, J.G., Knauer, A., Kessler, M., 2014. First record of bat-pollination in the species-rich genus *Tillandsia* (Bromeliaceae). *Ann. Bot.* 113, 1047–1055. doi:10.1093/aob/mcu031
- Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A., 2006. Del ADN a la proteína: como leen las células el genoma, en: *Introducción a La Biología Celular*. p. 864.
- APG III, 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Bot. J. Linn. Soc.* 161, 105–121.
- Barfuss, M.H.J., Samuel, R., Till, W., Stuessy, T.F., 2005. Phylogenetic Relationships in Subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) Based on DNA Sequence Data from Seven Plastid Regions. *Am. J. Bot.* 92, 337–351. doi:10.2307/4123879
- Barthet, M.M., Hilu, K.W., 2007. Expression of matK: Functional and Evolutionary Implications. *Am. J. Bot.* 94, 1402–1412. doi:10.2307/27733310

- Benzing, D.H., 1970. An investigation of two bromeliad myrmecophytes: *Tillandsia butzii* Mez, *T. caput-medusae* E. Morren, and their ants. Bull. Torrey Bot. Club 97, 109–115.
- Carranza-Quiceno, J.A., Estévez-Varón, J.V., 2008. Ecología de la polinización de Bromeliaceae en el dosel de los bosques neotropicales de montaña. Bol. Científico Cent. Mus. Hist. Nat. 12, 38–47.
- Chew, T., De Luna, E., González, D., 2010. Phylogenetic Relationships of the Pseudobulbous *Tillandsia* species (Bromeliaceae) Inferred from Cladistic Analyses of ITS 2, 5.8S Ribosomal RNA Gene, and ETS Sequences. Syst. Bot. 35, 86–95. doi:10.1600/036364410790862632
- Dahlgren, R.M.T., Clifford, H.T., Yeo, P.F., 1985. The families of the monocotyledons: Structure, Evolution and Taxonomy. Springer-Verlag, Berlin.
- Dejean, A., Olmsted, I., Snelling, R.R., 1995. Tree-Epiphyte-Ant Relationships in the Low Inundated Forest of Sian Ka'an Biosphere Reserve, Quintana Roo, México. Biotropica 27, 57–70. doi:10.2307/2388903
- Diego-Escobar, M.V., 2005. Tesis de Maestría. El género *Tillandsia* (Bromeliaceae) en el estado de Guerrero, México). Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Estado de México.
- Donadío, S., 2012. Tesis Doctoral. Filogenia de *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema* y evolución de la autogamia y la poliembrionía. Universidad de Buenos Aires, Argentina.
- Donadío, S., Pozner, R., Giussani, L.M., 2014. Phylogenetic relationships within *Tillandsia* subgenus *Diaphoranthema* (Bromeliaceae, Tillandsioideae) based

- on a comprehensive morphological dataset. *Plant Syst. Evol.* 301, 387–410.
doi:10.1007/s00606-014-1081-1
- Doyle, J.J., Doyle, J.L., 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 19, 11–15.
- Duarte, J.M., Wall, P.K., Edger, P.P., Landherr, L.L., Ma, H., Pires, P.K., Leebens-Mack, J., dePamphilis, C.W., 2010. Identification of shared single copy nuclear genes in *Arabidopsis*, *Populus*, *Vitis* and *Oryza* and their phylogenetic utility across various taxonomic levels. *BMC Evol. Biol.* 10, 1–18.
doi:10.1186/1471-2148-10-61
- Espejo-Serna, A., López-Ferrari A.R., 1998. Current floristic and phytogeographic knowledge of Mexican Bromeliaceae. *Rev. Biol. Trop.* 46, 493–513.
- Espejo-Serna, A., 2002. *Viridantha*, un género nuevo de Bromeliaceae (Tillandsioideae) endémico de México. *Acta Botánica Mexicana* 60, 25–35.
- Espejo-Serna A., López-Ferrari, A.R., 2004. Checklist of mexican Bromeliaceae with notes on species distribution and levels of endemism. *Selbyana* 25, 33–86.
- Espejo-Serna, A., López-Ferrari, A.R., Ramírez-Morillo, I., 2005. Flora de Veracruz: Bromeliaceae. Instituto de Ecología A. C., Xalapa, Veracruz, México.
- Espejo-Serna, A., López-Ferrari, A.R., Martínez-Correa, N., Angélica Pulido-Esparza, V., 2007. Bromeliad flora of Oaxaca, Mexico: Richness and distribution. *Acta Bot. Mex.* 81, 71–85.
- Espejo-Serna, A., López-Ferrari, A.R., Ramírez-Morillo, I., 2010. Flora del Bajío y Regiones Adyacentes: Bromeliaceae. Instituto de Ecología A. C.

