



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD**  
**BIOLOGÍA EVOLUTIVA**

**DELIMITACIÓN DE ESPECIES, DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA EN EL COMPLEJO**  
**DE ESPECIES DE *Stenocereus griseus***

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS**

PRESENTA:

**HERNÁN ALVARADO SIZZO**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ALEJANDRO CASAS FERNÁNDEZ**

**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD, UNAM**

**COMITÉ TUTOR: DRA. TERESA MARGARITA TERRAZAS SALGADO**

**INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM**

**DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ**

**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD, UNAM**

**MÉXICO, CDMX**

**NOVIEMBRE, 2019**



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 INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD**  
**BIOLOGÍA EVOLUTIVA**

**DELIMITACIÓN DE ESPECIES, DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA EN EL COMPLEJO**  
**DE ESPECIES DE *Stenocereus griseus***

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS**

PRESENTA:

**HERNÁN ALVARADO SIZZO**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ALEJANDRO CASAS FERNÁNDEZ**

**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD, UNAM**

**COMITÉ TUTOR: DRA. TERESA MARGARITA TERRAZAS SALGADO**

**INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM**

**DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ**

**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD, UNAM**

**MÉXICO, CDMX**

**OCTUBRE, 2019**

OFICIO CPCB/1073/2019

Asunto: Oficio de Jurado para Examen de Grado.

M. en C. Ivonne Ramírez Wence  
Directora General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted, que el Subcomité de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas del Posgrado en Ciencias Biológicas, en su sesión ordinaria del día 26 de julio de 2019, aprobó el siguiente jurado para la presentación del examen de grado de **DOCTOR EN CIENCIAS** al alumno **ALVARADO SIZZO HERNÁN**, con número de cuenta **407059427**, con la tesis titulada, "**Delimitación de especies, diversidad y estructura genética en el complejo de especies de *Stenocereus griseus***", realizada bajo la dirección del **DR. ALEJANDRO CASAS FERNÁNDEZ**:

Presidente: Dr. Ángel Salvador Arias Montes  
Vocal: Dra. Alejandra Citlalli Moreno Letelier  
Secretario: Dr. Antonio González Rodríguez  
Suplente: Dr. Eduardo Ruíz Sánchez  
Suplente: Dra. Tania Hernández Hernández

Sin otro particular, quedo de usted.

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**  
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 03 de octubre de 2019.

  
**DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA**  
**COORDINADOR DEL PROGRAMA**



**COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**UNIDAD DE POSGRADO**

Edificio D, 1° Piso. Circuito de Posgrados, Ciudad Universitaria  
Alcaldía Coyoacán. C. P. 04510 CDMX  
Tel. (+5255)5623 7002 <http://pcbiol.posgrado.unam.mx/>

## Agradecimientos institucionales

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, así como a esta última.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca de doctorado 298299 y por los recursos otorgados mediante el proyecto de Ciencia Básica "Domesticación y manejo in situ de recursos genéticos en el Nuevo Mundo: Mesoamérica, Los Andes y Amazonia" (CB-2013-01-221800).

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica de la UNAM, que aportó financiamiento para la realización de diversas etapas de este trabajo mediante los proyectos "Domesticación y manejo in situ de recursos genéticos forestales en Mesoamérica" (IN209214) y "Domesticación y manejo in situ de recursos genéticos en el Nuevo Mundo: Mesoamérica, la región andina, amazónica y del nordeste de Brasil" (IN206217).

Al tutor principal de este trabajo, Dr. Alejandro Casas Fernández, así como a los miembros del comité tutor, Dra. Teresa Terrazas Salgado y Dr. Antonio González Rodríguez.

## Agradecimientos personales

Agradezco a mi familia: Angélica, Bagdolio, Edna, Ilia, Magda, Rodrigo y Ruy; así como a las familias Aguilar Raya, Franco Godínez y Velázquez Alvarado.

Muchas gracias a los colegas de las diversas instituciones que facilitaron infraestructura, equipo, servicios, consejo, etc.: Carlos Gómez y Maru García (MEXU-UNAM); Cristian Sánchez (HG), Carlos Parra (COL), Édgar Linares (ICN-UN); Alberto Valencia, Édgar Pérez-Negrón, Goretty Mendoza, Gumersindo Sánchez, Heberto Ferreira, Nidia Pérez y Víctor Rocha (IIES-UNAM); José Luis León y Reymundo Domínguez (HCIB); César Torres, Jesús Llanderal y Santiago Arizaga (ENES Morelia-UNAM); Sergio Zamudio (IEB) y Salvador Arias (JB-UNAM); agradezco también a los miembros del Laboratorio de Manejo de Recursos Genéticos (MARGEN-IIES-UNAM).

Un agradecimiento especial para mis amigos y colegas, quienes confiaron en mí académica, personal y profesionalmente: Andrés González y Paulina Hernández (Biota Consultores); Celia Sanginés, César Ríos, Isolda Luna, Marisol Castro, Othón Alcántara y Sandra Castro (Facultad de Ciencias-UNAM); Angélica Chávez, Diana Quiroz, Eduardo Cuevas, Erandi Rivera, Gabriel Argenis Ponce y Gustavo Aguilar. Gracias a todas estas últimas personas fue posible concluir este trabajo.

Agradezco a Víctor Cauduro por autorizar el uso de su obra plástica, así como los archivos en alta resolución de la misma.

Este trabajo está dedicado de manera póstuma a Hilda Julieta Arreola Nava, quien compiló y sistematizó el conocimiento taxonómico sobre el género *Stenocereus*.

## Índice

Resumen.....	1
Introducción general.....	5
Capítulo I <i>Species delimitation in the Stenocereus griseus (Cactaceae) species complex reveals a new species, S. huastecorum</i> .....	15
Capítulo II Clave dicotómica y distribución del complejo de especies de <i>Stenocereus griseus</i> (Cactaceae).....	43
Capítulo III Diversidad, diferenciación genética y filogeografía del complejo de especies de <i>Stenocereus griseus</i> en poblaciones silvestres y manejadas.....	61
Discusión general.....	92
Conclusiones.....	96
Literatura Citada.....	97

## Resumen

El complejo de especies de *Stenocereus griseus* (CESG) constituye un grupo de amplia distribución espacial y bajo distintas categorías de manejo. Adicionalmente, aún tiene una considerable incertidumbre taxonómica. Esta multiplicidad de factores dificulta determinar aquellos que mayormente afectan la diversidad y diferenciación genética en este complejo. Los objetivos de este trabajo consistieron en: 1) determinar los límites taxonómicos y espaciales de las especies del CESG, 2) proponer un tratamiento taxonómico que permita determinar la identidad taxonómica y reconocer la distribución geográfica de las especies y 3) evaluar la distribución de la diversidad genética a diferentes escalas (poblaciones, especies, paisajes) y bajo diferentes categorías de manejo (poblaciones cultivadas, bajo manejo silvícola y silvestres).

Para determinar los límites taxonómicos y espaciales de las entidades del CESG se utilizó un enfoque integrativo, basado en análisis de agrupamientos (bayesianos y basados en distancia genética) a partir del cual se compararon los caracteres morfológicos de las aréolas, así como los nichos ecológicos de los taxa analizados. La concordancia entre las tres evidencias fue utilizada como criterio para definir los tipos nomenclaturales (Capítulo I). El tratamiento taxonómico y los análisis de la distribución de las especies se realizaron, respectivamente, comparando los caracteres morfológicos y los datos de distribución obtenidos a partir de bases de datos de biodiversidad, herbarios, publicaciones y registros propios (Capítulo II). La evaluación de la distribución de la diversidad genética se realizó utilizando un enfoque genético basado en microsatélites nucleares y filogeográfico, con base en secuencias nucleares anónimas (Capítulo III).

El CESG comprende las siguientes cinco especies: *Stenocereus griseus*, exclusiva de Colombia y Venezuela, *S. heptagonus* en las Antillas Mayores, *S. huastecorum*, que constituye una nueva especie del noreste de México, *S. laevigatus* que se localiza en los estados mexicanos de Chiapas y Yucatán y parte de Centroamérica, así como *S. pruinosus*, la cual se distribuye en Oaxaca y Puebla (México). El tratamiento taxonómico identificó como caracteres diagnósticos los patrones de las espinas, tipo y forma de ramificación, así como varias estructuras florales, entre otros. Se describieron los registros existentes con base en subprovincias fisiográficas, además de incluir la distribución actualizada de una especie no incluida en el análisis del capítulo I (*S. heptagonus*). La evaluación de la distribución de la diversidad genética muestra un patrón espacial, similar al observado en otros *Stenocereinae* consistente en un máximo de diversidad en los subsistemas de la Sierra Madre del Sur (*S. pruinosus*), a partir del cual la diversidad genética decae suavemente hacia el norte (incluyendo *S. pruinosus* y alcanzando mínimos en *S. huastecorum*) y abruptamente hacia el oriente (formando una clina con respecto a *S. laevigatus*). La diferenciación se reportó mayormente entre individuos, en menor grado entre especies

y entre poblaciones y en forma mínima entre categoría de manejo. La aproximación filogeográfica mostró evidencias de cuello de botella en *S. huastecorum* y cierto grado de cercanía entre *S. laevigatus* y *S. griseus*.

Los resultados sugieren que la estimación de la variación genética puede verse afectada al existir incertidumbre taxonómica; por otra parte, la diversidad genética muestra una correlación espacial, mientras que la diferenciación es congruente con el patrón observado previamente en especies relacionadas, más que con el proceso de manejo. La evidencia filogeográfica indica que la especiación peripátrica puede estar relacionada en la formación de al menos dos especies del complejo. Se concluye que el estudio de especies bajo manejo debe partir de marcos taxonómicos sólidos además de incluir el total de la variación genética (toda la distribución, todas las categorías de manejo) y las especies más cercanamente relacionadas, ello con la finalidad de descartar factores espaciales, ecológicos e históricos que pueden interpretarse erróneamente como efectos antrópicos.



## Abstract

The *Stenocereus griseus* species complex (SGSC) represents a widely distributed group, which has also been under several types of human management and degrees of human selection. In addition, the species complex is still taxonomically uncertain. All these sources of variation represent serious difficulties when trying to understand the factors that have shaped genetic diversity and differentiation of the species complex. The main goals of this dissertation are: 1) To determine the taxonomic and spatial limits of the SGSC; 2) The construction of a taxonomic treatment that allows to identify the species and their distribution; and 3) To analyze the distribution of the genetic diversity in multiple levels (populational, species and landscape) and under different management categories (cultivated, silvicultural managed and wild populations).

In order to determine the taxonomic and spatial limits it was implemented an integrative approach which used first, clustering analysis (through both Bayesian and genetic distance-based methods), then the entities of the complex were morphologically (based on areolae features metrics) and ecologically compared by using ecological niche models. The concordance among the three evidence sources was used to define the nomenclatural types (Chapter I). The taxonomic treatment and the distribution data of the species, resulted from the comparison between morphological characters and distributional data from biodiversity databases, herbaria, publications and my own records (Chapter II). The evaluation of the genetic diversity distribution was performed using a genetic approach, based on nuclear microsatellites and a phylogeographic analysis, based on two anonymous nuclear sequences (Chapter III).

The SGSC includes the following species: *Stenocereus griseus* from Colombia and Venezuela, *S. heptagonus* from the Greater Antilles; *S. huastecorum*, a new species from northeastern Mexico; *S. laevigatus* from southern Mexico (Chiapas and Yucatan) and western Central America; and *S. pruinosus*, which is distributed in the Mexican States of Oaxaca and Puebla. The taxonomic treatment identified as diagnostic characters the areolar spination pattern, branching type, and several flower features, among others. The compiled distributional records are described in relation to the Mexican physiographic sub-provinces. Additionally, the updated distribution of *S. heptagonus*, which was not treated in chapter I is included here.

The evaluation of the spatial distribution of the genetic diversity depicts a spatial pattern alike the one observed in other *Stenocereinae*: maximum genetic diversity values in the Sierra Madre del Sur subsystems (corresponding to *S. pruinosus*) with a decreasing trend northwards, which affects both *S. pruinosus*

and *S. huastecorum* (where it holds the minimum values). Towards the west the values show a steep shift in diversity in relation to *S. laevigatus*. Genetic differentiation occurred in a greater degree among individuals, lesser among species and populations and no differentiation at all among management types. The phylogeographic approach showed bottleneck evidence in *S. huastecorum*, and extensive haplotype sharing between *S. laevigatus* and *S. griseus*.

The results suggest that the estimation of genetic variation may be affected when taxonomic uncertainty is present. Also, genetic diversity shows a spatial correlation, while the differentiation pattern is alike to the observed in other related species rather than being explained by the management process. Phylogeographic evidence indicates that peripatric speciation may be related with the formation of at least two of the SGSC taxa. Finally, the conclusions dropped from this work urge, when studying plant systems under management, to depart from robust taxonomic frameworks. Moreover, the whole genetic variation (the full geographic distribution, all the management categories) and the most closely related species must also be included so that spatial, ecological, and historical factors may be discriminated among them and from anthropic processes.

## Introducción general

### Incertidumbre taxonómica en cactáceas

Las cactáceas constituyen un grupo particular de eudicotiledóneas fácilmente distinguible por su morfología, la cual está estrechamente relacionada con adaptaciones fisiológicas y ecológicas (Wallace y Gibson, 2002). Dichas adaptaciones conllevaron a procesos evolutivos de gran magnitud (Guerrero et al., 2018) en respuesta a cambios macroclimáticos como la concentración de CO<sub>2</sub> y aridez (Ferrusquía-Villafranca y González-Guzmán, 2005; Arakaki et al., 2011); así como ecológicos, principalmente relativos al cambio y diversificación de polinizadores (Hernández-Hernández et al., 2014). El resultado de estos procesos fue la adquisición de la succulencia (Ogburn y Edwards, 2010), así como la variabilidad (en términos taxonómicos) de los sistemas reproductivos; lo cual a su vez, derivó en una alta representación de evolución convergente y paralela en la familia (Hernández-Hernández et al., 2011).

La evolución convergente y paralela, dentro de las constricciones impuestas por la succulencia ocasionan una gran escasez de sinapomorfías que a su vez dificultan el soporte de las relaciones taxonómicas entre taxones, principalmente aquellas a nivel de especie (Terrazas y Arias, 2002; Hernández-Hernández et al., 2011).

En cuanto a la evidencia molecular, los tratamientos filogenéticos de la familia Cactaceae también han encontrado dificultades en la baja divergencia de las secuencias y mecanismo de herencia del cloroplasto (uniparental), el cual ha sido usado tradicionalmente en sistemática molecular de plantas (Bremer et al., 2003; Shaw et al., 2005, 2007). Es decir, las secuencias de cloroplasto representan una sola fuente de evidencia, que además provee relativamente poca informatividad.

Adicionalmente, la resolución de los marcadores plastídicos disminuye al utilizarse en especies cercanamente relacionadas, dado que al poseer (el cloroplasto) un bajo tamaño efectivo poblacional es común la persistencia de haplotipos interespecíficos (Jakob y Blattner, 2006). Las limitantes de la resolución obtenida a partir de secuencias plastídicas a niveles taxonómicos cercanos al de especie (Duminil y Di Michele, 2009; Petit y Excoffier, 2009) son principalmente consecuencia de la edad reciente de la familia Cactaceae, estimada entre 32 y 35 millones de años (Arakaki et al., 2011; Hernández-Hernández et al., 2014).

Por otra parte, los genes nucleares, que en plantas tienen una mayor diversidad nucleotídica que los plastídicos (Small et al., 1998; Ilut and Doyle, 2012); se han utilizado de forma muy limitada (Perez et al., 2015) y, al menos en algunas

cactáceas columnares de Norteamérica, son altamente homoplásicos debido a la repartición incompleta de linajes (*incomplete lineage sorting*), que a su vez es consecuencia de los largos tiempos generacionales y grandes tamaños poblacionales (Copetti et al., 2017).

La presencia de especies crípticas (Bickford et al., 2007), a pesar de haber sido pobremente evaluada en el caso de las cactáceas (Korotkova et al., 2011), sumada a los factores arriba descritos producen un alto grado de incertidumbre taxonómica, limitando seriamente la generación de clasificaciones robustas en varios grupos de cactáceas y, por lo tanto, el conocimiento acerca de sus relaciones y procesos evolutivos (Guerrero et al., 2018). Consecuentemente, tanto en las especies que presentan algún tipo de uso (como alimenticio o farmacológico) (Bennett y Balick, 2014) como para propósitos de conservación (Duarte et al., 2014) es crucial contar con tratamientos taxonómicos sólidos.

## Diversidad genética en cactáceas columnares

Los primeros estudios sobre diversidad genética de cactáceas columnares indicaban una mayor diversidad genética en comparación con una amplia muestra de plantas con los mismos rasgos de historia de vida, es decir, leñosas con ciclo de vida largo, perennes, con polinización biótica y predominantemente exógamas (Hamrick et al., 2002). Si bien dicha comparación es relativa pues los marcadores empleados (aloenzimas) se caracterizan por una subestimación general de la diversidad en comparación con marcadores modernos (Adhikari et al., 2017). Trabajos posteriores, incluyendo diversos marcadores, demostraron que la tribu Pachycereae *sensu* Barthlott y Hunt (2000), la cual incluye al género *Stenocereus*, presenta valores altos de heterocigosidad ( $He=0.129-0.402$ ) (Cornejo-Romero et al., 2013).