- Espejo-Serna, 2012. El endemismo en las Liliopsida mexicanas. *Acta Bot. Mex.* 100, 195–257.
- Espejo-Serna, A., Lopez-Ferrari, A.R., 2014. Bromeliaceae, en: *Flora Del Valle de Tehuacán-Cuicatlán*. Instituto de Biología.
- Figueroa-Brito, S., Guzmán-Rivera, F.Y., 2005. Listado Florístico en el Municipio Capulalpam de Méndez, Distrito de Ixtlán de Juárez, Oaxaca. UNAM FES Iztacala, Los Reyes Iztacala, Edo de México.
- Gardner, C., 1982. Tesis de Maestría. A systematic study of *Tillandsia* subgenus *Tillandsia*. Graduate College of Texas A&M University, Texas. E. U.
- Gardner, C.S., 1986. Inferences about pollination in *Tillandsia* (Bromeliaceae). *Selbyana* 9, 76–87.
- Givnish, T.J., Millam, K.C., Berry, P.E., Sytsma, K.J., 2007. Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from ndhF sequence data. *Aliso* 23, 3–26.
- Givnish, T.J., Barfuss, M.H.J., Van Ee Benjamin, Jabaily Rachel S., Crayn Darren M., Smith C. J. Andrew, Winter Klaus, Brown Gregory K., Evans Timothy M., Holst Bruce K., Luther Harry, Till Walter, Zizka Georg, Berry Paul E., Sytsma Kenneth J., 2011. Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: Insights from an eight-locus plastid phylogeny. *Am. J. Bot.* 98(5), 872–895.
- Givnish, T.J., Barfuss, M.H.J., Van Ee, B., Riina, R., Schulte, K., Horres, R., Gonsiska, P.A., Jabaily, R.S., Crayn, D.M., Smith, J.A.C., Winter, K., Brown, G.K., Evans, T.M., Holst, B.K., Luther, H., Till, W., Zizka, G., Berry, P.E., Sytsma, K.J., 2014. Adaptive radiation, correlated and contingent evolution,

- and net species diversification in Bromeliaceae. *Mol. Phylogenet. Evol.* 71, 55–78. doi:10.1016/j.ympev.2013.10.010
- Gomes-da-Silva, Ferreira da Costa, A.F., 2013. An updated overview of taxonomy and phylogenetic history of Tillandsioideae genera (Bromeliaceae: Poales). *Glob. J. Bot. Sci.* 1, 1–8.
- González Rocha, E., 2014. Tesis de Maestría. Las Bromeliaceae del Estado de Morelos, México. Universidad Autónoma Metropolitana, México.
- Gouda, E.J., Butcher, D., Gouda, C.S., n.d. Encyclopaedia of Bromeliads, Version 3. *Encycl. Bromel.* Version 31 2012.
- Granados-Mendoza, C., 2008. Tesis de Maestría. Sistemática del complejo *Tillandsia macdougallii* (Bromeliaceae). UNAM.
- Granados Mendoza, C., Wanke, S., Salomo, K., Goetghebeur, P., Samain, M.-S., 2013. Application of the phylogenetic informativeness method to chloroplast markers: A test case of closely related species in tribe Hydrangeeae (Hydrangeaceae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 66, 233–242. doi:10.1016/j.ympev.2012.09.029
- Granados Mendoza, C., Naumann, J., Samain, M.-S., Goetghebeur, P., De Smet, Y., Wanke, S., 2015. A genome-scale mining strategy for recovering novel rapidly-evolving nuclear single-copy genes for addressing shallow-scale phylogenetics in Hydrangea. *BMC Evol. Biol.* 15, 1–13. doi:10.1186/s12862-015-0416-z

- Horres, R., Zizka, G., Kahl, G., Weising, K., 2000. Molecular Phylogenetics of Bromeliaceae: Evidence from trnL(UAA) Intron Sequences of the Chloroplast Genome. *Plant Biol.* 2, 306–315. doi:10.1055/s-2000-3700
- Lloyd F., K., 1991. A distributional check-list of the genus *Tillandsia*. Botanical Diversions, Encino, California; USA.
- Luther, H.E., 2008. Alphabetical list of bromeliad binomials. *Bromel. Soc. Marie Selby Bot. Gard.*
- Miranda, F., Hernandez, X., 1963. Los tipos de vegetacion de México y su clasificación. *Bol. Soc. Botánica México* 178.
- Molvray, M.P., Kores, P.J., Chase., M.W., 2000. Polyphyly of mycoheterotrophic orchids and functional influences on floral and molecular characters, in: Wilson, K.L., Morrison, D.A. (Eds.), *Monocots: Systematics and Evolution*. CSIRO, Australia, pp. 441–448.
- Ramírez-Morillo, I., Fernández-Concha, G.C., Chi May, F., 2004. *Guia Ilustrada de Bromeliaceae de la porción mexicana de la Península de Yucatán*, Centro de Investigación Científica de Yucatán. ed. Centro de Investigación Científica de Yucatán, Mérida, Yucatán, México.
- Schulte, K., Barfuss, M.H.J., Zizka, G., 2009. Phylogeny of Bromelioideae (Bromeliaceae) inferred from nuclear and plastid DNA loci reveals the evolution of the tank habit within the subfamily. *Mol. Phylogenet. Evol.* 51, 327–339. doi:10.1016/j.ympev.2009.02.003
- Smith, L.B., Downs, R.J., 1977. *Flora Neotropica Monograph No. 14, Part 2: Tillandsioideae (Bromeliaceae)*. N. Y. Hafner Press.