Los valores de diversidad y diferenciación genética de las cactáceas columnares están determinados por los rasgos de historia de vida, tipo de sistema de apareamiento, polinizadores de amplia distribución y vagilidad, barreras biogeográficas, historia demográfica y cambios paleoclimáticos (ver ejemplos en Tabla 1). Un patrón común a la forma de crecimiento columnar arborescente es su asociación con la quiropterofilia (Valiente-Banuet et al., 1996), así como la presencia de autoincompatibilidad reproductiva, que es frecuente en la familia Cactaceae. (Ganders, 1976; Boyle, 1997). Estos dos factores ocasionan un sistema de apareamiento por exocruza, con limitantes para la entrecruza dentro del vecindario genético, de manera que el flujo génico mediado por los polinizadores (Nassar et al., 2003) puede ocurrir entre individuos localizados a cientos de kilómetros (Horner et al., 1998), aumentando así la diversidad genética y disminuyendo la diferenciación entre poblaciones (Loveless y Hamrick, 1984; Hamrick et al., 2002).

Las configuraciones históricas de los cambios climáticos y ecológicos se manifiestan de manera espacial en el presente mediante los denominados centros de diversidad de cactáceas, que en Norte y Centroamérica son: Chihuahua, Sonora-Sinaloa, Jalisco y Puebla-Oaxaca. Éste último corresponde en su mayor parte al Valle de Tehuacán-Cuicatlán, y si bien no es el más diverso en términos de riqueza absoluta, sí lo es en cuanto a especies con forma de crecimiento columnar (Mutke et al., 2015).

Tomando como evidencia la alta diversidad de especies en la región Puebla-Oaxaca, así como su alta diversidad genética, es de esperar cierto grado de correlación como respuesta a efectos ambientales paralelos (Vellend y Geber, 2005). Una compilación a nivel nacional basada en estimaciones de la diversidad genética medida como heterocigosidad esperada de 12 especies de

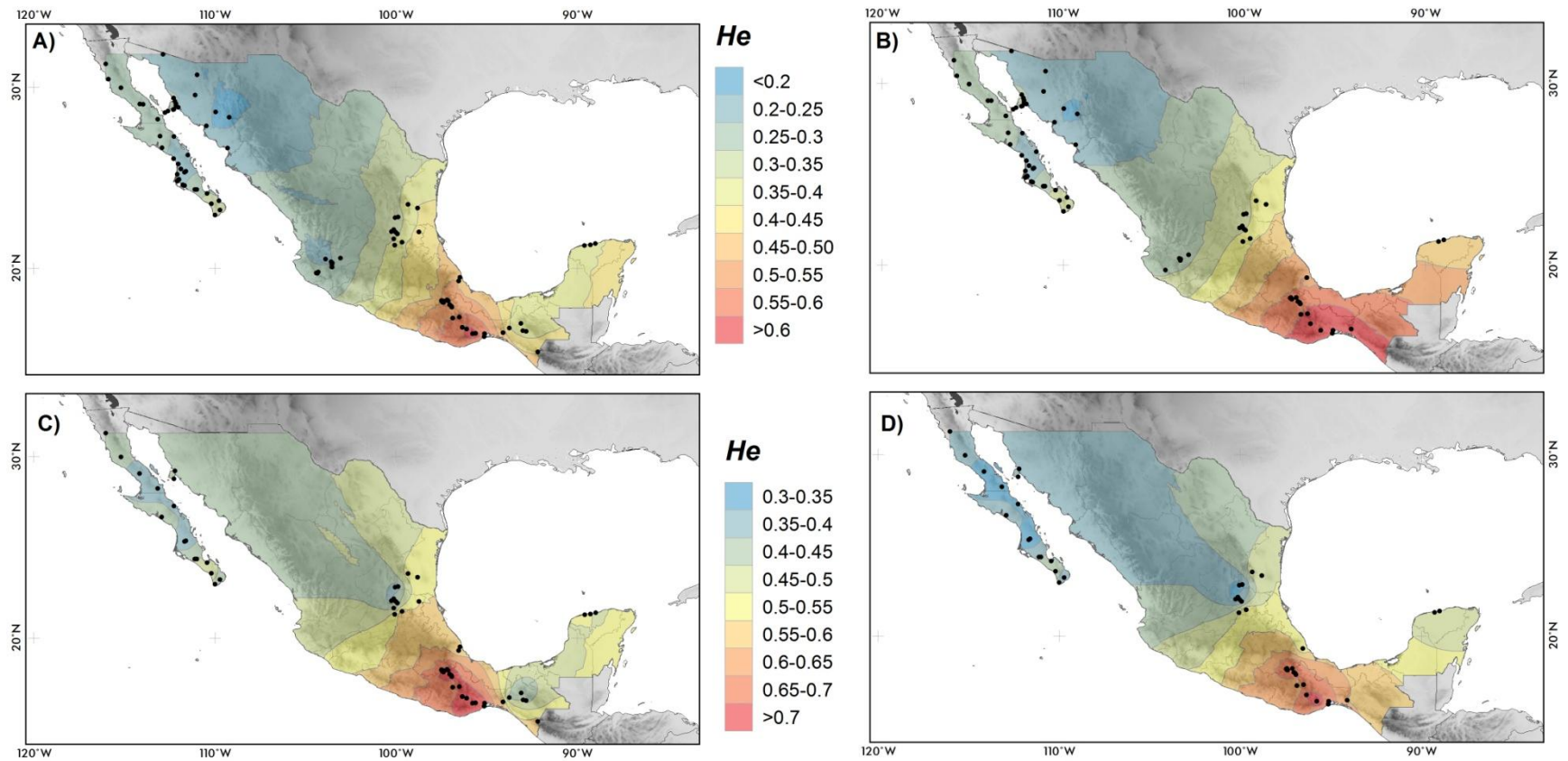
Stenocereinae (Alvarado-Sizzo, datos no publicados), muestra que existe un patrón consistente en valores mayores hacia el sur del país, específicamente en los subsistemas de la Sierra Madre del Sur denominados Sierras Orientales, Sierras y Valles de Oaxaca así como Sierras Centrales de Oaxaca; mientras que hacia el noreste y noroeste se observa una caída en los valores hasta niveles mínimos en la península de Baja California (Figura 1).

#### Diversidad genética y manejo

Las cactáceas columnares de Norteamérica se ubican, en su mayoría, dentro de la tribu Echinocereae (Sánchez et al., 2014). Dentro de ésta, diversas especies de la subtribu Pachycereinae, en su mayoría de los géneros *Pachycereus* y *Cephalocereus*, así como de la subtribu Stenocereinae, es decir, *Escontria*, *Myrtillocactus*, *Polaskia* y *Stenocereus* (Gibson y Horak, 1978) han sido usadas por humanos desde hace unos 10,500 años, principalmente como alimento, aunque también como combustible, material de construcción, cercos vivos y producción de bebidas alcohólicas (Smith, 1967; Casas y Barbera, 2002).

El género *Stenocereus* (A. Berger) Riccob. se conforma de 23 especies reconocidas, de las cuales 16 son manejadas, cultivadas o una combinación de ambas (Capítulo III). Mientras que algo similar ocurre con los otros géneros de la subtribu (Tabla 2). Consecuentemente, estas especies han estado sujetas a selección humana (Casas et al., 1999), siendo las especies *S. stellatus* y *S. pruinosus* las que cuentan con mayor número de estudios.

El impacto del manejo y cultivo sobre la diversidad genética se ha estudiado al menos para ocho especies de la subtribu, en nueve trabajos diferentes (Tabla 2: Capítulo III). En dichos estudios, la tendencia general es la homogeneidad en los valores tanto de diversidad como de estructura genética entre categorías de manejo. No obstante, se llegan a distinguir dos tendencias: poblaciones silvestres con mayor diversidad que los sistemas bajo manejo en *Polaskia chende* (Contreras-Negrete et al., 2015) y el patrón inverso en *S. stellatus* y *S. pruinosus* (Casas et al., 2006; Parra et al., 2010; Cruse-Sanders et al., 2013), que a su vez, son las más intensamente manejadas. Otra forma de evaluar el efecto del manejo es mediante la diferenciación genética, calculada mediante análisis de varianza molecular (AMOVA, Excoffier et al., 1992), pero en este caso el porcentaje máximo de varianza atribuido a la categoría de manejo nunca supera el 3% (Contreras-Negrete et al., 2015).



**Figura 1:** Interpolación kriging de los valores de diversidad genética estimada como  $H_e$  en especies de Stenocereinae. A) Todos los marcadores, sin considerar categoría de manejo. B) Todos los marcadores, solo poblaciones silvestres. C) Solo SSRs, sin considerar categoría de manejo. D) Solo SSRs y poblaciones silvestres. Puntos negros corresponden a las poblaciones empleadas en el interpolado, provenientes de los trabajos citados en la Tabla 2.





**Tabla 1:** Factores documentados que afectan la diversidad y diferenciación genética en algunas cactáceas columnares

Referencia	Especie	Proceso	Efecto genético	Región
Nassar et al., 2003	<i>Stenocereus griseus</i>	Alta dispersión del polinizador	Alta diversidad, baja diferenciación	Norte de Venezuela
Lozano Garza, 2013	<i>S. gummosus</i>	Vicarianza	Evidencia de diferenciación regional	Península de Baja California
Molina-Freaner y Clark-Tapia, 2005	<i>S. eruca</i>	Especiación peripátrica, clonalidad	Baja diversidad	Península de Baja California
Bustamante et al., 2016	<i>S. thuberi</i>	Alta dispersión del polinizador	Alta diversidad, moderada diferenciación	Desierto sonorense
Gutiérrez-Flores et al., 2016	<i>Pachycereus pringlei</i>	Variación del sistema sexual y refugio glacial	Baja diversidad y diferenciación poblacional	Península de Baja California y desierto sonorense
Cornejo-Romero et al., 2017	<i>Cephalocereus columna-trajani</i>	Refugio glacial y expansión poblacional	Baja diferenciación	Valle de Tehuacán
Bonatelli et al., 2014	Complejo <i>Pilosocereus aurisetus</i>	Refugios interglaciales, especiación	Alta diferenciación	Este y Centro de Brasil

**Tabla 2:** Diversidad y diferenciación genética entre diferentes categorías de manejo en especies de Stenocereinae

Referencia	Especie	Marcador	Heterocigosidad			Distribución de la variación genética (en %)				
			Rango	C	M	S	Regional	Poblacional	Individual	Manejo
Contreras-Negrete et al., 2015	<i>P. chende</i>	Aloenzimas	0.474-0.481		0.474	0.481		21	79	0
Parra et al., 2008	<i>S. pruinosus</i>	Aloenzimas	0.529-0.584	0.588	0.578	0.583		6.40	93.60	
Tinoco et al., 2005	<i>E. chiotilla</i>	Isoenzimas	0.106-0.184		0.122	0.134		6.1-7.4	92.6-93.9	
Casas et al., 2006	<i>S. stellatus</i>	Isoenzimas	0.241-0.333	0.289	0.27	0.253				
Ruán-Tejeda et al., 2014	<i>S. queretaroensis</i>	ISSRs	0.281-0.296	0.281	0.291	0.296	2.60	22.50	76.18	-4.4
Cruse-Sanders et al., 2013	<i>S. stellatus</i>	SSRs	0.45-0.72	0.63	0.64	0.55	1	6	93	No
Otero-Arnaiz et al., 2005	<i>P. chichipe</i>	SSRs	0.559-0.726	0.66	0.621	0.685				
Parra et al., 2010	<i>S. pruinosus</i>	SSRs	0.538-0.758	0.555	0.622	0.67		10.41	90.58	0.0
Contreras-Negrete et al., 2015	<i>P. chende</i>	SSRs	0.602-0.814		0.616	0.677		10	87	3.0
Parra et al., 2014	<i>S. pruinosus</i>	SSRs	0.524-0.841	0.565		0.438				
Parra et al., 2014	<i>S. laevigatus*</i>	SSRs	0.254-0.628	0.254	0.457	0.628	13.59	16.47	69.95	
Parra et al., 2014	<i>S. huastecorum*</i>	SSRs	0.242-0.627	0.692		0.748				

**C**= promedio de las poblaciones cultivadas, **M**= promedio de las poblaciones manejadas, **S**= promedio de las poblaciones silvestres.

\*= consideradas *S. pruinosus* en la publicación original.

## Filogeografía en cactáceas

La filogeografía se consideró originalmente como el puente entre la sistemática molecular y la genética de poblaciones (Avice et al., 1987). Este enfoque aún se considera vigente, aunque no es el único (Hickerson et al., 2010), y particularmente en plantas tiene el potencial de permitir, a través del análisis de la diversidad espacial, los procesos biogeográficos e históricos que moldearon a las especies vegetales actuales (Schaal et al., 1998). A pesar de la utilidad de esta disciplina, las limitantes inherentes al cloroplasto (mencionadas en la sección de incertidumbre taxonómica), que por mucho tiempo ha sido el marcador preferido en filogeografía de plantas, se magnifican en la familia Cactaceae (Bonatelli et al., 2013), limitando su uso al punto de que existen muy pocos estudios filogeográficos del grupo (Bonatelli et al., 2014; Cornejo-Romero et al., 2014, 2017; Ornelas y Rodríguez-Gómez, 2015; Menezes et al., 2016; Franco et al., 2017).

La filogeografía basada en marcadores nucleares tiene el potencial de subsanar algunas de las limitantes de los marcadores plastídicos y la ventaja de reconstruir historias evolutivas independientes (Hare, 2001; Garrick et al., 2010). Actualmente, las aproximaciones genómicas han permitido el conocimiento de marcadores e incluso genomas nucleares de cactáceas con potencial para su aplicación en filogeografía (Perez et al., 2016; Copetti et al., 2017).

El complejo de especies de *Stenocereus griseus* como modelo para el estudio de la diversidad genética en cactáceas columnares bajo manejo

El género *Stenocereus* mantiene una red de relaciones mutualistas que son clave para el funcionamiento de biomas como los matorrales xerófilos y bosques secos (Valiente-Banuet et al., 2002), es un recurso económico importante (Pimienta-Barrios y Nobel, 1994; Casas et al., 2001) e incluso de subsistencia (García-Suárez et al., 2007; Villalobos et al., 2007) para algunos grupos humanos, y por último, representa una singularidad evolutiva dentro de la familia Cactaceae al presentar junto con el género *Echinocereus*, las mayores tasas de diversificación (Hernández-Hernández et al., 2014).

El complejo de especies de *Stenocereus griseus* (CESG) constituye el grupo de *Stenocereus* con la distribución más amplia (desde el Estado de Nuevo León, al norte de México hasta la cuenca del Río Patía al sur de Colombia), a lo largo de la cual se observan diferentes intensidades de manejo que incluyen poblaciones silvestres, manejadas, hasta cultivos (Parra et al., 2008; 2010; 2014). Aunado a lo anterior, su poca variación morfológica (Arreola-Nava, 2006), la ausencia de tipos nomenclaturales (Gibson, 1991) y tratamientos taxonómicos lo han convertido en un grupo desafiante en cuanto a su estudio.

El CESG representa, entonces, un sistema único para el estudio de la variación genética en el género, pues permite el análisis comparativo a nivel individual, poblacional, de paisaje y de especies; tanto en ambientes antrópicos como naturales. No obstante, dicha aproximación necesita forzosamente de un marco taxonómico como punto de partida. Este trabajo constituye un ejercicio inicial para conocer las entidades que conforman el CESG y los factores que moldean su diversidad genética. Para ello, el presente estudio se divide de la siguiente forma:

El capítulo I (*Species delimitation in the Stenocereus griseus (Cactaceae) species complex reveals a new species, S. huastecorum*) se enfoca en resolver los límites entre las especies putativas dentro del CESG mediante una aproximación integrativa que considera evidencia genética, ecológica y morfológica. Adicionalmente, constituye el primer tratamiento taxonómico del grupo, donde se propone la tipificación de las especies del complejo. Las preguntas específicas de este capítulo son: 1) ¿Cuáles son los límites espaciales de las especies del CESG? 2) ¿Existe uso incorrecto del nombre *S. griseus* para las poblaciones mexicanas y sudamericanas? y 3) ¿Cuál es la explicación para la co-ocurrencia de registros de las tres especies del complejo en el país (mala identificación, simpatria o hibridación)?.

El capítulo II (Clave dicotómica y distribución del complejo de especies de *Stenocereus griseus (Cactaceae)*), con base en la delimitación realizada en el capítulo I, presenta el tratamiento taxonómico actualizado del complejo, así como la descripción de la distribución de todas las especies del complejo. Este capítulo constituye una herramienta para la determinación taxonómica al proveer una clave dicotómica e ilustraciones de los caracteres diagnósticos. Por lo tanto, las preguntas a resolver en esta sección son: 1) ¿Cuáles son los caracteres diagnósticos que permiten distinguir las especies del CESG? y 2) ¿Cuál es la distribución espacial y biogeográfica de las especies del complejo?

Una vez resuelta la incertidumbre taxonómica, el capítulo III (Diversidad, diferenciación genética y filogeografía del complejo de especies de *Stenocereus griseus* en poblaciones silvestres y manejadas) analiza la distribución de la diversidad genética en buena parte de la distribución geográfica del CESG, considerando poblaciones cultivadas, manejadas y silvestres. La multiplicidad de escalas espaciales, taxonómica y de manejo, así como la aproximación genética y filogeográfica empleadas en este trabajo construyen un marco sólido para entender el origen de la diversidad genética, su distribución en las especies del complejo, así como el papel del manejo en la misma. Adicionalmente, se generan las primeras evidencias relativas a la evolución de las especies del complejo. Mediante este capítulo se busca contestar las preguntas: 1) ¿Cuál es el patrón

espacial de la diversidad genética del CESG?, y 2) ¿Cómo se distribuye la distribución genética en y entre las especies, considerando tanto la escala espacial como las categorías de manejo?.

## Capítulo I

Species delimitation in the *Stenocereus griseus* (Cactaceae) species complex reveals a new species, *S. huastecorum*.

(Artículo de requisito)

Cita completa:

**Alvarado-Sizzo, H.**, Casas, A., Parra, F., Arreola-Nava, H. J., Terrazas, T., & Sánchez, C. (2018). Species delimitation in the *Stenocereus griseus* (Cactaceae) species complex reveals a new species, *S. huastecorum*. *PloS one*, 13(1), e0190385



RESEARCH ARTICLE

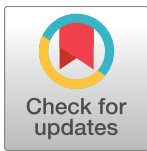
# Species delimitation in the *Stenocereus griseus* (Cactaceae) species complex reveals a new species, *S. huastecorum*

Hernán Alvarado-Sizzo<sup>1</sup>, Alejandro Casas<sup>1\*</sup>, Fabiola Parra<sup>2</sup>, Hilda Julieta Arreola-Nava<sup>3</sup>, Teresa Terrazas<sup>4</sup>, Cristian Sánchez<sup>5</sup>

**1** Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad (IIES), Universidad Nacional Autónoma de México, Morelia, Michoacán, México, **2** Centro De Investigación De Zonas Áridas (CIZA), Universidad Nacional Agraria La Molina, La Molina, Lima, Perú, **3** Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA), Universidad de Guadalajara, Zapopan, Jalisco, México, **4** Instituto de Biología (IB), Universidad Nacional Autónoma de México, Coyoacán, Ciudad de México, México, **5** Herbario de la Universidad de La Guajira, Riohacha, La Guajira, Colombia

✉ Current address: Facultad de Ciencias, Posgrado en Botánica Taxonómica Neotropical, Universidad de los Andes, Núcleo Universitario Pedro Rincón Gutiérrez, Mérida, Venezuela

\* [acasas@iies.unam.mx](mailto:acasas@iies.unam.mx)



**OPEN ACCESS**

**Citation:** Alvarado-Sizzo H, Casas A, Parra F, Arreola-Nava HJ, Terrazas T, Sánchez C (2018) Species delimitation in the *Stenocereus griseus* (Cactaceae) species complex reveals a new species, *S. huastecorum*. PLoS ONE 13(1): e0190385. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190385>

**Editor:** William J. Etges, University of Arkansas, UNITED STATES

**Received:** July 25, 2017

**Accepted:** November 30, 2017

**Published:** January 17, 2018

**Copyright:** © 2018 Alvarado-Sizzo et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement:** All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

**Funding:** This study was supported by the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), which funded the Research project CB-2013-01-221800 and provided a grant (298299) for Hernán Alvarado-Sizzo (URL: <http://www.conacyt.gob.mx/>) and the Program of Support to Research and Technological Innovation (PAPIIT), UNAM, Mexico

## Abstract

The *Stenocereus griseus* species complex (SGSC) has long been considered taxonomically challenging because the number of taxa belonging to the complex and their geographical boundaries remain poorly understood. Bayesian clustering and genetic distance-based methods were used based on nine microsatellite loci in 377 individuals of three main putative species of the complex. The resulting genetic clusters were assessed for ecological niche divergence and areolar morphology, particularly spination patterns. We based our species boundaries on concordance between genetic, ecological, and morphological data, and were able to resolve four species, three of them corresponding to *S. pruinosus* from central Mexico, *S. laevigatus* from southern Mexico, and *S. griseus* from northern South America. A fourth species, previously considered to be *S. griseus* and commonly misidentified as *S. pruinosus* in northern Mexico showed significant genetic, ecological, and morphological differentiation suggesting that it should be considered a new species, *S. huastecorum*, which we describe here. We show that population genetic analyses, ecological niche modeling, and morphological studies are complementary approaches for delimiting species in taxonomically challenging plant groups such as the SGSC.

## Introduction

Morphological characteristics of many cactus species are highly prone to convergent and parallel evolution, as well as losses and reversals [1]. Consequently, there are few synapomorphies for supporting phylogenetic relationships among taxa [2,3]. Molecular data are also limited to improve the understanding of evolutionary relations among species because of the limited availability of nuclear markers for this group [4], low plastid sequence divergence [5] due to the

(research projects IN209214 and IN206217). <http://dgapa.unam.mx/index.php/impulso-a-la-investigacion/papiit>. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

**Competing interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

relatively recent origin and diversification of the Cactaceae [6], and high rates of homoplasy due to incomplete lineage sorting [7]. Therefore, interspecific and lower taxonomic group divergence times are expected to be relatively short as in the *Pilosocereus aurisetus* complex, a relatively young group of species 0.33–0.87 Myr old [8], and in the genus *Harrisia* which includes species approximately 0.20–0.37 Myr old [9]. Frequently, the taxonomic clusters within these closely related groups of species lack morphological and genetic characters for clearly defining their limits [10].

The *Stenocereus griseus* species complex (SGSC) has long been considered a taxonomically puzzling group of taxa. High species similarity in the complex is evident based on stem and flower morphology, triterpene composition, and other characters [11]. Gibson [12] considered a broad distribution for the complex: *S. griseus* from northern Mexico to coastal Venezuela, *S. deficiens* in coastal Venezuela, *S. pruinosus* in southern Mexico, *S. longispinus* in southern Mexico, *S. laevigatus* distributed in southernmost Mexico and northern Guatemala, and *S. hystrix* in the Greater Antilles. Gibson [12] warned about the extensive overlap of morphological features and geographic distribution of these taxa and pointed out a possible anthropogenic influence on their distribution. In fact, Bravo-Hollis [13] suggested that *S. griseus* populations from northern Mexico could have been introduced from Venezuela by humans.

The first comprehensive taxonomic review of the SGSC was accomplished by Arreola-Nava [14] as part of a survey of the whole genus *Stenocereus* in which extensive synonymy was found: *S. deficiens* and *S. longispinus* were considered synonyms of *S. griseus* and *S. laevigatus*, respectively, and Antillean *S. hystrix* or *S. fimbriatus* were considered as illegitimate names for *S. peruvianus*. Conversely, *S. pruinosus* has remained unchanged. Therefore, four species are currently considered members of the SGSC (Table 1), and it can be included into the larger *S. griseus* group that also includes *S. fricii* and *S. chacalapensis*. Phylogenetic analysis based on the plastid *rpl16* intron and the whole *trnL-trnF* region, along with morphological characters including rib number and stem color [12,13], did not resolve the species in this group [15].

The lack of agreement may be due to the intricate distributional pattern of the complex: herbarium specimens records describe assorted accessions of *S. griseus* and *S. pruinosus* in northern and southern Mexico (Chiapas and Yucatán) where a third species, *S. laevigatus* (Fig 1) is well represented. Records of co-occurrence can be explained either by misidentification or sympatry.

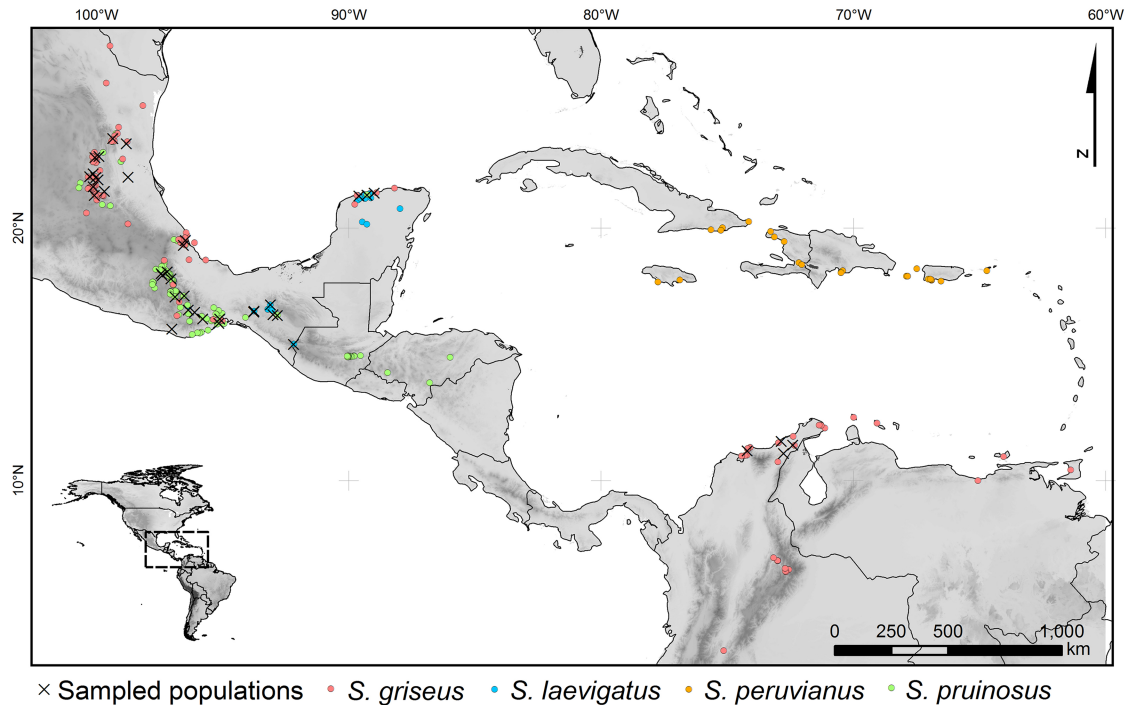
Other than these taxonomic issues, introgression may be occurring among members of the complex. Parra et al. [16], reported measurable gene flow between *S. laevigatus* and *S. griseus* in the southern and northern limits of the range of *S. pruinosus*. If gene flow is occurring within the SGSC complex, understanding genetic barriers between species will likely shed light on species boundaries throughout their ranges. The distribution of the SGSC includes the Chiuhua and Puebla-Oaxaca diversity centers of cacti [17] interrupted by the Trans-Mexican

**Table 1. Synonymies of SGSC according to previous reviews and geographical distributions reported.**

Region	Reference		
	Bravo-Hollis [13]	Gibson [12]	Arreola-Nava [15]
Mexico	<i>S. griseus</i>	<i>S. griseus</i>	<i>S. griseus</i>
	<i>S. pruinosus</i>	<i>S. pruinosus</i>	<i>S. pruinosus</i>
	<i>S. laevigatus</i>	<i>S. longispinus</i> <i>S. laevigatus</i>	<i>S. laevigatus</i>
Greater Antilles		<i>S. hystrix</i>	<i>S. peruvianus</i>
South America	<i>S. griseus</i>	<i>S. griseus</i>	<i>S. griseus</i>
		<i>S. deficiens</i>	

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190385.t001>





**Fig 1. Distribution of the *Stenocereus griseus* species complex (SGSC) taxa, as considered by Arreola-Nava [15].**

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190385.g001>

Volcanic Belt (TMVB), a biogeographic barrier dating back to the Middle Miocene (19.5 to 16 Myr ago) [18]. The Puebla-Oaxaca center includes the Tehuacan Valley region, an early quaternary (2 Myr) sedimentary basin [19] where 64% of Mexican cactus species occur [20] and the Oaxaca Central Valleys. Both regions are isolated by highlands of the Sierra Madre del Sur including the Mixteca Alta and northern and southern ranges in Oaxaca [21], where most SGSC records have originated, mainly those of *S. pruinosus* (Fig 1). To the east of the Sierra Madre del Sur, the distribution of SGSC continues through the Pacific Coast and the Isthmus of Tehuantepec, a well-known biotic barrier [22] for temperate organisms [23]. For the Cactaceae and specifically the tribe Cacteae, this area is part of a larger Central America [24] or Mexican Pacific Coast [25] region. The estimated divergence times for plant taxa across the Isthmus of Tehuantepec ranges from 25 to 4 Myr [26 and references therein], the most recent corresponding to the splitting of *Rhipsalis baccifera* populations [23]. In southern Mexico and Central America, divergence times are associated with the Yucatán Peninsula Karst (3.6 Myr to 18,000 years old) [26], the Central Depression of Chiapas, a 3 Myr old valley formed by the uplift of Chiapas volcanic ranges [27], and the Motagua-Polochic canyons, an active fault at least 15 Myr old [28]. *S. peruvianus* is restricted to the Greater Antilles that are 35 Myr old [29]. Finally, a distributional gap is found through the Lesser Antilles, except for the Leeward Islands [30]. The southernmost records of the genus *Stenocereus* are found in Colombia and Venezuela [14], specifically in the Caribbean Coast of North Colombia and Venezuela and the Inter-Andean Valleys [31–33].

The aim of this study is to delimit the SGSC by implementing population genetics clustering methods (Bayesian clustering and distance-based methods) and testing the congruency of these groupings with ecological and morphological analyses. We tested the hypothesis that *S. griseus* is a homonym comprising two different taxa, one from Mexico and the other from northern South America. We complemented the species delimitation with spatial references

of taxa of the SGSC and its genetic barriers, and the description of the new species *S. huastecorum*.

## Materials and methods

### Ethics statement

The permit for collecting plant material in Mexico for studies was provided by national or federal authorities of the Mexican Ministry of Environment and Natural Resources (SEMARNAT) and the National Commission for the Natural Protected Areas (CONANP); in Colombia collection was made under permission of the Ministry of Environment and Sustainable Development (MINAMBIENTE). In addition, we obtained permission from the local authorities and communitarian assemblies of the villages whose territories contained the *Stenocereus* populations we studied. None of the studied taxa are specially protected or endangered species.

### Sampling and study sites

The distribution of the SGSC was compiled from records of biodiversity databases including Tropicos, GBIF, REMIB, and CONABIO, together with information retrieved from herbarium specimens from CHAP, CHAPA, COL, ENCB, IEB, MEXU, UTM, and XAL (codes following Index Herbariorum [34]). We collected 10–15 cm rib strips from 377 individuals over 35 Mexican populations and four from Colombia (Fig 1); samples were preserved in silica gel for transporting to the laboratory where the tissue was frozen, and then lyophilized in a Christ Alpha 2–4 LD Freeze Dryer (Martin Christ Freeze Dryers, Osterode, Germany).

### Molecular methods

DNA was isolated from either frozen or lyophilized chlorenchyma using the CTAB-based DNA isolation procedure [35]. We tested 15 microsatellite loci previously developed for *Polaskia chichipe* [36,37], *Stenocereus stellatus* [38], and *Stenocereus gummosus* [39]. PCRs with loci suitable for genotyping (see genotyping and markers suitability in the Results section) were carried out in a MultiGene OptiMax (Labnet International, Inc., Edison, NJ, USA) or in a 2700 thermal cycler (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). We pooled three primers from *P. chichipe* and one from *S. stellatus* in one multiplex reaction, as well as four primers from *S. gummosus* in another one. In addition, we separately amplified primer JCS73 isolated from *S. stellatus* (see Table A in S1 Appendix for primers and multiplex reactions details). Every reaction was driven to a 5  $\mu$ L final volume containing 2.5  $\mu$ L Platinum Multiplex PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), 2  $\mu$ L PCR grade H<sub>2</sub>O, 0.5  $\mu$ L DNA template (50–200 ng/ $\mu$ L), and a negligible volume of primer mix reaching 70 nM. JCS73 required replacing 0.5  $\mu$ L of H<sub>2</sub>O by the same G/C enhancer volume in order to assure amplification success. Both multiplex reactions required an annealing temperature of 56°C, while we used 50°C for JCS73; 40 cycles were used in every PCR reaction. Additional cycling conditions were implemented following manufacturer directions.

### Genotyping and marker suitability

Capillary electrophoresis was performed in a 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Genotyping was achieved by using the PeakScanner software v1.0 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), while scoring errors and null alleles were searched through MICRO-CHECKER [40], and linkage disequilibrium tests were performed

by using Genepop [41]. Once the suitable marker set was determined, we performed two types of grouping analysis: Bayesian clustering and genetic distance based methods.

### Bayesian clustering

Three Bayesian methods were used: STRUCTURE [42], which performed with one million Markov chain Monte Carlo discarding the first 100 000 as burn-in and testing up to 15 groups, 10 iterations each. The group number ( $K$ ) was determined via the Evanno method [43] through the online service STRUCTURE HARVESTER [44]. The Geneland R Package [45] was performed using 100,000 iterations with a 10,000 thinning, testing 20 groups with 10 repetitions each. We considered as group number the highest likely value of the resulting distribution. TESS [46] was run testing from 2 to 20 Kmax, 100 000 sweeps were performed discarding the first 10%; then the top 20% DIC values runs were filtered and averaged by every Kmax in order to use the criterion recommended by François and Durand [47] for choosing the most likely number of groups. Both STRUCTURE and TESS most likely group number ( $K$  and Kmax, respectively) iterations were analyzed with CLUMPP [48] in order to summarize individual assignment values.