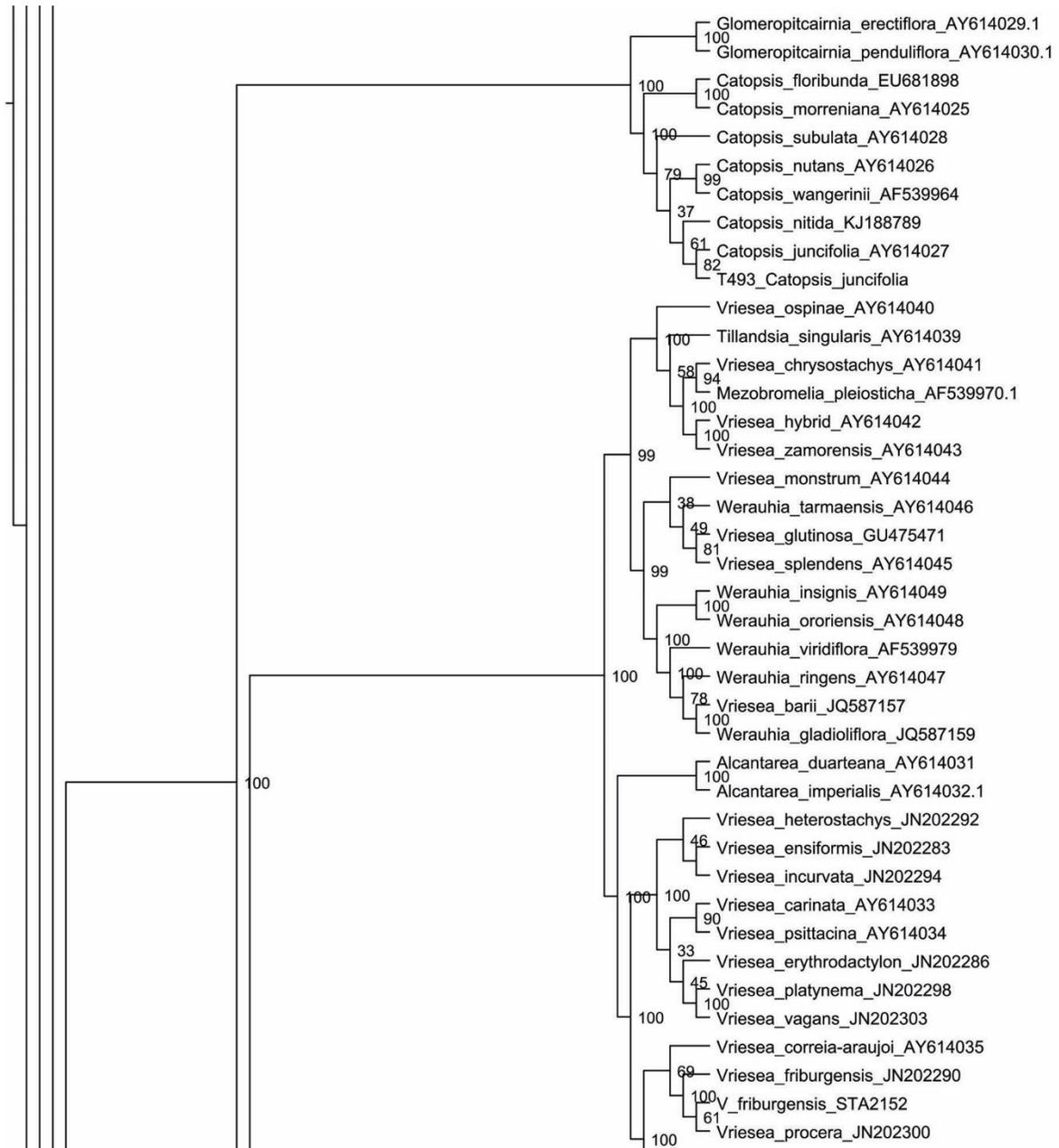
- Smith, L.B., Till, W., 1998. Bromeliaceae, in: The Families and Genera of Vascular Plants. Springer, Berlin, pp. 74–99.
- Soltis, P., Doyle, J.J., 1998. DNA Sequencing, en: Molecular Systematics of Plants II. Springer US.
- Steele, K.P., Vilgalys, R., 1994. Phylogenetic analyses of Polemoniaceae using nucleotide sequences of the plastid gene matK. Syst. Bot. 19, 126–142.
- Terreros Olivares, L., 2012. Tesis de Maestría. Revisión Sistemática del Complejo de Especies de *Tillandsia juncea* (Ruiz & Pav.) Poir. Bromeliaceae. Universidad Autónoma Metropolitana.
- Terry, R.G., Brown, G.K., Olmstead, R.G., 1997. Phylogenetic Relationships in Subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) Using ndhF Sequences. Syst. Bot. 22, 333–345. doi:10.2307/2419461
- Villaseñor, J.L., 2010. El bosque húmedo de montaña en México y sus plantas vasculares: catálogo florístico-taxonómico, Primera. ed. UNAM, Mexico, D. F.

Consultas electrónicas

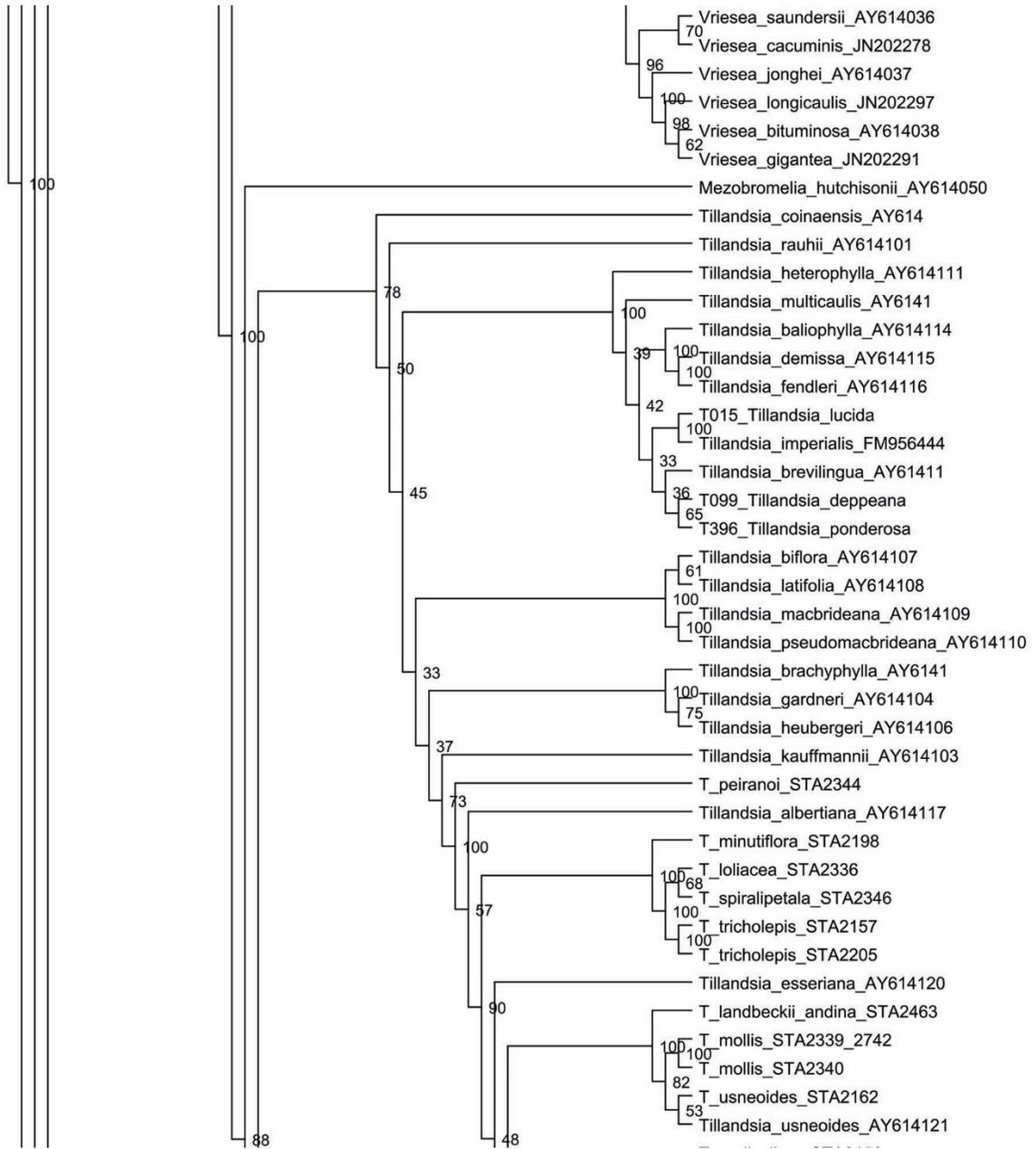
- ❖ Bromeliad Encyclopedia Florida Council of Bromeliad Societies
http://fcbs.org/images/Tillandsia/T_variabilis.jpg
- ❖ Encyclopedia of Bromeliads Version 3.1
<http://botu07.bio.uu.nl/bcg/encyclopedia/brome/>
- ❖ Encyclopedia.florapix.nl
- ❖ Gen Bank <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>
- ❖ Global Biodiversity Information Facility gbif.org
- ❖ Global Plants plants.jstor.org
- ❖ Interactive Tree of Life <http://itol.embl.de/>
- ❖ MAFFT version 7 <http://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>
- ❖ Trópicos tropicos.org
- ❖ Unidad de Informática para la Biodiversidad unibio.unam.mx