### Distance-based approaches

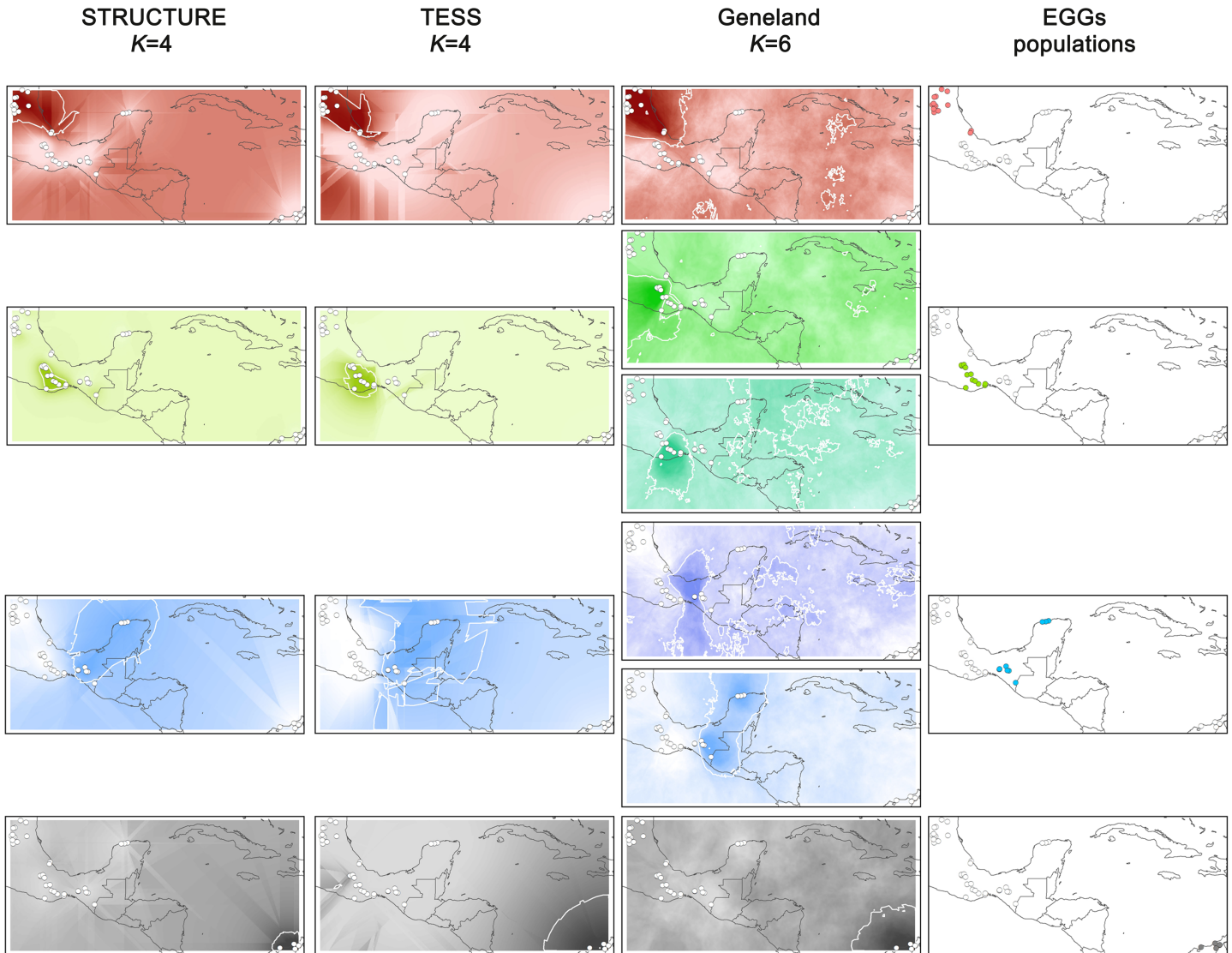
A Nei's standard genetic distance [49] matrix was calculated per population with MSA software [50] bootstrapping it 1000 times. Then, the Barrier [51] program was run for testing three barriers (considering four taxa). Finally, a UPGMA phenogram [52] was built in MEGA 6 [53] with the same distance matrix used for Barrier.

### Geostatistics and Bayesian consensus

Kriging interpolation was performed from each Bayesian clustering individual Q-matrix with the ArcMap 10.1 (Redlands, CA, USA) Geostatistical Analyst extension. We defined the genetic groups as high probability areas ( $\geq 60\%$  of belonging probability) and their equivalence when these comprised the same populations across the three clustering methods (Fig 2). We summed the kriging raster files of equivalent genetic groups (EGGs) in order to obtain a consensus value for each pixel. Finally, each EGG consensus raster was standardized and we projected the top 75% belonging probability as areas (Bayesian consensus, hereafter "BC"), each named after the most common species records included. Distance-based approaches were superimposed over the BC map (Fig 3) in order to spot biogeographic barriers, thus summarizing every genetic method employed.

### Ecological niche modelling (ENM) and comparisons

The SGSC records were obtained by merging the herbarium records with our own collections, and these data were curated by removing points whose values were clearly rounded up or with incorrect geo-references. ENM was performed by Maxent 3.3.3 [54] using 313 records and the 19 bioclimatic variables from Worldclim [55] at 30 arc-second resolution. The variables BIO2 (Mean Diurnal Range), BIO3 (Isothermality), BIO11 (Mean Temperature of Coldest Quarter), BIO13 (Precipitation of Wettest Month), BIO15 (Precipitation Seasonality), and BIO19 (Precipitation of Coldest Quarter) that contributed to 95% of the model and showed low correlations were selected to perform individual (species) niche modeling defined by the occurrences intersecting each BC polygon, which contained 59 records for *S. griseus*, 111 for *S. huastecorum*, 78 for *S. laevigatus*, and 65 for *S. pruinosus*. For each model, 10,000 random points were used in order to extract bioclimatic data for the environmental background.



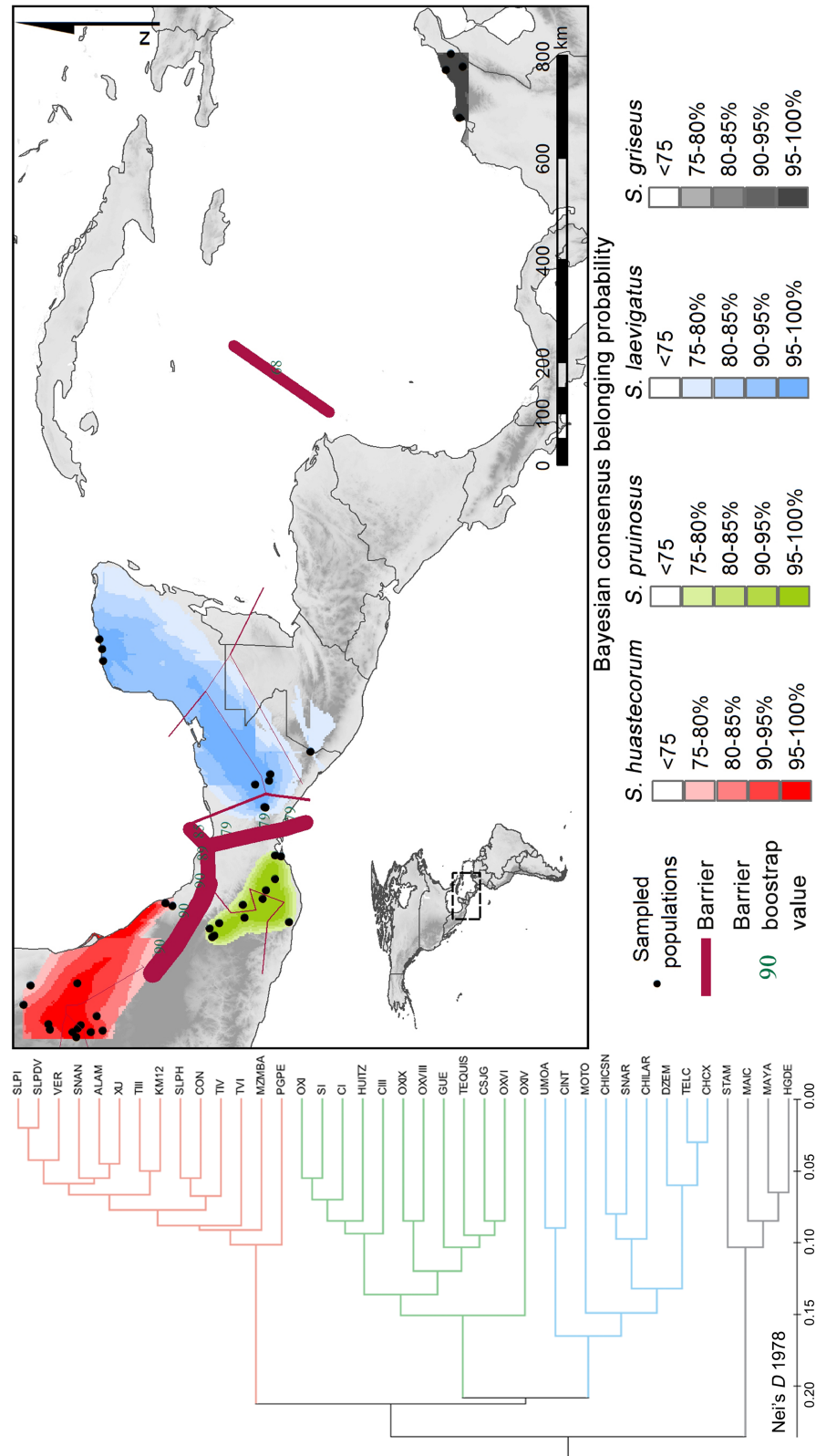
**Fig 2. Kriging interpolation of individual Q-matrix by each clustering method.** The first three maps columns (left to right) depict the interpolated assignment probability for each method (labeled in the heading) and  $K$  is the number of groups detected by each. Groups containing the same populations across methods (EGGs) are placed alongside and keep the same color hue, whereas the color gradient saturation represents higher probability: red = *S. griseus*-Mexico (here designated *S. huastecorum*); green = *S. pruinosus* and its subgroups (green shades in Geneland maps); blue = *S. laevigatus* and its subgroups (blue shades in Geneland maps), and dark gray = *S. griseus*. White bullets represent populations. EGGs populations are represented at the rightmost column by bullets which follow the color code before described.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190385.g002>

In order to evaluate differences among species ecological niches, two methods were used: Contact zone analysis [56] and the multivariate method proposed by McCormack et al. [57]. Comparisons were carried out between spatially contiguous BC polygons (*S. pruinosus* vs. *S. laevigatus*, and *S. laevigatus* vs. *S. griseus*), those suspected to be sympatric (*S. huastecorum* vs. *S. pruinosus*) and homonyms (*S. huastecorum* vs. *S. griseus*).

### Morphometric analysis

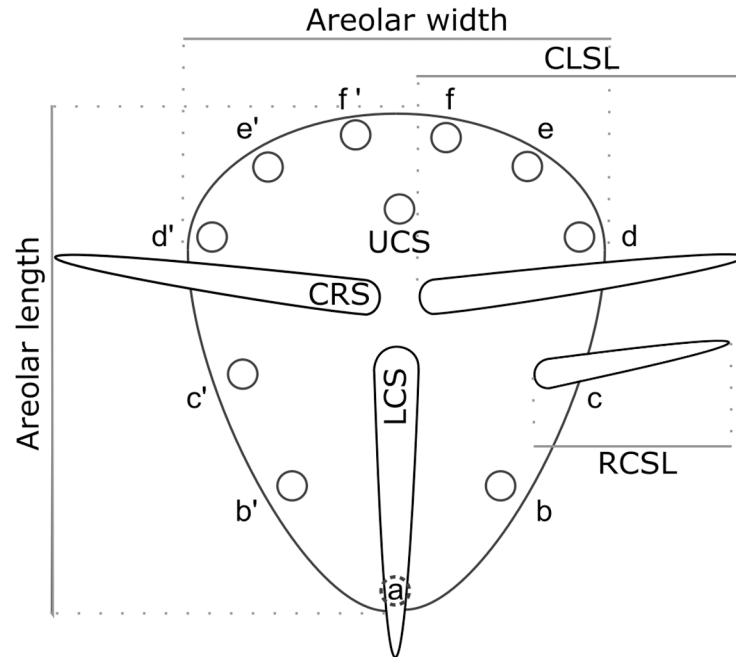
Voucher specimens at MEXU and samples from our collections that contained vegetative portions of stems (subapical areolas may contain additional spines derived from the flower and mature areolas often loss upper peripheral spines) were considered to measure areolar



**Fig 3. Genetic clustering summary.** Color gradients represent BC belonging probability starting from the 75% threshold value, purple bars with green types bootstrap values are the three genetic barriers detected by Barrier, at the left the UPGMA dendrogram following the color code used in the BC.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190385.g003>





**Fig 4. Structural characters measured.** CLSL: central-left spine length, CRS: central-right spine, LCS: lower central spine, UCS: upper central spine, RCLS: radial c-homologous spine length, lower-case letters: radial spines (pairs represented by the same letter).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190385.g004>

structures, thus reducing the individual numbers to 29 (*S. griseus*), 30 (*S. huastecorum*), 14 (*S. laevigatus*), and 16 (*S. pruinosus*). We measured areolar length and width, central spines and a radial homologous spine (named "c-homologous" according to the pattern described by Gibson and Nobel [58]) length, and counted radial and central spines (Fig 4). In order to assess homologous structure comparisons, we followed the areolar development described in [58] as implemented by Tapia et al. [59] in the columnar genus *Neobuxbaumia*. We performed *t*-tests in JMP7 [60] for every variable with clear homology.

## Nomenclature

The electronic version of this article in Portable Document Format (PDF) in a work with an ISSN or ISBN will represent a published work according to the International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants, and hence the new names contained in the electronic publication of a PLOS article are effectively published under that Code from the electronic edition alone, so there is no longer any need to provide printed copies.

In addition, new names contained in this work have been submitted to IPNI, from where they will be made available to the Global Names Index. The IPNI LSIDs can be resolved and the associated information viewed through any standard web browser by appending the LSID contained in this publication to the prefix <http://ipni.org/>. The online version of this work is archived and available from the digital repositories PubMed Central and LOCKSS.

## Results

### Genotyping and marker suitability

Thirteen out of 15 SSRs markers yielded positive PCR products as revealed by 2% agarose gel electrophoresis. However, we discarded four of these loci because they exhibited non-allelic

patterns (JCS1 and JCS51), lack of polymorphism (Sgum12), and extensive occurrence of null alleles (Sgum25). After evaluating linkage disequilibrium, we used the final set of loci including Pchi 20, 50, and 54, JCS 49 and 73, as well as Sgum 06, 29, 36, and 39 (for details see [S1 Appendix](#)).

### Bayesian clustering

STRUCTURE and TESS detected four EGGs including the same populations (Figures A and B in [S2 Appendix](#)), which were designated as *S. huastecorum*, *S. pruinosus*, *S. laevigatus* in northern, central, and southern Mexico, respectively, and *S. griseus* from northern Colombia. Geneland, however, showed six groups (Fig C in [S2 Appendix](#)), two of them were exactly equivalent to *S. huastecorum* and *S. griseus*, respectively; whereas two groups (Tehuacán and southern Oaxaca) are contained into *S. pruinosus* ([Fig 2](#)), finally, *S. laevigatus* splits into Cintalapa populations and the remaining populations of this species ([Fig 2](#)).

### Distance-based approaches

The Barrier tests revealed three observable geographic barriers: a central/northern barrier supported by high bootstrap values (85–90%), the Isthmus of Tehuantepec (79%), and the third separated the Colombian populations from Mexican taxa, with a 68% support (the purple bars in [Fig 3](#)). The UPGMA phenogram ([Fig 3](#)) showed four branches matching the STRUCTURE/TESS clustering; the greatest genetic divergence corresponds to the Colombian *S. griseus* (Nei's  $D$  0.253–0.293), whereas among the Mexican populations *S. huastecorum* differs from *S. pruinosus* and *S. laevigatus* by 0.262 and 0.204 Nei's  $D$ , respectively. These last two species are the closest related taxa, differing from each other by Nei's  $D$  = 0.156.

### Ecological niche modeling comparisons

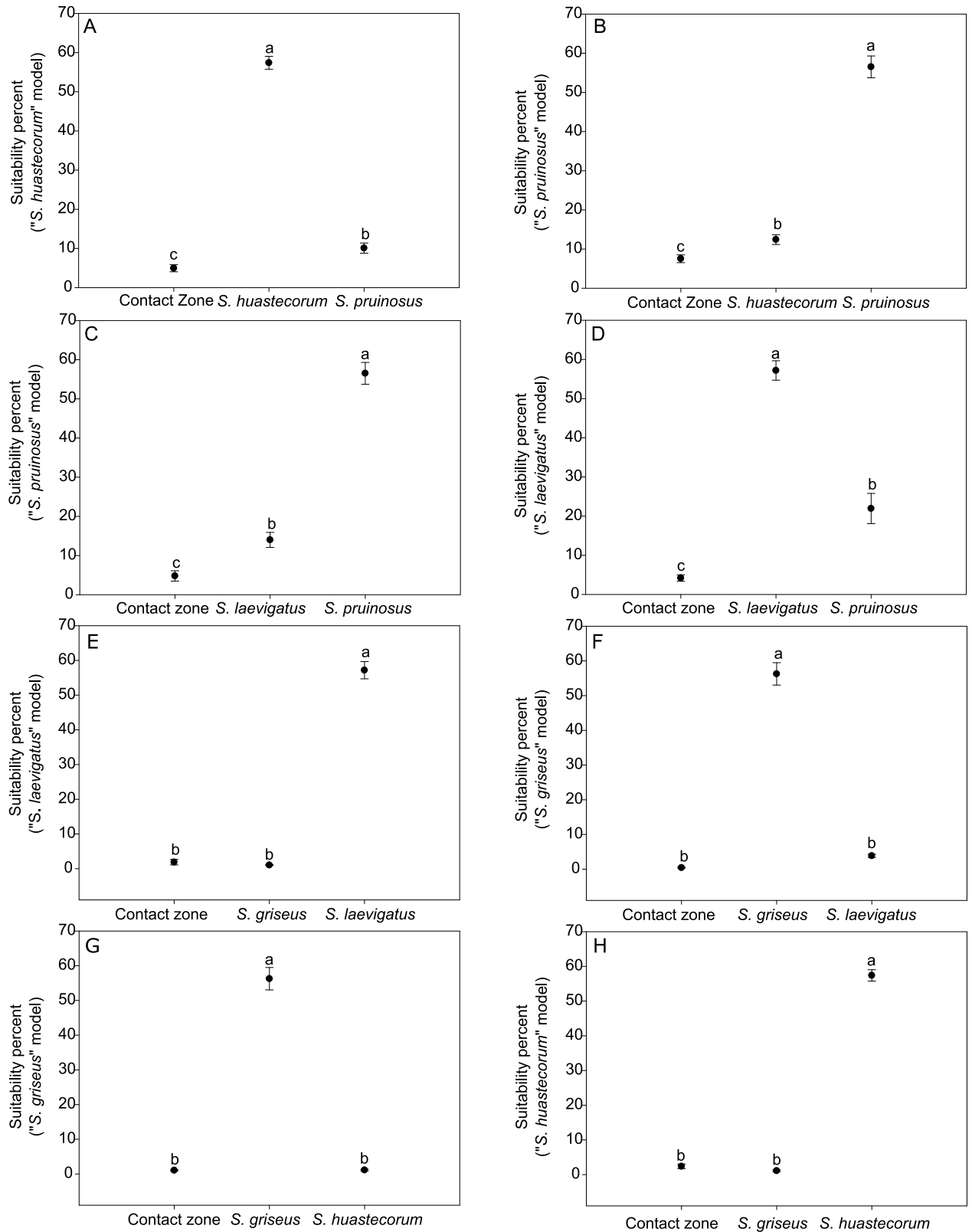
The Contact Zone Analysis (CZA) [56], revealed that every pairwise comparison showed clear suitability differences; however, it failed to distinguish the contact zones of *S. griseus* with *S. laevigatus* and *S. huastecorum* ([Fig 5E–5H](#)). Conversely, the McCormack et al. [57] method showed general differentiation in principal components 1, 2, and 4, which together explained 74.87% of the variance, and partially for PC 3, which failed in the comparisons by the CZA. PC 5 showed no differentiation between *S. huastecorum* vs. *S. pruinosus* and *S. huastecorum* vs. *S. griseus* ([Table 2](#)).