Anexo 1

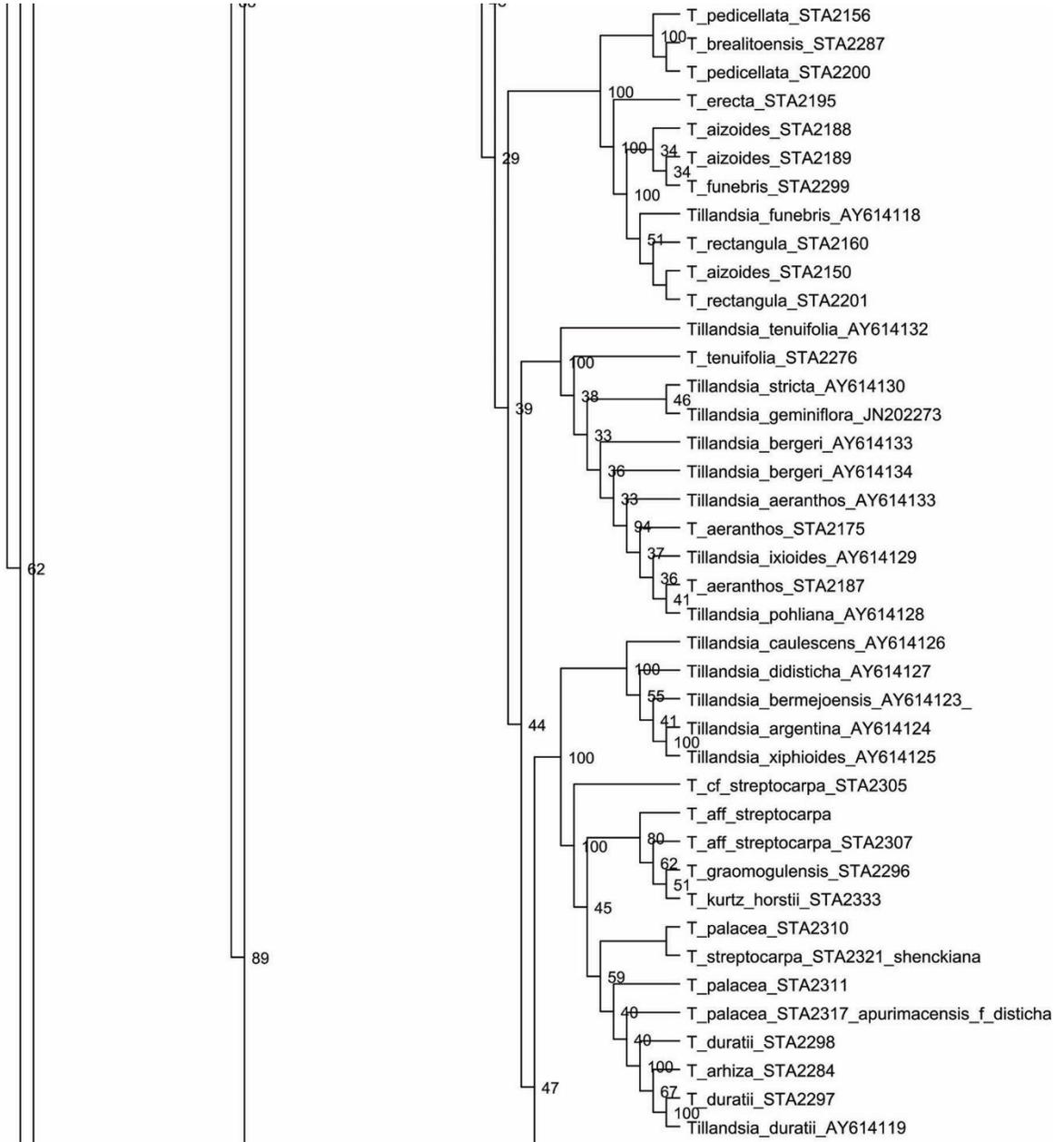
Acercamiento del árbol ultramétrico referido en la 7, se muestra la sección correspondiente a la subfamilia Tillandsioideae. La imagen está dividida de A-G.



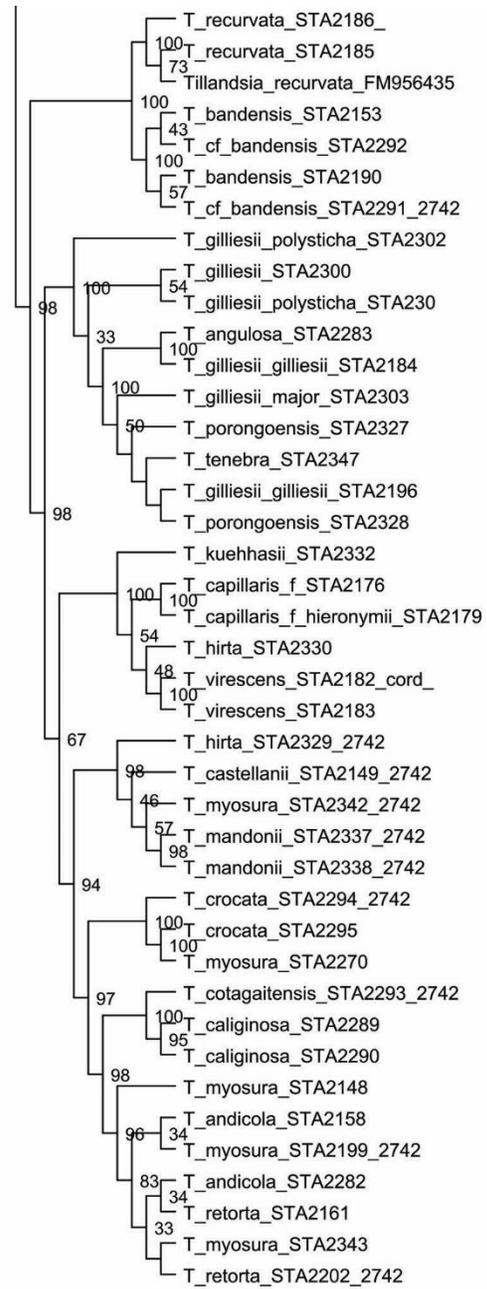
Parte A



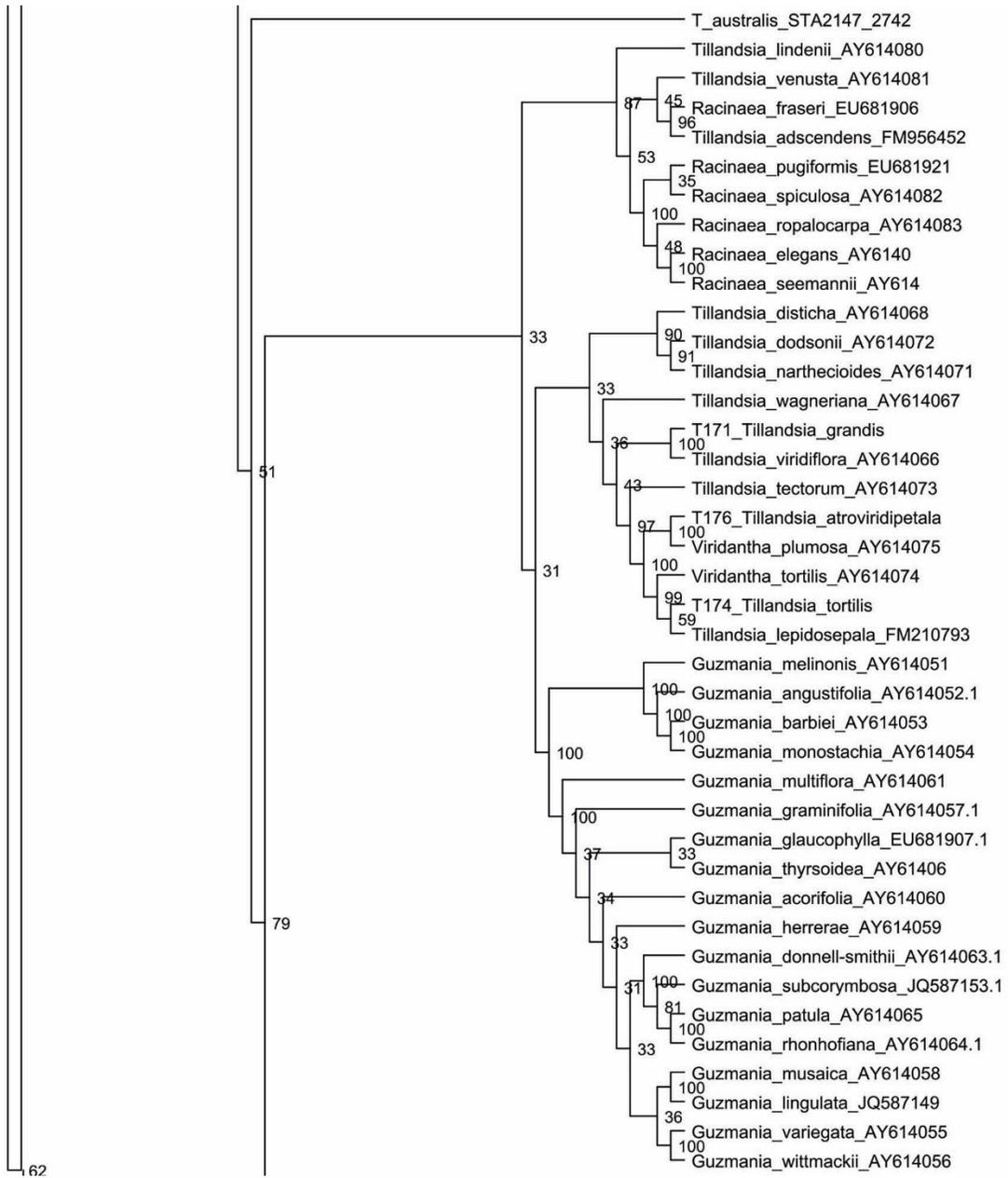
Parte B



Parte C



Parte D



Parte E

Anexo 2

Lista de especies colectadas y secuenciadas

Nombre Científico	Estado	No. Laboratorio	Voucher	Herbario	Endémica	CUCIBROM
<i>Tillandsia aesii</i> I. Ramírez & Carnevali	Cultivada	T361	Sociedad de Orquideología	MEXU	si	BROM-45-2
<i>Tillandsia</i> aff. <i>ferrisiana</i> L.B. Sm.	Michoacán	T312	Cornejo T. 4291	MEXU	si	
<i>Tillandsia gymnobotrya</i> Baker	Puebla	T280	Salazar C. et al. 9431	MEXU	si	
<i>Tillandsia</i> aff. <i>rhodocephala</i> Ehlers & Koide	Oaxaca	T529	Granados A. et al. 58	MEXU	si	
<i>Tillandsia albida</i> Mez & Purpus	Hidalgo	T173	Flores C. s/n	MEXU	si	
<i>Tillandsia atroviridipetala</i> Matuda	Puebla	T176	Flores C. s/n	MEXU	si	
<i>Tillandsia balbisiana</i> Schult. f.	Puebla	T358	Torres C. G. 1390	MEXU	no	BROM- 40-7
<i>Tillandsia bartramii</i> Elliott	San Luis Potosí	T098	Granados M. et al. 347	MEXU	no	
<i>Tillandsia belloensis</i> W. Weber	Chiapas	T022	Salazar C. et al. 8883	MEXU	si	
<i>Tillandsia botterii</i> E. Morren ex Baker	Zacatecas	T191	Flores C. 1714	MEXU	si	BROM-14
<i>Tillandsia brachycaulos</i> Schltdl.	Veracruz	T053	Granados M. et al. 272	MEXU	no	
<i>Tillandsia bulbosa</i> Hook.	Chiapas	T007	Salazar C. et al. 8632	MEXU	no	
<i>Tillandsia butzii</i> Mez	Guerrero	T135	Granados M. et al. 405	MEXU	no	
<i>Tillandsia califanii</i> Rauh	Puebla	T198	Castañeda Z. 446	MEXU	si	
<i>Tillandsia calothyrsus</i> Mez	Oaxaca	T085	Granados M. et al. 326	MEXU	si	
<i>Tillandsia capitata</i> Griseb.	Oaxaca	T069	Granados M. et al. 309	MEXU	no	
<i>Tillandsia concolor</i> L.B. Sm.	Guerrero	T197	Flores C. 1808	MEXU	si	
<i>Tillandsia cossonii</i> Baker	Puebla	T293	Salazar C. et al. 9410	MEXU	si	
<i>Tillandsia cryptantha</i> Baker	Morelos	T337	Martínez S. 44347	MEXU	si	

<i>Tillandsia dasyliirifolia</i> Baker	Chiapas	T019	Salazar C. <i>et al.</i> 8886	MEXU	no	
<i>Tillandsia deppeana</i> Steud.	San Luis Potosí	T099	Granados M. <i>et al.</i> 348	MEXU	si	
<i>Tillandsia diguetii</i> Mez & Rol.-Goss.	Jalisco	T407	Cornejo T. <i>et al.</i> s/n	MEXU	si	