### Morphometric analysis

Areolar width and length showed no differences between the taxa analyzed. The lower central and radial c-homologous spines length failed to differentiate *S. huastecorum* from *S. griseus* and *S. pruinosus* from *S. laevigatus*. Both radial and central spines counting displayed full dissimilarity between species ( $t = 1.989$ ,  $df = 84$ ,  $P < 0.005$  and  $t = 1.988$ ,  $df = 85$ ,  $P < 0.05$ ). Since *S. griseus* lacks upper left and right central spines, these comparisons could be performed only for the Mexican taxa, and among these only *S. huastecorum* differed from both *S. pruinosus* and *S. laevigatus* ( $t = 2.010$ ,  $df = 49$ ,  $P < 0.05$  and  $t = 2.011$ ,  $df = 48$ ,  $P < 0.05$ ) ([Fig 6](#)).

### Taxonomy

*Stenocereus griseus* (Haw.) Buxb., *Botanische Studien* 12:100. 1961 [61]. [urn:lsid:ipni.org:names:244634-2:1.3.2.1]. Type: América meridional, (unknown). Neotype (here designated) Colombia, Departamento de La Guajira, Municipio de Uribia, 8 km de Manaure. 31-Enero-1963, C. Saravia T. N°. 2183 (COL98661).



**Fig 5. Niche suitability pairwise comparisons based on t-tests.** Different letters represent levels of significant differences.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190385.g005>



**Table 2. Pairwise comparisons of Ecological niche principal components and two-ways background tests.**

Pairwise comparison	Niche axes									
	PC1		PC2		PC3		PC4		PC5	
<i>S. huastecorum</i> vs <i>S. pruinosus</i>	<b>0.3369</b>		<b>1.3788</b>		<b>0.6422</b>		<b>0.5282</b>		0.1474	
Background tests	0.0419	<b>1.6743</b>	<b>0.7520</b>	<b>2.0177</b>	<b>1.0944</b>	<b>0.3950</b>	<b>1.2178</b>	<b>0.8736</b>	<b>0.2416</b>	0.0649
<i>S. pruinosus</i> vs <i>S. laevigatus</i>	<b>2.0910</b>		<b>0.3313</b>		<b>0.3860</b>		<b>0.5077</b>		0.0160	
Background tests	<b>2.7793</b>	<b>1.7122</b>	<b>1.0676</b>	<b>0.2955</b>	0.0978	<b>0.8382</b>	<b>0.3178</b>	<b>1.1973</b>	<b>0.5972</b>	0.1102
<i>S. laevigatus</i> vs <i>S. griseus</i>	<b>0.6726</b>		<b>1.1603</b>		0.1296		<b>0.6940</b>		<b>0.3032</b>	
Background tests	0.0157	<b>1.7122</b>	<b>0.3068</b>	<b>1.8966</b>	<b>0.4104</b>	<b>0.6133</b>	<b>1.2786</b>	<b>0.5033</b>	<b>0.2753</b>	<b>0.8874</b>
<i>S. huastecorum</i> vs <i>S. griseus</i>	<b>2.4267</b>		<b>2.2078</b>		0.1266		<b>0.7144</b>		<b>0.4376</b>	
Background tests	<b>3.3591</b>	<b>1.0893</b>	<b>2.8847</b>	<b>0.7407</b>	0.1542	<b>0.9105</b>	<b>1.2990</b>	<b>1.0599</b>	<b>0.4067</b>	<b>0.2252</b>

Boldfaces represent statistical significance.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190385.t002>

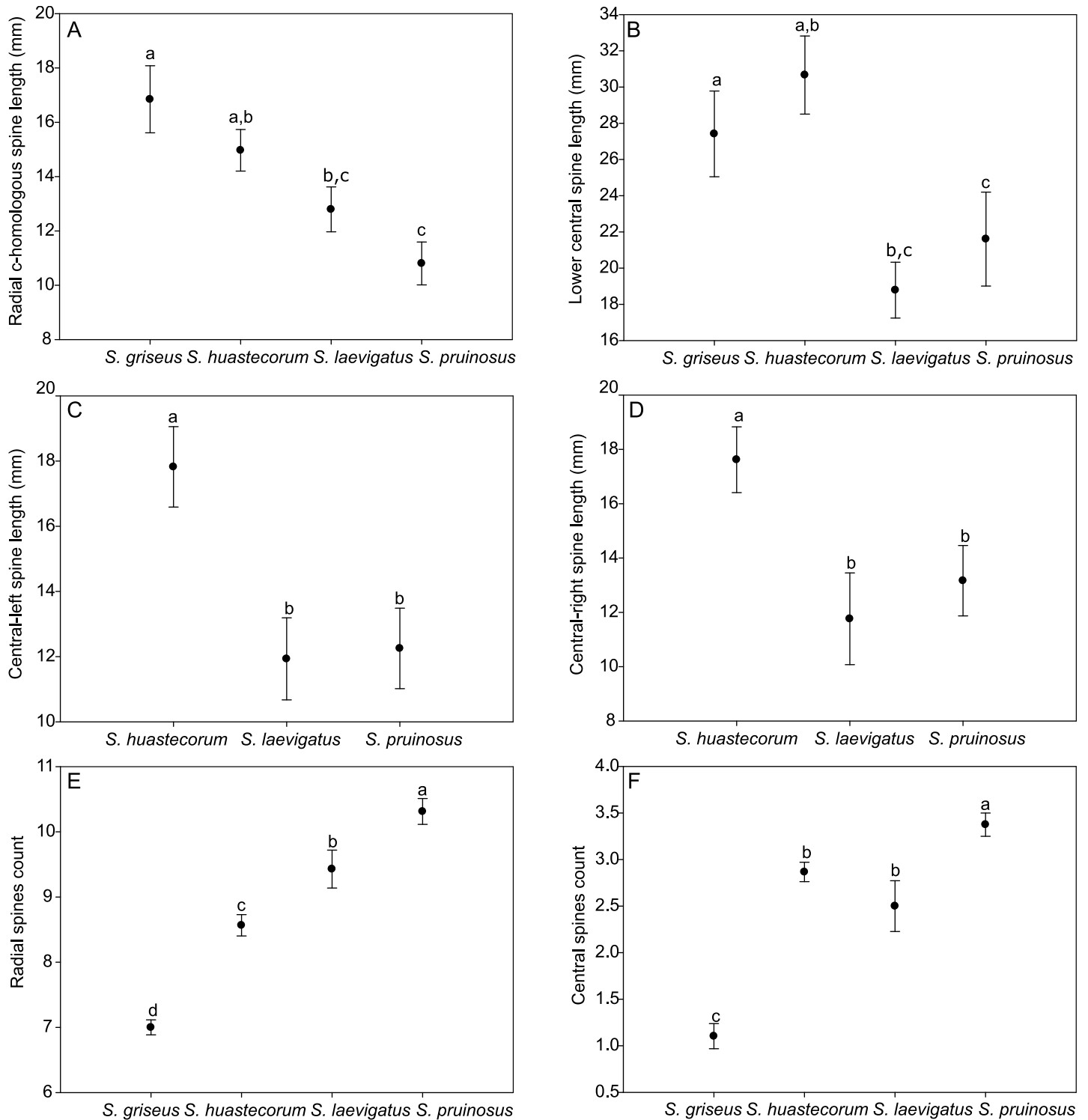
Additional observed specimens: Table A in [S3 Appendix](#).

Candelabraform tree, up to 9 m tall; trunk many times absent, <30 cm tall and <20 cm width; many branches, ascending, about 15 cm width, unconstrained, grayish green to glaucous; first order branching; mucilage cavities not evident in transverse branch sections; ribs 7 to 9, acute in transverse section, straight in longitudinal section, 12–35 mm tall by 11–35 mm wide at the base, without horizontal constriction between areolas within the same rib; areolas 8–28 mm apart each, round to obovate (scutelliform), 6–11.5 mm long and 6–10.6 mm wide, with light-colored trichomes; radial spines 5–7, subulated, divergent, 8–30 mm long, white when young, grayish when mature; 1 central spine, rarely 3, subulated, robust, 9.7–56 mm long, white with reddish base when young, grayish at maturity; subapical flowers, night anthesis remaining opened until the next morning, infundibuliform, 5.6–6 cm long and 4.4–5 cm wide in anthesis; pericarpel cylindrical, green, 11.5–14.5 mm wide, covered with slightly prominent podaria, separated, with wide oblong scales about 1.4–2.3 mm long by 1.5–3.2 mm wide at the base, reddish, areolas presenting light-colored trichomes, spines 7–13 mm long; receptacular tube 30–54 mm long, podaria with decurrent scales, narrow oblong to spatulate, apex obtuse to mucronated, about 4–8 mm wide with few trichomes and spines; outer perianth segments narrow oblong, apex rounded to truncate, 16–20 mm long and 6.5–10 mm wide, green to reddish from the bottom to the top; inner segments oblong to spatulate, entire margin, up to 2.5 cm long and 1 cm wide, white to pinkish-white; stamens included, numerous, arranged in verticillated series; basifix anthers, yellowish, style 23–52 mm long and 9–19 mm wide, white to pinkish white; stigma lobules 8–10, 2–4 mm long, yellowish white; nectar chamber semi-closed by the lower filaments curvature, 11–19 mm long and 5.9–6.7 mm wide, striated; ovary 8–13.3 mm long and 5.6–10.8 mm wide; fruit ovoid, dehiscent when ripe, about 48 mm in polar diameter by 40 mm in equatorial diameter, dark red, covered by areolas with numerous setose spines, about 11–18 mm long, yellowish white, deciduous at maturity, sweet flesh, red; ovoid, black seeds 1.3–2.2 mm long by 0.9–1.2 mm wide.

Common name: In Venezuela “cacto dato”, in Colombia: “cardón”, “cardón guajiro”, “yosú”, “panameña”, and “iguaraya” (fruit).

Phenology: flowers and fruits are produced over the year, but the peak of production lasts from November to April.

Habitat: *S. griseus* grows in tropical deciduous forest and xerophytic scrub alongside with *Cereus* spp., *Prosopis juliflora*, *Bulnesia arborea*, *Ceiba* sp. and *Haematoxylum* sp. From sea level to 1200 meters above sea level.



**Fig 6. Areolar morphometrics *t*-tests.** (A-D) areolar features lengths comparisons, (E-F) spines counts comparisons. Levels not connected by the same letter are significantly different.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190385.g006>

Discussion: *S. griseus* is the sole species of the genus *Stenocereus* to occur in South America. This name was actually a homonym comprising a previously undescribed northern Mexico species (*S. huastecorum*) and a second one from northern South America, which shall conserve the name *S. griseus* by priority principle.

Distribution: Departments of Boyacá, Huila, La Guajira, Magdalena, and Santander in Colombia; States of Falcón, Lara, Mérida, Sucre, Táchira, Vargas, and Zulia in Venezuela, it is also found in Aruba, Bonaire, and Curaçao islands.

***Stenocereus huastecorum* H. Alvarado-Sizzo, H. J. Arreola-Nava, and T. Terrazas. sp. nov.** [urn:lsid:ipni.org:names:77173956-1]. Holotype: México, Estado de Guanajuato, Puerto las Tinajas, terracería entre Puerto de Palmas y Álamos de Martínez. 100°06'10.35" W, 21°28'42.33"N, 15 de Junio de 2016, Hernán Alvarado-Sizzo 350 con I. Torres-García y F. Paz-Guerrero. (MEXU 140542).

Isotype: Hernán Alvarado-Sizzo 350 con I. Torres-García y F. Paz-Guerrero (MEXU 140543).

Additional observed specimens: Table B in [S3 Appendix](#).

Candelabraform tree, up to 9 m tall; trunk 30–60 cm tall and 20–25 cm width ([Fig 7A](#)); many branches, ascending to spreading, up to 6 m long and about 15 cm width, slightly constricted every 20–30 cm, grayish green to glaucous; rarely second order branching; mucilage cavities not evident in transverse branch section; ribs 6 to 8 ([Fig 7D](#)), acute in transverse section, slightly sinuated in longitudinal section, 19–35 mm tall by 19–34 mm wide at the base, protrusion between areolas within the same rib ([Fig 7B](#)); areolas 11–26 mm apart each, round to obovate (scutelliform), 5.6–11.9 mm long and 8.5–10.2 mm wide, with light-colored trichomes; radial spines 7–9, subulated, divergent, 7.5–23 mm long, white when young, grayish when mature; 3 central spines, rarely 4 (when upper central one is present), subulated, robust, 8.7–36.5 mm long, white with a reddish base when young, grayish at maturity ([Fig 7C](#)); subapical flowers, night anthesis remaining opened during the next day, infundibuliform, 5.7–7.3 cm long and 4.2–5.2 cm wide in anthesis ([Fig 8A](#)); pericarpel obovate to very wide ovate, deep red, 11.8–15.8 mm wide, covered with slightly prominent podaria, imbricated, with triangular scales about 2.4–3.4 mm long by 2.7–3.9 mm wide at the base, deep red, presenting ocher trichomes; receptacular tube 33–45 mm long, podaria with decurrent scales, narrow oblong to lorate, apex acute to obtuse, about 4–8 mm wide; outer perianth segments narrow oblong to lorate, apex acute to obtuse, 20–30 mm long and 9–11 mm wide, deep red with yellowish imbrication margins; inner segments oblong, entire margin, up to 2.5 cm long and 1 cm wide, yellowish with a central reddish line ([Fig 8B](#)); stamens included, numerous, arranged in verticillate series; basifix anthers, yellowish, style 43–50 mm long and 2–2.4 mm wide, yellowish white; stigma lobules 8–10, 4–7 mm long, yellowish white; nectar chamber semi-closed by the lower filaments curvature, 12–15 mm long and 7.6–8 mm wide, striated ([Fig 8C](#)); ovary about 6 mm long and 6–7 mm wide; fruit ovoid, up to 10 per reproductive branch apex ([Fig 9B](#)), dehiscent when ripe, 57–58 mm in polar diameter by 50–56 mm in equatorial diameter, dark red, covered by areolas with numerous setose spines, about 7–13 mm long, yellowish white with dark tip, deciduous at maturity, sweet flesh, red or orange ([Fig 9A](#)); widely ovoid, black seeds 2.5–2.6 mm long by 1.7 mm wide ([Fig 9C and 9D](#)).

Common name: "candelabro", "órgano", "pitayo", "pitayo de mayo", and "pitaya" (fruit).

Phenology: flowers and fruits are produced most of the year (except during the winter), but the peak of production lasts from March to July.

Habitat: it inhabits tropical deciduous forest, xerophytic scrubland, thorny scrubland and mezquital, alongside with *Prosopis* spp., *Vachellia* spp., *Larrea* sp., *Myrtillocactus geometrizans*, and *Stenocereus dumortieri*. From 200 to 1600 meters above sea level.

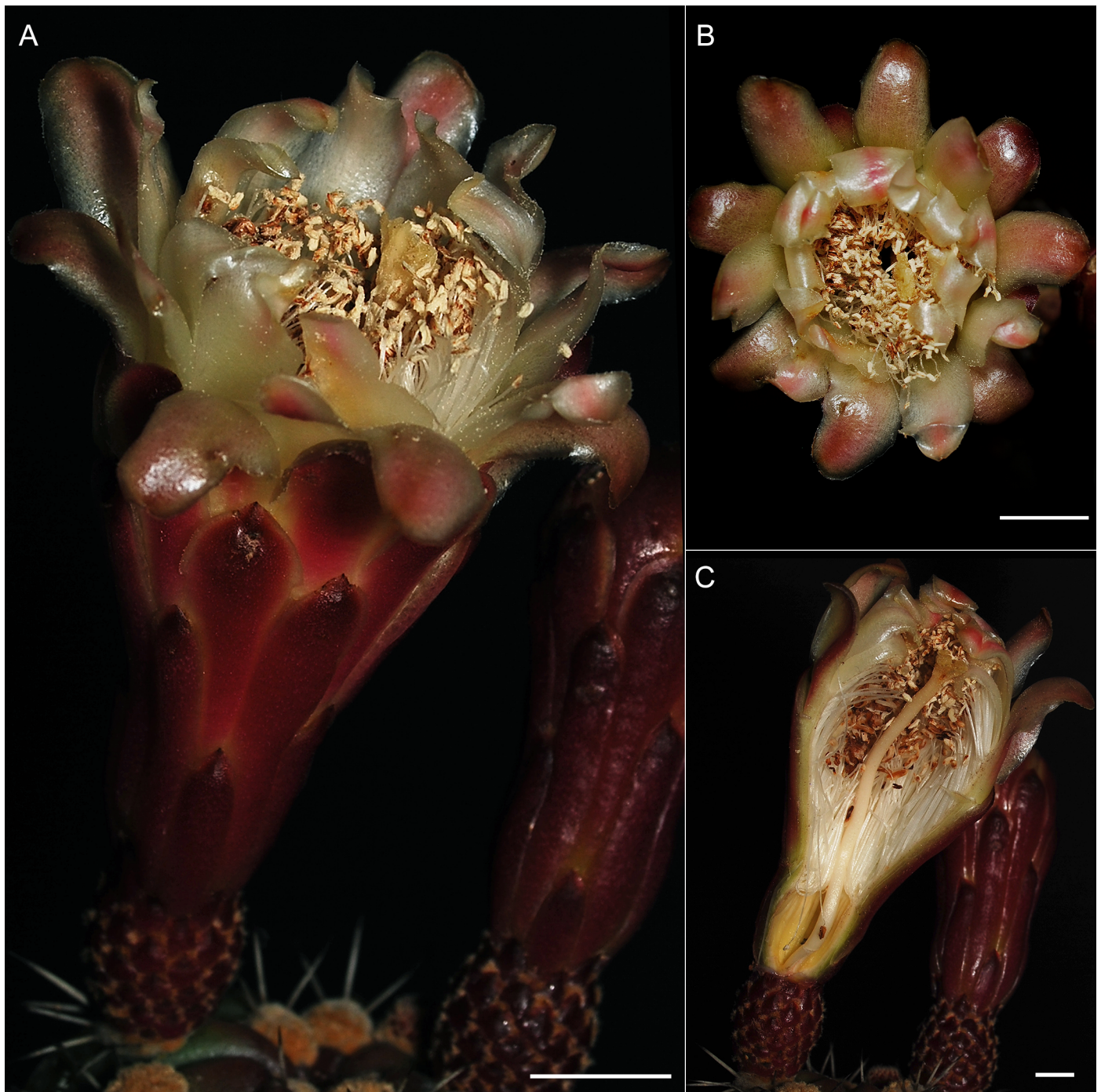




**Fig 7. Vegetative features of *S. huastecorum*.** (A) general aspect of *S. huastecorum* (H. Alvarado-Sizzo 350), (B) rib details (H. Alvarado-Sizzo 352), (C) typical young (upper) and mature (lower) areolas (H. Alvarado-Sizzo 245), (D) apex of a young branch. Credits: (A) I. Torres-García, (B-D) H. Alvarado-Sizzo.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190385.g007>





**Fig 8. A newly opened *S. huastecorum* flower.** Lateral (A) and top (B) view, (C) longitudinal cut of the floral tube. (H. Alvarado-Sizzo 350). Credits: H. Alvarado-Sizzo. Scale bars = 1 cm.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190385.g008>

Discussion: *S. huastecorum* populations were considered introduced populations of South American *S. griseus* by Bravo-Hollis [13]. Moreover, it was also determined as *S. pruinosus*; genetic, ecological, and morphological differences demonstrate it deserves its own designation. This species can be distinguished by its spination pattern (7–9 radial spines and 3 central spines), pericarpel color (deep red), and restricted distribution to northern Mexico.





**Fig 9. Ripe fruit of *S. huastecorum*.** Falling areolas (A, upper) and longitudinal cut (A, lower), aspect of a reproductive branch with immature fruits (B), and focus stacking micrograph (4X) of a seed hilum-micropylar region (C) and lateral view(D). Credits: (A, B) H. Alvarado-Sizzo (C) A. González-Murillo & H. Alvarado-Sizzo. Scale bars (A) = 1 cm; (C, D) = 1 mm.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190385.g009>

Distribution: endemic to Mexico in the states of Guanajuato, Nuevo León, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas, and Veracruz.

Etymology: the name *S. huastecorum* follows the previous designation of the genetic entity described by Parra et al. [16] as "huasteca group", given that its distribution coarsely matches the Huasteca ethnolinguistic region, but we rather use the plural genitive ending to emphasize its belonging as a resource for those human groups.

***Stenocereus laevigatus* (Salm-Dyck) Buxb., *Botanische Studien* 12:100. 1961 [61]. [urn:lsid:ipni.org:names:244638-2:1.4].** Neotype (designated here): México, Yucatán, Municipio Telchac Puerto, A 2 km S de Telchac Puerto (carretera costera, por carr. A Telchac, al NE de Dzemul, 21° 19' N, 89° 16' W, Selva baja espinosa. Suelo calcáreo. Arbusto ramificado de hasta 3 m de altura; frutos rojizos cuando maduros. A nivel del mar. 26 Jul 1992, H. M. Hernández 2225 con J. S. Flores (MEXU 649000).

Isonotype (designated here): H. M. Hernández 2225 con J. S. Flores (MEXU 649038).

Additional observed specimens: Table C in [S3 Appendix](#).

Candelabraformtree, 3–8 m tall; defined trunk, 0.5–1 m tall and 15–20 cm wide, dark green with lustrous surface; mucilage cavities not evident in branch transverse sections; ribs 7, rounded in transversal section, straight in longitudinal section, about 3 cm tall by 5 mm wide at the base, without horizontal constriction between areolas within the same rib; areolas 8–23 mm apart, elliptic to obovate, 7.14–13.6 mm long and 5.5–10 mm wide, with light-colored non glandular trichomes; radial spines 7–11, acicular, 5.7–18 (30) mm long, white when young, fading grayish with age; central spines 1–4, deciduous except for the lower one, acicular, larger and more robust than the radial ones, up to 50 mm long, white, turning gray at maturity; lateral or subapical flowers, infundibuliform, 7.8–8 cm long and 4.5–6.5 cm wide when opened, night anthesis; pericarpel globose to ovoid, about 1 cm wide, green, covered with slightly prominent podaria, with short triangular scales, about 2 m long and wide (at the base), greenish with purplish hues, areolas with scarcely dense trichomes, yellowish white, without spines; receptacular tube 2.9–3.2 cm wide, podaria with decurrent scales, oblong, apex acute to mucronate, variable in length, about 0.7 cm wide, with few trichomes; outer perianth segments narrowly oblong to spatulate with acute apex, about 3 cm long and 1 cm wide, green with purplish hues; inner segments oblong to oblanceolate, up to 2.5 cm long and 1 cm wide, entire margin, white to pinkish-white; stamina included, numerous, in verticillate series; yellowish white filaments; basifix anthers, yellowish; style about 6.5 cm long by 2 mm wide; stigma lobules 7, 1.2 cm long, yellowish-white; nectar chamber partially closed by the inner filaments curvature, 2.3 cm long by 0.9 cm wide, striated wall; ovary 1 cm long and 0.8 cm wide; fruit globose to ovoid, dehiscent when ripe, diameter 5 cm, green with reddish hues, covered by areolas with numerous setose spines, about 1.5 cm long, white, deciduous at maturity, sweet flesh, red; ovoid, black seeds, 1.9–2.9 mm long by 1.3–2 mm wide.

Common name: "órgano", "tuno".

Phenology: flowers in May, fruits May and June.

Habitat: tropical deciduous forest.

Distribution: states of Chiapas and Yucatán in México, Guatemala.

Discussion: according to Stafleu and Cowan [62], Salm-Dyck's collections were never herborized. Among Salm-Dyck's illustrations, however, this name doesn't appear [63].

***Stenocereus pruinosus* (Otto ex Pfeiff.) Buxb., *Botanische Studien* 12:101. 1961 [61]. [urn:lsid:ipni.org:names:244646-2:1.3].** Type. México, cultivated in Berlin Botanical Garden, (unknown).

Neotype (designated here): México, Oaxaca, Municipio de Santiago Huaucuililla, 10.5 km sobre la terracería Huaucuililla-Tlalixtlahuaca. 17° 29' 046 N, 97° 03' 115 W. Vegetación: Bosque tropical caducifolio. Plantas arborescentes, hasta 4 metros de alto, ramificación basítona,

ápice pruinoso. Flores blancas con una franja roja hacia el ápice, tubulares. 10-Marzo-2007, D. A. Aquino García con S. Arias (MEXU 1272791).

Additional observed specimens: Table D in [S3 Appendix](#).

Candelabraform tree, 2–5 m tall; trunk 30–60 cm tall and 15–20 cm width; second and even third order branching, spreading, forming a wide canopy, branches up to 4 m long and 10–15 cm width, grayish green to glaucous; mucilage cavities not evident in branch transverse sections; ribs 6 to 8, acute in transverse section, straight to slightly sinuated in longitudinal section, 20–30 mm tall by 20–30 mm wide at the base; areolas 10–40 mm apart each, round to obovate (scutelliform), 70–80 mm long and wide, with numerous light-colored trichomes; radial spines 7–9, subulated, divergent, 5–30 mm long, white with yellowish base when young, grayish when mature; up to 4 central spines, subulated, robust, up to 40 mm long, white when young, grayish at maturity; subapical or lateral flowers, night anthesis remaining opened until the next day morning, infundibuliform, 8–9.5 cm long and 4.5–6.7 cm wide at anthesis; pericarpel ovoid, green with brownish hues, 15–25 mm long and 12–15 mm wide, covered with slightly prominent podaria, imbricated, with triangular scales about 1 mm long and 2 mm wide at the base, greenish, few trichomes, yellowish white; receptacular tube 18–25 mm long, podaria with decurrent scales, oblong, apex obtuse to spatulate, mucronate, about 5–7 mm wide; outer perianth segments narrow obovate, apex round to acute, mucronate, 15–20 mm long and about 13 mm wide, green with brownish margins; inner segments oblong to spatulate, entire margin, 2–4 cm long and 1.5 cm wide, white to pinkish-white; stamens included, numerous, arranged in verticillate series; basifix anthers, yellowish, style 35–45 mm long and 2 mm wide, yellowish white; stigma lobules 8–10, 4–7 mm long, yellowish white; nectar chamber semi-closed by the lower filaments curvature, 10–15 mm long and 5 mm wide, striated walls; ovary about 10 mm long and 5.8 mm wide; fruit ovoid, dehiscent when ripe, 60.2–120 mm in polar diameter by 55–81 mm in equatorial diameter [64], green to purple, covered by areolas with numerous setose spines, about 15 mm long, white, deciduous at maturity, sweet flesh, yellow, orange, red or purple; widely ovoid, black seeds 1.9–2.8 mm long by 1.4–2.1 mm wide.

Common name: "Pitayo", "Pitayo de octubre".

Phenology: flowers during spring (March to May), fruits from April to June with a second reproductive peak between August and October.

Habitat: xerophitic scrubland and tropical deciduous forest, from 300 to 1650 meters above sea level. Grows alongside with *Escontria chiotilla*, *Myrtillocactus geometrizans*, and *Prosopis* sp.

Discussion: Pfeiffer described *Echinocactus pruinosus* from cultivated plants in Berlin Botanical Garden. According to Stafleu and Cowan [62] Pfeiffer's vouchers were deposited in the KASSEL herbarium, whose collection was destroyed during World War II. *Lemaireocereus longispinus* type, according to Britton & Rose [65] was cultivated in the New York Botanical Garden but now is no longer present.

Distribution: endemic to Mexico, in the states of Guerrero, Oaxaca, and Puebla.

## Discussion

### Homonymy in *Stenocereus griseus*

The populations from northern Mexico and northern South America (red circles in [Fig 1](#)), which were previously considered to be *S. griseus* consistently are two different entities; these genetic groups (red and gray in [Fig 3](#)) are clearly differentiated. Moreover, the South American populations showed high genetic distances (Nei's  $D \geq 0.253 \leq 0.293$ ) compared with the Mexican populations. From an ecological point of view, a net differentiation of the reciprocal niche model suitability was detected ([Fig 5G–5H](#)) as well as in the Principal Components 1, 2 and 4



(Table 2). Finally, areolar features show differences in spination patterns, where the populations from northern Mexico have more radial and central spines. Therefore, we consider that there is enough genetic, ecological, and morphological evidence for proposing that populations for the northern Mexico group are a different species. We name this species *S. huastecorum* sp. nov., whereas the term *S. griseus* should remain for naming the South American populations, according to the priority principle [66]. We found no evidence supporting the Bravo-Hollis [13] hypothesis that the northern Mexico populations belong to the same taxon than the South American *S. griseus*. However, it has been recognized that the SGSC are often transported by humans [12,16], and the record of a single event of such type could misguide to such hypothesis. In addition, the incomplete revision in previous works of the South American vouchers and the scarcity of records in Central Colombia and Venezuela certainly favored the acceptance of homonymy.

### ***Stenocereus pruinosus* in central Mexico**

Genetic delimitation fully supports the statements by Parra et al. [16] about population clusters in northern Mexico (the Huasteca group) and the eastern Tehuantepec Isthmus (the Chiapas group) as species different to *S. pruinosus*. Moreover, our study confirmed that the latter has a north-south substructure (green shades clusters in the Geneland column in Fig 2) which corresponds to the Tehuacán-Cuicatlán Valley and the Oaxaca Central Valleys.

*S. pruinosus* is separated from *S. huastecorum* by a genetic barrier, consistent with the TMVB, and is separated from *S. laevigatus* by a second barrier represented by the Isthmus of Tehuantepec, a well-known biogeographic barrier (Fig 3). We did not observe genetic evidence of populations or individuals of *S. pruinosus* occurring in northern Mexico. Therefore, we do not consider a sympatric scenario between *S. pruinosus* and *S. huastecorum* in northern Mexico, but rather a long record of misidentified specimens.

Ecological evidence also provides clear distinction of *S. pruinosus* ENMs from those of *S. huastecorum* and *S. laevigatus* given that their comparisons (Fig 5, Table 2) suggest that these species have different ecological niches. Even though areolar morphology can easily distinguish *S. pruinosus* from *S. huastecorum* (every variable measured in Fig 6) only spine numbers (Fig 6E and 6F) were able to distinguish *S. pruinosus* from *S. laevigatus*. Areolar characters, however, may be confusing if developmental features are not taken into account because areolas may lose spines because of flowering events and branch age, or it may be simply deciduous as in central-left and right spines of *S. laevigatus*. Poor morphological differentiation is clearly related to the fact that this species pair shows the least interspecific genetic distance (Nei's  $D = 0.156$ ). This suggests a recent divergence event, which involves the Isthmus of Tehuantepec constraining the distributional range of *S. pruinosus* to the Tehuacán-Cuicatlán and Oaxaca Central Valleys.

### ***Stenocereus laevigatus* in southern Mexico**

In Chiapas and Yucatán there are up to three SGSC members records (Fig 1). Genetic clustering showed dominance of a single genetic group (Fig 3) that we consider to be *S. laevigatus* given that its records are more common than those of other taxa. Secondary genetic structure involving the westernmost populations of Umoa and Cintalapa (Chiapas) was detected by Geneland, Barrier, and UPGMA analyses. This break contrasts with the nesting pattern showed by the Yucatán Peninsula populations within the Chiapas group (Fig 3), even when they are separated by a distributional gap of over 500 km.

We consider the greater genetic divergence within the same region in Chiapas as an indicator of either recent demographic processes or occurrence of artificial selection. Human

management is common throughout the distributional range of *S. laevigatus*, and it is particularly strong in Chiapas. Management has been previously recognized as a genetic-landscape modifier in *S. stellatus* [38], but historic demography and phylogeographic research are still needed to distinguish between biogeographic and human processes.

Even though this species is genetically and ecologically divergent with respect to *S. pruinosus*, if only morphology is taken into account, they may arise as cryptic species given that areolar features are very similar or actually identical in young or vegetative branches.

### ***Stenocereus huastecorum*, a novel species from northern Mexico**

This entity stands as the most cohesive species within the SGSC: its genetic clustering pattern (Fig 3) is apparent regardless the method used. Ecological (Fig 5A, 5B, 5G and 5H; Table 1) and morphological evidence (Fig 6) shows its uniqueness. Therefore, we consider this group deserves the status of a distinct species given that there is enough genetic, ecological, and morphological evidence to distinguish it from *S. griseus* (its homonym so far) and *S. pruinosus*, a supposed sympatric species.

The distributional range of *S. huastecorum* sp. nov. comprises southern Tamaulipas, western San Luis Potosí, northern Querétaro and Guanajuato as well as disjunctive populations in Veracruz on the south slopes of the Trans-Mexican Volcanic Belt, displaying a distributional gap of 350 km. The distribution area is mainly contained in the Sierra Madre Oriental and the Llanura Costera Nororiental (Northeastern Coast Plain) physiographic regions of Mexico, coarsely matching the ethnolinguistic “Huasteca” region after which we name this species.

### **Summary of species limits and distribution**

Every clustering method agreed in major genetic breaks associated with biogeographic regions. We were able to link the range of *S. huastecorum* with the Llanura Costera Nororiental, Sierra Madre Oriental (Huastecan Karst), and the southern Trans-Mexican Volcanic Belt, which seems to be the strongest genetic barrier when considering the whole complex (Fig 3). However, this is arguable for *S. huastecorum*, given that its populations dwell on both North and South of the oldest section of the TMVB (19.5 to 16 Myr), that predates the age of the Core Pachycereae (Pachycereinae+Stenocereinae+Echinocereus) at 7 Myr [24]. The distribution of *S. pruinosus* is apparently contained in geologically recent lowlands, Tehuacán Valley and Oaxaca’s Central valleys, surrounded by the Sierra Madre Sur, and it reaches the Pacific Coast through the Oaxaca’s Southern Range, a Miocene volcanic sequence which is also older than the age of the tribe [67]. *S. laevigatus* is separated from *S. pruinosus* by the biotic barrier of the Isthmus of Tehuantepec [22] (Fig 3) which we identified as a genetic barrier, although not common for the Cactaceae; [24,25,68,69]. The core distribution of *S. laevigatus* is associated with the Central Depression of Chiapas and the Yucatecan Karst, specifically with the most recent areas of the Yucatán Península which date to barely 18,000 years [26] suggesting recent colonization. *S. griseus* seems to be widespread in Caribbean Coast of North Colombia and Venezuela well as Inter-Andean Valleys, and it is isolated from other SGSC members by the Caribbean Sea and Central America with a singular distributional pattern given that *Stenocereus* and its relatives are clearly North American [24]. Finally to explain both the *S. griseus* and Antillean *S. peruvianus* distributions, a more complex, biogeographic hypothesis other than human transport [13] needs to be tested. We observed spatial concordance between biogeographic and genetic barriers, well-known barriers (mainly highlands) such as the Trans-Mexican Volcanic Belt or Sierra Madre del Sur are by far older than the genus *Stenocereus*, thus being temporally discordant, whereas extant distribution areas are more recent (less than 4 Myr). This odd pattern may suggest that these ranges are soft barriers, with present-day

distributions reflecting historical population refugial dynamics [70], or strong human effects on the genetic landscape considering that *S. pruinosus* is a intensively managed resource [71]. Demonstrating that one or a combination of these hypotheses will require a time-calibrated phylogeny not only of the SGSC but of the whole genus *Stenocereus*, as well as a phylogeographic approach within the major lineages.