<i>Tillandsia eizii</i> L.B. Sm.	Chiapas	T397	Salazar C. <i>et al.</i> 9522	MEXU	no	
<i>Tillandsia elusiva</i> Pinzón, I. Ramírez & Carnevali.	Tabasco	T269	Salazar C. <i>et al.</i> 9343	MEXU	si	
<i>Tillandsia filifolia</i> Schlttdl. & Cham.	Oaxaca	T067	Granados M. <i>et al.</i> 306	MEXU	no	
<i>Tillandsia flavobracteata</i> Matuda	Veracruz	T254	Salazar C. <i>et al.</i> 9370	MEXU	si	
<i>Tillandsia foliosa</i> M. Martens & Galeotti	Oaxaca	T188	Flores C. 1703	MEXU	si	BROM-03
<i>Tillandsia grandis</i> Schlttdl.	Puebla	T171	Flores C. 1307	MEXU	no	
<i>Tillandsia hromadnikiana</i> Ehlers	Guerrero	T117	Granados M. <i>et al.</i> 369	MEXU	si	
<i>Tillandsia inopinata</i> Espejo, López-Ferr. & W. Till	Puebla	T038	Castañeda Z. 737	MEXU	si	
<i>Tillandsia joelii</i> sp. Nov.		T202	Flores C. <i>et al.</i> 1830	MEXU	si	BROM-49-4
<i>Tillandsia karwinskyana</i> Schult. & Schult.	Querétaro	T395	Torres C. 17901	MEXU	si	
<i>Tillandsia lautneri</i> Ehlers	Chiapas	T460	Salazar C. <i>et al.</i> 9578	MEXU	si	
<i>Tillandsia langlasseana</i> Mez	Michoacán	T311	Cornejo T. <i>et al.</i> 4289	MEXU	si	
<i>Tillandsia langlasseana</i> Mez	Guerrero	T128	Granados M. <i>et al.</i> 388	MEXU	si	
<i>Tillandsia leiboldiana</i> Schlttdl.	Chiapas	T411	Salazar C. <i>et al.</i> 8257	MEXU	no	
<i>Tillandsia limbata</i> Schlttdl.	Chiapas	T187	Flores C. 1711	MEXU	si	BROM-11-6
<i>Tillandsia lucida</i> E. Morren ex Baker	Chiapas	T015	Salazar C. <i>et al.</i> 8877	MEXU	no	
<i>Tillandsia magnusiana</i> Wittm.	Oaxaca	T090	Granados M. <i>et al.</i> 332	MEXU	no	
<i>Tillandsia maur yana</i> L.B. Sm.	Oaxaca	T387	Sandoval G. 1300	MEXU	si	
<i>Tillandsia mirabilis</i> L. Hrom.	Guerrero	T127	Granados M. <i>et al.</i> 387	MEXU	si	
<i>Tillandsia paraisoensis</i> Ehlers	Guerrero	T168	Flores C. 1263	MEXU	si	
<i>Tillandsia parryi</i> Baker	Nuevo León	T107	Granados M. <i>et al.</i> 343	MEXU	si	
<i>Tillandsia paucifolia</i> Baker	Oaxaca	T206	Torres C. G.	MEXU	no	BROM-43
<i>Tillandsia polystachia</i> (L.) L.	Querétaro	T104	Granados M. <i>et al.</i> 357	MEXU	no	
<i>Tillandsia ponderosa</i> L.B. Sm.	Chiapas	T396	Salazar C. 9521	MEXU	no	
<i>Tillandsia reyesii</i> sp. nov	Oaxaca	T307	Salazar C. <i>et al.</i> 8343	MEXU	si	