## Conclusions

We conclude that (1) the SGSC shows clear agreement between genetic and biogeographic regions. These genetic barriers, however, seem to be temporally discordant with geographic barriers, thus making a time-calibrated approach necessary. (2) *Stenocereus griseus* is a homonym of the South American species, which should keep the name by priority, and the new species from northern Mexico is here named *Stenocereus huastecorum*. (3) Co-occurrence of species records represent species misidentification rather than sympatry or admixture. Finally, the use of phylogeographic methods in the SGSC, including populations of Antillean *S. peruvianus*, is still needed to find evidence of the historical, anthropogenic, and biogeographic processes that lead to current species distributions.

## Supporting information

**S1 Appendix. Microsatellites markers and multiplex combinations used.**  
(DOCX)

**S2 Appendix. Most likely number of groups (K) according to different Bayesian clustering methods.**  
(DOCX)

**S3 Appendix. Observed specimens of SGSC.**  
(DOCX)

## Acknowledgments

The authors thank the Posgrado en Ciencias Biológicas of the Universidad Nacional Autónoma de México. We in addition, thank E. Arévalo Marín, E. Pérez-Negrón and I. Torres-García for fieldwork assistance, C. J. Figueredo for laboratory support, A. González-Murillo for microscopy technical help, as well as the staff from CHAP, CHAPA, COL, ENCB, HG, IEB, MEXU, UTMC, and XAL herbaria, particularly to C. Gómez-Hinostrosa and M. R. García-Peña (MEXU) for their thorough work on SGSC typification. This manuscript was carried out in partial fulfillment of the requirements for PhD degree of H. A-S at the Institute of Research on Ecosystem and Sustainability (IIES according to its acronym in Spanish) under the Biological Sciences PhD program of the UNAM.

## Author Contributions

**Conceptualization:** Hernán Alvarado-Sizzo, Cristian Sánchez.

**Data curation:** Hernán Alvarado-Sizzo.

**Formal analysis:** Hernán Alvarado-Sizzo.

**Funding acquisition:** Alejandro Casas.

**Investigation:** Hernán Alvarado-Sizzo, Fabiola Parra, Hilda Julieta Arreola-Nava.

**Methodology:** Hernán Alvarado-Sizzo, Fabiola Parra, Hilda Julieta Arreola-Nava, Cristian Sánchez.

**Project administration:** Alejandro Casas, Teresa Terrazas, Cristian Sánchez.

**Resources:** Alejandro Casas, Hilda Julieta Arreola-Nava, Cristian Sánchez.

**Supervision:** Alejandro Casas, Teresa Terrazas.

**Validation:** Hernán Alvarado-Sizzo.

**Visualization:** Hernán Alvarado-Sizzo.

**Writing – original draft:** Hernán Alvarado-Sizzo, Alejandro Casas, Hilda Julieta Arreola-Nava.

**Writing – review & editing:** Hernán Alvarado-Sizzo, Alejandro Casas, Hilda Julieta Arreola-Nava, Teresa Terrazas.

## References

1. Wallace RS and, Gibson AC. Evolution and systematics. In: Nobel PS, editor. *Cacti: biology and uses*. Los Angeles, California, USA: University of California Press; 2002. pp. 1–21.
2. Terrazas T, Arias S. Comparative stem anatomy in the subfamily Cactoideae. *Bot Rev.* Springer; 2002; 68: 444–473.
3. Hernández-Hernández T, Hernández HM, Arturo De-Nova J, Puente R, Eguiarte LE, Magallón S. Phylogenetic relationships and evolution of growth form in Cactaceae (Caryophyllales, Eudicotyledoneae). *Am J Bot.* 2011; 98: 44–61. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000129> PMID: 21613084
4. Perez MF, Carstens BC, Rodrigues GL, Moraes EM. Anonymous nuclear markers reveal taxonomic incongruence and long-term disjunction in a cactus species complex with continental-island distribution in South America. *Mol Phylogenet Evol.* Elsevier; 2016; 95: 11–19.
5. Nyffeler R. Phylogenetic relationships in the cactus family (Cactaceae) based on evidence from trnK/matK and trnL-trnF sequences. *Am J Bot.* 2002; 89: 312–326. <https://doi.org/10.3732/ajb.89.2.312> PMID: 21669740
6. Arakaki M, Christin P-A, Nyffeler R, Lendel A, Eggli U, Ogburn RM, et al. Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plant lineages. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011; 108: 8379–8384. <https://doi.org/10.1073/pnas.1100628108> PMID: 21536881
7. Copetti D, Búrquez A, Bustamante E, Charboneau JLM, Childs KL, Eguiarte LE, et al. Extensive gene tree discordance and hemiplasy shaped the genomes of North American columnar cacti. *Proc Natl Acad Sci.* National Acad Sciences; 2017; 114: 12003–12008.
8. Bonatelli IAS, Perez MF, Townsend Peterson A, Taylor NP, Zappi DC, Machado MC, et al. Interglacial microrefugia and diversification of a cactus species complex: Phylogeography and palaeodistributional reconstructions for *Pilosocereus aurisetus* and allies. *Mol Ecol.* 2014; 23: 3044–3063. <https://doi.org/10.1111/mec.12780> PMID: 24803224
9. Franck AR, Cochrane BJ, Garey JR. Phylogeny, biogeography, and infrageneric classification of *Harrisia* (Cactaceae). *Syst Bot.* 2013; 38: 210–223. <https://doi.org/10.1600/036364413X662105>
10. Duminil J, Di Michele M. Plant species delimitation: A comparison of morphological and molecular markers. *Plant Biosyst.* 2009; 143: 528–542. <https://doi.org/10.1080/11263500902722964>
11. Gibson AC, Horak KE. Systematic anatomy and phylogeny of Mexican columnar cacti. *Ann Missouri Bot Gard.* 1978; 65: 999–1057.
12. Gibson AC. The systematics and evolution of subtribe Stenocereinae. 10. The species group of *Stenocereus griseus*. *Cactus Succul J.* 1991; 63: 92–99.
13. Bravo-Hollis H. Subfamilia III Cereoideae: Tribus Hylocereeae y Pachycereeae. In: Martín del Campo R, editor. *Las Cactáceas de México, Vol I. Second.* Mexico City, Mexico: Universidad Nacional Autónoma de México; 1978. pp. 352–711.
14. Arreola-Nava HJ. *Revisión taxonómica del género Stenocereus (Berger) Riccob. Sistemática filogenética del género Stenocereus (Cactaceae).* Montecillo, Texcoco, State of Mexico. Ph.D. Thesis, Colegio de Posgraduados. 2006. pp. 71–155.
15. Arreola-Nava HJ. *Filogenia del género Stenocereus (Berger) Ricc. con base en secuencias del cloroplasto (trnL-trnF, rpl16) y caracteres estructurales. Sistemática filogenética del género Stenocereus*

- (Cactaceae). Montecillo, Texcoco, State of Mexico. Ph.D. Thesis, Colegio de Posgraduados. 2006. pp. 25–70.
16. Parra F, Casas A, Rocha V, González-Rodríguez A, Arias-Montes S, Rodríguez-Correa H, et al. Spatial distribution of genetic variation of *Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxb. in Mexico: analysing evidence on the origins of its domestication. *Genet Resour Crop Evol.* Springer; 2014; 62: 893–912.
  17. Mutke J, Burstedde K, Laurens Geffert, Jan Miebach A, Rafiqpoor MD, Stein A, Barthlott W. Mapping the diversity of cacti. *Schumannia.* 2015; 7: 30–36.
  18. Gómez-Tuena A, Orozco-Esquivel MT, Ferrari L. Igneous petrogenesis of the Trans-Mexican volcanic belt. *Geol Soc Am Spec Pap. Geological Society of America;* 2007; 422: 129–181.
  19. Brunet J. Geologic studies. In: Byers DS, editor. *The prehistory of the Tehuacan Valley.* Robert S. Peabody Foundation, Phillips Academy, Andover and University of Texas Press; 1967. pp. 66–90.
  20. Valiente-Banuet A, Casas A, Alcántara A, Dávila P, Flores-Hernández N, del Coro Arizmendi M, et al. The vegetation of the Valley of Tehuacan-Cuicatlan. *Bot Sci.* 2000; 25–74.
  21. Espinosa D, Ocegueda-Cruz S, Luna-Vega I. Introducción a la biodiversidad de la Sierra Madre del Sur: Una visión general. In: Luna-Vega I, Espinosa D, Contreras-Medina R, editors. *Biodiversidad de la Sierra Madre del Sur.* Mexico City, Mexico: CONABIO-UABJO-UNAM; 2016. pp. 21–34.
  22. Ornelas JF, Sosa V, Soltis DE, Daza JM, González C, Soltis PS, et al. Comparative Phylogeographic Analyses Illustrate the Complex Evolutionary History of Threatened Cloud Forests of Northern Mesoamerica. *PLoS One.* 2013; 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056283> PMID: 23409165
  23. Ornelas JF, Rodríguez-Gómez F. Influence of Pleistocene glacial/interglacial cycles on the genetic structure of the mistletoe cactus *Rhypsalis baccifera* (Cactaceae) in Mesoamerica. *J Hered. Oxford University Press;* 2015; 106: 196–210.
  24. Hernández-Hernández T, Brown JW, Schlumpberger BO, Eguiarte LE, Magallón S. Beyond aridification: Multiple explanations for the elevated diversification of cacti in the New World Succulent Biome. *New Phytol.* 2014; 202: 1382–1397. <https://doi.org/10.1111/nph.12752> PMID: 24611540
  25. Vázquez-Sánchez M, Terrazas T, Arias S, Ochoterena H. Molecular phylogeny, origin and taxonomic implications of the tribe Cacteeae (Cactaceae). *Syst Biodivers.* 2013; 11: 103–116. <https://doi.org/10.1080/14772000.2013.775191>
  26. Bautista F, Palacio-Aponte G, Quintana P, Zinck JA. Spatial distribution and development of soils in tropical karst areas from the Peninsula of Yucatan, Mexico. *Geomorphology.* 2011; 135: 308–321.
  27. Manea VC, Manea M. Origin of the modern Chiapanecan volcanic arc in southern Mexico inferred from thermal models. *Geol Soc Am Spec Pap.* 2006; 412: 27–38.
  28. Molina-Garza RS, Urrutia-Fucugauchi J, Van der Voo R. Concordant paleomagnetic directions from the Tehuantepec Isthmus: Constraints on the Neogene evolution of the North American-Caribbean plate boundary. *Tectonophysics.* 1994; 235: 339–346.
  29. Iturralde-Vinent MA. Meso-Cenozoic Caribbean paleogeography: implications for the historical biogeography of the region. *Int Geol Rev.* 2006; 48: 791–827.
  30. Hippolyte J-C, Mann P. Neogene–Quaternary tectonic evolution of the Leeward Antilles islands (Aruba, Bonaire, Curaçao) from fault kinematic analysis. *Mar Pet Geol.* 2011; 28: 259–277.
  31. Nassar JM, Hamrick JL, Fleming TH. Population Genetic Structure Of Venezuelan Chiropterophilous Columnar Cacti (Cactaceae). *Am J Bot.* 2003; 90: 1628–1637. <https://doi.org/10.3732/ajb.90.11.1628> PMID: 21653338
  32. Toby Pennington R, Prado DE, Pendry CA. Neotropical seasonally dry forests and Quaternary vegetation changes. *J Biogeogr.* 2000; 27: 261–273.
  33. Ruiz A, Cavelier J, Santos M, Soriano PJ. Cacti in the Dry Formations of Colombia. In: Fleming TH, Valiente-Banuet A, editors. *Evolution, Ecology and Conservation of Columnar Cacti and their Mutualists.* Tucson, Arizona: Arizona University Press; 2002. pp. 324–341.
  34. Thiers B. *Index herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff.* New York: New York Botanical Garden's Virtual Herbarium [Internet]. 2017. <http://sweetgum.nybg.org/science/ih/>
  35. Doyle JJ, Doyle JL. CTAB DNA extraction in plants. *Phytochem Bull.* 1987; 19: 11–15.
  36. Otero-Arnaiz A, Cruse-Sanders J, Casas A, Hamrick JL. Isolation and characterization of microsatellites in the columnar cactus: *Polaskia chichipe* and cross-species amplification within the tribe Pachycereeae (Cactaceae). *Mol Ecol Notes.* 2004; 4: 265–267. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00642.x>
  37. Otero-Arnaiz A, Casas A, Hamrick JL, Cruse-Sanders J. Genetic variation and evolution of *Polaskia chichipe* (Cactaceae) under domestication in the Tehuacán Valley, central Mexico. *Mol Ecol.* 2005; 14: 1603–1611. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02494.x> PMID: 15836636



38. Cruse-Sanders JM, Parker KC, Friar EA, Huang DI, Mashayekhi S, Prince LM, et al. Managing diversity: Domestication and gene flow in *Stenocereus stellatus* Riccob. (Cactaceae) in Mexico. *Ecol Evol*. 2013; 3: 1340–1355. <https://doi.org/10.1002/ece3.524> PMID: 23762520
39. Lozano Garza ÓA, León de la Luz JL, Favela Lara S, García De León FJ. New interpretations about clonal architecture for the sour pitaya arising from microsatellite markers of de novo isolation and characterization. *Open J Genet*. 2015; 5: 1–11. <https://doi.org/10.4236/ojgen.2015.51001>
40. Van Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DPM, Shipley P. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol Ecol Notes*. 2004; 4: 535–538.
41. Rousset F. genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Mol Ecol Resour*. 2008; 8: 103–106. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x> PMID: 21585727
42. Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. 2000; 155: 945–959. PMID: 10835412
43. Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol*. 2005; 14: 2611–2620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x> PMID: 15969739
44. Earl DA. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv Genet Resour*. 2012; 4: 359–361.
45. Guillot G, Mortier F, Estoup A. GENELAND: a computer package for landscape genetics. *Mol Ecol Notes*. 2005; 5: 712–715.
46. Chen C, Durand E, Forbes F, François O. Bayesian clustering algorithms ascertaining spatial population structure: a new computer program and a comparison study. *Mol Ecol Notes*. 2007; 7: 747–756. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01769.x>
47. François O, Durand E. Spatially explicit Bayesian clustering models in population genetics. *Mol Ecol Resour*. 2010; 10: 773–784. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02868.x> PMID: 21565089
48. Jakobsson M, Rosenberg NA. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*. 2007; 23: 1801–1806. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm233> PMID: 17485429
49. Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*. 1978; 89: 583–590. PMID: 17248844
50. Dieringer D, Schlötterer C. Microsatellite analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. *Mol Ecol Notes*. 2003; 3: 167–169.
51. Manni F, Guérard E, Heyer E. Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by using Monmonier's algorithm. *Hum Biol*. 2004; 76: 173–190. <https://doi.org/10.1353/hub.2004.0034> PMID: 15359530
52. Sneath PHA, Sokal RR. Unweighted pair group method with arithmetic mean. *Numer Taxon*. 1973; 230–234.
53. Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipksi A, Kumar S. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol Biol Evol*. 2013; 30: 2725–2729. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197> PMID: 24132122
54. Phillips SJ, Dudík M, Schapire RE. Maxent software for species habitat modeling: Release 3.3.3k [Internet]. 2011. <https://www.cs.princeton.edu/~schapire/maxent/>
55. Hijmans RJ, Cameron SE, Parra JL, Jones PG, Jarvis A. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *Int J Climatol*. 2005; 25: 1965–1978.
56. Rissler LJ, Apodaca JJ. Adding more ecology into species delimitation: ecological niche models and phylogeography help define cryptic species in the black salamander (*Aneides flavipunctatus*). *Syst Biol*. 2007; 56: 924–942. <https://doi.org/10.1080/10635150701703063> PMID: 18066928
57. McCormack JE, Zellmer AJ, Knowles LL. Does niche divergence accompany allopatric divergence in *Aphelocoma* jays as predicted under ecological speciation?: Insights from tests with niche models. *Evolution* (N Y). 2010; 64: 1231–1244. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2009.00900.x> PMID: 19922442
58. Gibson AC, Nobel PS. Areoles and spines. *The cactus primer*. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press; 1990. pp. 94–118.
59. Tapia HJ, Arias S, Yáñez-Espinosa L, Terrazas T. El uso de espinas del tallo en la identificación de las especies de *Neobuxbaumia* (Cactaceae). *Rev Mex Biodivers*. 2016; 87: 288–300.
60. SAS Institute Inc. JMP [Internet]. 2007. pp. 1989–2007. [https://www.jmp.com/en\\_us/home.html](https://www.jmp.com/en_us/home.html)
61. Leinfellner W. Die Entwicklungslinien der Tribus Pachycereae F. Buxbaum (Cactaceae—Ceroideae). *Botanische Studien*. 1961.