<i>Tillandsia roseoscapa</i> Matuda	Puebla	T296	Salazar C. <i>et al.</i> 9487	MEXU	si	
<i>Tillandsia sessemocinoi</i> López-Ferr., Espejo & P. Blanco	Michoacán	T325	Granados M. <i>et al.</i> 2015-01	MEXU	si	
<i>Tillandsia</i> sp. 3	Michoacán	T308	Cornejo T. <i>et al.</i> 4287	MEXU	-	
<i>Tillandsia</i> sp. 1	Tabasco	T271	Salazar C. <i>et al.</i> 9342	MEXU	-	
<i>Tillandsia streptophylla</i> Scheidw. ex C. Morren	Chiapas	T005	Salazar C. <i>et al.</i> 8696	MEXU	no	
<i>Tillandsia suesilliae</i> W. Till, López-Ferr. & Espejo	San Luis Potosí	T347	Reyes J. <i>et al.</i> 8476	MEXU	si	
<i>Tillandsia supermexicana</i> Matuda	Guerrero	T132	Granados M. <i>et al.</i> 398	MEXU	si	
<i>Tillandsia tecolometl</i> sp. nov.	Tlaxcala	T301	Salazar C. <i>et al.</i> 9495	MEXU	si	
<i>Tillandsia tehuacana</i> I. Ramírez & Carnevali	Puebla	T302	Salazar C. <i>et al.</i> 9486	MEXU	si	
<i>Tillandsia tortilis</i> Klotzsch ex Baker	Jalisco	T174	Flores C. s/n	MEXU	si	
<i>Tillandsia tricolor</i> Schltdl. & Cham.	Chiapas	T143	Granados M. <i>et al.</i> 418	MEXU	no	
<i>Tillandsia utriculata</i> L.	Querétaro	T399	Torres C. 17935	MEXU	no	
<i>Tillandsia variabilis</i> Schltdl.	Chiapas	T186	Flores C. 1713	MEXU	no	BROM-13-8
<i>Tillandsia violacea</i> Baker	Guerrero	T122	Granados M. <i>et al.</i> 381	MEXU	si	
<i>Tillandsia xerographica</i> Rohweder	Oaxaca	T079	Granados M. <i>et al.</i> 318	MEXU	no	
<i>Catopsis juncifolia</i> Mez & Wercklé	Chiapas	T493	Salazar C. <i>et al.</i> 9679	MEXU	no	
<i>Fosterella micrantha</i> (Lindl.) L.B. Sm.	Chiapas	T161	Salazar C. <i>et al.</i> 7196	MEXU	no	

Nombres científicos de especies referidas en el texto

Nombre científico	País
<i>Tillandsia achyrostachys</i> E. Morren ex Baker	México
<i>Tillandsia baliophylla</i> Harms	Rep. Dominicana
<i>Tillandsia brevilingua</i> Mez ex Harms	Perú
<i>Tillandsia carlos-hankii</i> Matuda	México
<i>Tillandsia demissa</i> L.B. Sm.	Ecuador
<i>Tillandsia dugesii</i> Baker	México
<i>Tillandsia erubescens</i> Schltldl.	México
<i>Tillandsia espinosae</i> L. B. Sm.	Ecuador y Perú
<i>Tillandsia exserta</i> Fernald	México
<i>Tillandsia fendleri</i> Griseb.	Bolivia, Brasil, Ecuador y Venezuela
<i>Tillandsia guatemalensis</i> L.B. Sm.	México
<i>Tillandsia heterophylla</i> E. Morren	México
<i>Tillandsia imperialis</i> E. Morren ex Mez	México
<i>Tillandsia lepidosepala</i> L.B. Sm	México
<i>Tillandsia macropetala</i> Wawra.	México, Guatemala, Honduras
<i>Tillandsia makoyana</i> Baker	México
<i>Tillandsia matudae</i> L.B. Sm.	México
<i>Tillandsia multicaulis</i> Steud.	México
<i>Tillandsia oaxacana</i> L.B. Sm.	México
<i>Tillandsia plumosa</i> Baker	México
<i>Tillandsia prodigiosa</i> (Lem.) Baker	México
<i>Tillandsia sierrajuarezensis</i> Matuda	México
<i>Tillandsia tectorum</i> E. Morren	Ecuador y Perú
<i>Tillandsia variabilis</i> Schltldl.	México
<i>Tillandsia viridiflora</i> (Beer) Baker	México