62. Stafleu FA, Cowan RS. Taxonomic literature: A selective guide to botanical publications and collections with dates, commentaries and types. Second. Bohn Scheltema & Holkema, editor. Regnum Vegetabile. The Hague/Boston: dr. W. Junk b.v.; 1985.
63. Rowley GD. Salm-Dyck's cactus paintings. Bradleya. 1999; 17: 1–26.
64. Luna-Morales C. Ordenación y clasificación morfológica del fruto de cultivares mixtecos de pitaya (*Stenocereus pruinosus*) en México. Agrociencia. 2007; 11: 10–16.
65. Britton NL, Rose JN. The Cactaceae Volume II. Carnegie Institution of Washington, editor. Washington: Press of Gibson Brothers; 1920.
66. McNeill J, Barrie FR, Buck WR, Demoulin V, Greuter W, Hawksworth DL, et al. International Code of Nomenclature for algae, fungi and plants. Regnum vegetabile. 2012.
67. Morán-Zenteno DJ, Cerca M, Keppie JD. The Cenozoic tectonic and magmatic evolution of southwestern Mexico: Advances and problems of interpretation. Geol Soc Am Spec Pap. 2007; 422: 71–91.
68. García-Rubio LA, Vargas-Ponce O, de Ramírez-Mireles F J, Munguía-Lino G, Corona-Oceguera CA, Cruz-Hernández T. Distribución geográfica de *Hylocereus* (Cactaceae) en México. Bot Sci. 2015; 93: 921–939.
69. Hernández HM, Gómez-Hinostrosa C. Mapping the cacti of Mexico. Succul plant Res. 2011; 7: 1–128.
70. Ramírez-Barahona S, Eguiarte LE. The role of glacial cycles in promoting genetic diversity in the Neotropics: The case of cloud forests during the Last Glacial Maximum. Ecol Evol. 2013; 3: 725–738. <https://doi.org/10.1002/ece3.483> PMID: 23531632
71. Parra F, Casas A, Peñalosa-Ramírez JM, Cortés-Palomec AC, Rocha-Ramírez V, González-Rodríguez A. Evolution under domestication: Ongoing artificial selection and divergence of wild and managed *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) populations in the Tehuacán Valley, Mexico. Ann Bot. 2010; 106: 483–496. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq143> PMID: 20729372





## Capítulo II

Clave dicotómica y distribución del complejo de especies de *Stenocereus griseus*

(Cactaceae)

Cita completa:

**Alvarado-Sizzo, H., Casas, A., González-Rodríguez, A., Arreola-Nava, H. J., & Terrazas, T. (2019).** Clave dicotómica y distribución del complejo de especies de *Stenocereus griseus* (Cactaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 90



Taxonomía y sistemática

## Clave dicotómica y distribución del complejo de especies de *Stenocereus griseus* (Cactaceae)

### *Dichotomous key and distribution of the Stenocereus griseus species complex (Cactaceae)*

Hernán Alvarado-Sizzo <sup>a</sup>, Alejandro Casas <sup>a</sup>, Antonio González-Rodríguez <sup>a</sup>,  
Hilda Julieta Arreola-Nava <sup>b</sup> y Teresa Terrazas <sup>c,\*</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad, Universidad Nacional Autónoma de México, Antigua Carretera a Pátzcuaro Núm. 8701, Col. Ex Hacienda de San José de la Huerta, 58190 Morelia, Michoacán, México

<sup>b</sup> Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, Camino Ramón Padilla Sánchez Núm. 2100, 45110 Nextipac, Zapopan, Jalisco, México

<sup>c</sup> Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Tercer Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510 Ciudad de México, México

\*Autor para correspondencia: tterrazas@ib.unam.mx (T. Terrazas)

Recibido: 17 abril 2018; aceptado: 20 septiembre 2018

#### Resumen

Con el objetivo de distinguir las especies que forman parte del complejo de *Stenocereus griseus* (Cactaceae), se revisaron caracteres morfológicos, datos de localización en ejemplares de herbario y registros en bases de datos de biodiversidad. Se documentaron características morfológicas de 307 ejemplares depositados en 7 herbarios y se proyectaron los registros geográficos mediante un sistema de información geográfica considerando división política y subregionalización fisiográfica. Se reconocieron 19 caracteres diagnósticos mediante los cuales se generó una clave dicotómica, acompañada de descripciones y fotografías, con la cual es posible distinguir a los miembros del complejo de especies de *Stenocereus griseus* y a éstos con respecto de otras especies del género. Además, se generaron mapas que permitieron la actualización del conocimiento de la distribución de las especies del complejo, así como sus asociaciones biogeográficas. Los productos generados constituyen herramientas de gran utilidad taxonómica para este grupo de especies de difícil determinación.

*Palabras clave:* Echinocereae; Mapa de distribución; *Stenocereus heptagonus*; *Stenocereus huastecorum*; *Stenocereus laevigatus*; *Stenocereus pruinosus*; Taxonomía

#### Abstract

In order to distinguish species that are part of the *Stenocereus griseus* complex (Cactaceae), we reviewed morphological characters and geographic data from herbarium specimens and records on biodiversity databases.

Morphological features of 307 specimens deposited in 7 herbaria were registered and geographical records were projected through geographic information system, considering both political divisions and physiographic regionalization. Nineteen diagnostic characters were detected, through them, a dichotomous key was generated which is capable of distinguishing the *Stenocereus griseus* complex members from each other and from other *Stenocereus*. The key is supplemented with complete descriptions and photographs. In addition, maps were generated in order to update the knowledge of the *Stenocereus griseus* complex distribution as well as their biogeographical associations. The products generated are intended to be useful taxonomic tools for this complex species group.

**Keywords:** Echinocereae; Distribution map; *Stenocereus heptagonus*; *Stenocereus huastecorum*; *Stenocereus laevigatus*; *Stenocereus pruinosus*; Taxonomy

## Introducción

El complejo de especies de *Stenocereus griseus* (CESG) (Gibson, 1991) ha sido históricamente un grupo complicado de entender desde el punto de vista taxonómico. Incluye 5 especies reconocidas, y posee una amplia sinonimia, debida en parte a la insuficiencia de caracteres morfológicos y anatómicos diagnósticos. Los primeros tratamientos del complejo (Gibson, 1991) incluyeron nombres de especies tales como *S. deficiens* (Otto et Dietr.) Buxb., *S. hystrix* (Haw.) Buxb. y *S. longispinus* (Britton et Rose) Buxb., los cuales, de acuerdo con Arreola-Nava (2006b) constituyen sinónimos de *S. griseus*, *S. peruvianus* y *S. laevigatus*; respectivamente (tabla 1). Adicionalmente, una especie del norte de Colombia y Venezuela que se consideró introducida en México (Bravo-Hollis, 1978), era referida incorrectamente como *S. griseus*. Recientemente, se propuso un nombre nuevo para la especie localizada en México, *S. huastecorum* Alvarado-Sizzo, Arreola-Nava y Terrazas (Alvarado-Sizzo et al., 2018).

Además de los problemas nomenclaturales, se evidencia la falta de un tratamiento particular del CESG que facilite la determinación de ejemplares. En la definición original del complejo, Gibson (1991) propuso considerar el origen

de las colectas como criterio para su determinación; mientras que Arreola-Nava (2006b) empleó el número de costillas como carácter diagnóstico para las especies de *Stenocereus*. Sin embargo, esto último puede resultar confuso debido al traslape en los rangos de variación de dicha característica, al menos entre las especies mexicanas. De forma similar, los patrones de espinas areolares en el CESG, si bien ayudan a distinguir algunas especies, en otras no, por ejemplo, si no se toma en cuenta el estadio de las ramas sobre las que se desarrollan, *S. laevigatus* y *S. pruinosus* son prácticamente indistinguibles (Alvarado-Sizzo et al., 2018).

Recientes trabajos taxonómicos en el complejo (Alvarado-Sizzo et al., 2018; Arreola-Nava, 2006b) han permitido definir los nombres correctos y el número de taxones que lo conforman, así como sus límites geográficos. Aún es necesario analizar más caracteres morfológicos, tanto reproductivos como vegetativos, además de generar nuevos mapas de distribución que permitan una fácil determinación de las especies del CESG. El objetivo de este trabajo es proveer una clave dicotómica, descripciones basadas en caracteres diagnósticos y mapas de distribución, como herramientas para la determinación de las especies del complejo.

Tabla 1

Sinonimias y distribución por regiones de las especies del complejo *Stenocereus griseus*. Datos modificados de Alvarado-Sizzo et al. (2018).

Región	Referencia				
	Bravo-Hollis, 1978	Gibson, 1991	Arreola-Nava, 2006	Alvarado-Sizzo et al., 2018	Este trabajo
México	<i>S. griseus</i>	<i>S. griseus</i>	<i>S. griseus</i>	<i>S. huastecorum</i>	<i>S. huastecorum</i>
	<i>S. pruinosus</i>	<i>S. pruinosus</i>	<i>S. pruinosus</i>	<i>S. pruinosus</i>	<i>S. pruinosus</i>
	<i>S. laevigatus</i>	<i>S. longispinus</i>	<i>S. laevigatus</i>	<i>S. laevigatus</i>	<i>S. laevigatus</i>
Antillas		<i>S. hystrix</i>	<i>S. peruvianus</i>	<i>S. peruvianus</i>	<i>S. heptagonus</i>
Sudamérica	<i>S. griseus</i>	<i>S. griseus</i>	<i>S. griseus</i>	<i>S. griseus</i>	<i>S. griseus</i>
		<i>S. deficiens</i>			

## Materiales y métodos

Se realizó la revisión de 307 ejemplares depositados en los herbarios CHAPA, COL, ENCB, MEXU, NY, UTMC, y XAL, acrónimos según *Index Herbariorum* (Thiers, 2017). Se registraron todos los caracteres empleados por Arreola-Nava (2006b) y datos de etiquetas (incluyendo coordenadas y referencias geográficas). La determinación de la identidad taxonómica siguió la tipificación realizada por Alvarado-Sizzo et al. (2018).

A partir de la consulta de los ejemplares de herbario, de la base de datos de Global Biodiversity Information Facility (GBIF, 2018) y en el caso de publicaciones con referencias espaciales de *S. griseus* (Albesiano et al., 2003; Albesiano y Fernández-Alonso, 2006; Britton y Rose, 1920; Figueroa y Galeano, 2007; Nassar et al., 2003; Sánchez et al., 2007; Silvius, 1995; Smith et al., 2012), se realizó una selección de aquellos registros cuyas coordenadas no estuvieran redondeadas o notoriamente mal referenciadas. También se registraron coordenadas cuando se contó con referencias (en ejemplares de herbario) menores a 5 km

y/o accidentes geográficos claramente identificables. Posteriormente, los registros se proyectaron mediante el sistema de información geográfica -SIG ArcMap 10.1 (ESRI, Redlands, EUA), clasificándose por especie de acuerdo con los límites identificados por Alvarado-Sizzo et al. (2018).

## Resultados

Se reconocieron 19 caracteres diagnósticos relacionados con la ramificación (longitud del tronco, grado de ramificación, porte, orientación y constricciones de las ramas; así como número y perfil de las costillas), patrones de espinación (número de espinas radiales y centrales, permanencia de las espinas), estructuras florales específicas como el pericarpelo (forma, color, arreglo, así como color y forma de sus escamas) y el tubo floral (forma y forma del ápice de podarios inferiores y superiores) y del fruto el color de la pulpa. Estos caracteres se resumen en la tabla 2 y con ellos se construyó la siguiente clave dicotómica.

Clave dicotómica para las especies del Complejo de *Stenocereus griseus*.

1. Aréolas obovadas a elípticas con fieltro color blanco a gris ..... 2
- 1'. Aréolas oblatas con fieltro color amarillo, rojizo o café ..... Otros *Stenocereus*
2. Espinas radiales menos de 13, centrales menos de 4 ..... 3
- 2'. Espinas radiales más de 13, centrales más de 4 ..... *S. fricii* / *S. chacalapensis*
3. Tronco ausente o muy corto (menor a 30 cm de altura) ..... 4
- 3'. Tronco siempre presente (mayor a 30 cm de altura) ..... 5
4. Ramas con hasta 9 costillas; espinas radiales típicamente 7, rara vez 9, espina central única; distribuido en Colombia y Venezuela ..... *S. griseus*
- 4'. Ramas con 8 a 15 costillas; espinas radiales 9-11, espinas centrales 3; distribuido en las Antillas Mayores ..... *S. heptagonus*
5. Ramificación rara vez de segundo orden, ramas ascendentes, paralelas a ligeramente divergentes y recurvadas; espinas radiales 7 a 9, centrales 3, rara vez presentando espina central superior ..... *S. huastecorum*
- 5'. Ramificación de segundo orden o superior, ramas divergentes y recurvadas; espinas radiales 9-11, centrales 3 a 4 ..... 6
6. Costillas rectas; espinas centrales caedizas excepto la central inferior; distribuido en El Salvador, Guatemala, Honduras y México en los estados de Yucatán y Chiapas ..... *S. laevigatus*
- 6'. Costillas rectas a ligeramente sinuadas; espinas centrales no caedizas, una central inferior y dos laterales, frecuentemente una pequeña espina central superior (2 a 10 mm); distribuido en México en los estados de Oaxaca y Puebla ..... *S. pruinosus*

Descripción de las especies del complejo de *S. griseus* con base en caracteres diagnósticos.

*Stenocereus griseus* (Haw.) Buxb., *Botanische Studien* 12:100. 1961:

*Cereus griseus* Haw., *Synopsis Plantarum Succulentarum* 182. 1812.

=*Lemaireocereus griseus* (Haw.) Britton et Rose, *Contributions from the United States National Herbarium*. 12:425. 1909.

=*Stenocereus deficiens* (Otto et A. Dietr.) Buxb., *Botanische Studien* 12:100.1961.

Tabla 2  
 Caracteres diagnósticos del complejo de especies de *Stenocereus griseus* y su distribución.

Carácter	Especies			
	<i>S. griseus</i>	<i>S. huastecorum</i>	<i>S. laevigatus</i>	<i>S. heptagonus</i>
Longitud del tronco (cm)	< 30 (o ausente)	30-60	50-100	< 30 (o ausente)
Grado de ramificación	Primer orden	Primer o segundo orden	Segundo y tercer orden	Primer o segundo orden
Porte	Ascendentes	Poco divergentes	Divergentes	Ascendentes
Orientación de las ramas	Paralelas	Paralelas	Recurvadas	Paralelas
Constricciones de las ramas (cm)	No	20-30	No	Irregulares
Número de costillas	7 a 9	6 a 8	6 a 9	8 a 15
Perfil de las costillas	Recto	Ligeramente sinuado a sinuado	Recto	Recto a ligeramente sinuado
Núm. espinas radiales	7 a 9	7 (9)	7 a 11	9 a 11
Núm. espinas centrales	1	3	1 a 4, las superiores caedizas	3
Forma del pericarpelo	Cilíndrico	Oblado a ampliamente obovado	Ovoide	Cilíndrico
Color del pericarpelo	Verde	Rojo oscuro	Verde	Verde a rojizo
Arreglo de las escamas del pericarpelo	Separadas	Imbricadas	Separadas	Ligeramente separadas
Color de las escamas del pericarpelo	Base verde, ápice rojizo	Rojo oscuro	Verdes, ápice rojizo a purpúreo	s. d.
Forma de las escamas del pericarpelo	Ampliamente oblongas	Triangulares	Triangulares	Triangulares
Color del tubo floral	Verde a rojizo	Rojo oscuro	Verde a café purpúreo	Verde a rojizo
Forma de podarios inferiores del tubo floral	Estrechamente oblongos a espatulados	Estrechamente oblongos a lorados	Estrechamente oblongos	Estrechamente oblongos a largamente obovados
Ápice podarios inferiores del tubo floral	Obtuso a mucronado	Agudo a obtuso	Obtuso, redondeado o mucronado	Obtuso a mucronado
Forma podarios superiores del tubo floral	Espatulado	Oblanceolados	Largamente obovados	Largamente obovados
Ápice podarios superiores del tubo floral	Truncado a redondeado	Agudo a obtuso	Redondeado	Agudo a obtuso
Color de la pulpa del fruto	Rojo	Rojo, anaranjado	Rojo	Rojo
Distribución	Norte de Sudamérica	Norte de México	Sur de México y Centroamérica	Antillas Mayores (México)

Tronco principal ausente o menor a 30 cm de altura; ramificación de primer orden, ramas ascendentes y paralelas (fig. 1A), sin constricciones; 7 a 9 costillas con perfil recto; aréolas con 7 espinas radiales (rara vez 9) (fig. 1C, D) y una central en posición central inferior; pericarpelo verde con escamas ampliamente oblongas, con base verde y ápice rojizo (fig. 1B), separadas entre sí; podarios del tubo floral verdes a rojizos, los inferiores estrechamente oblongos a espatulados con ápice obtuso a mucronado, los superiores espatulados con el ápice truncado a redondeado (fig. 1B); frutos con pulpa roja. Distribuido en Colombia,

Venezuela y en las Antillas de Sotavento Aruba, Bonaire y Curaçao (fig. 2)

*Ejemplares examinados:* Colombia, Boyacá: Tipacoque, Vrda. La Carrera, zona de Los Higuerones, *S. Albesiano* y *C. Diaz 1619* (COL517669); Huila: boca de la zanja, *O. L. Calderón-Rubiano 163* (COL553303); sin municipio registrado, Vrda. Via Santa Ana, finca El Salado, *O. L. Calderón-Rubiano* y *A. Olaya-Amaya 106* (COL553301); La Guajira: a unos 2 km antes de llegar a Nazareth, *A. M. Calcagno* y *H. Cerda 87* (COL435153, COL435055); Nazareth (a 1 km), *A. M. Calcagno 42*

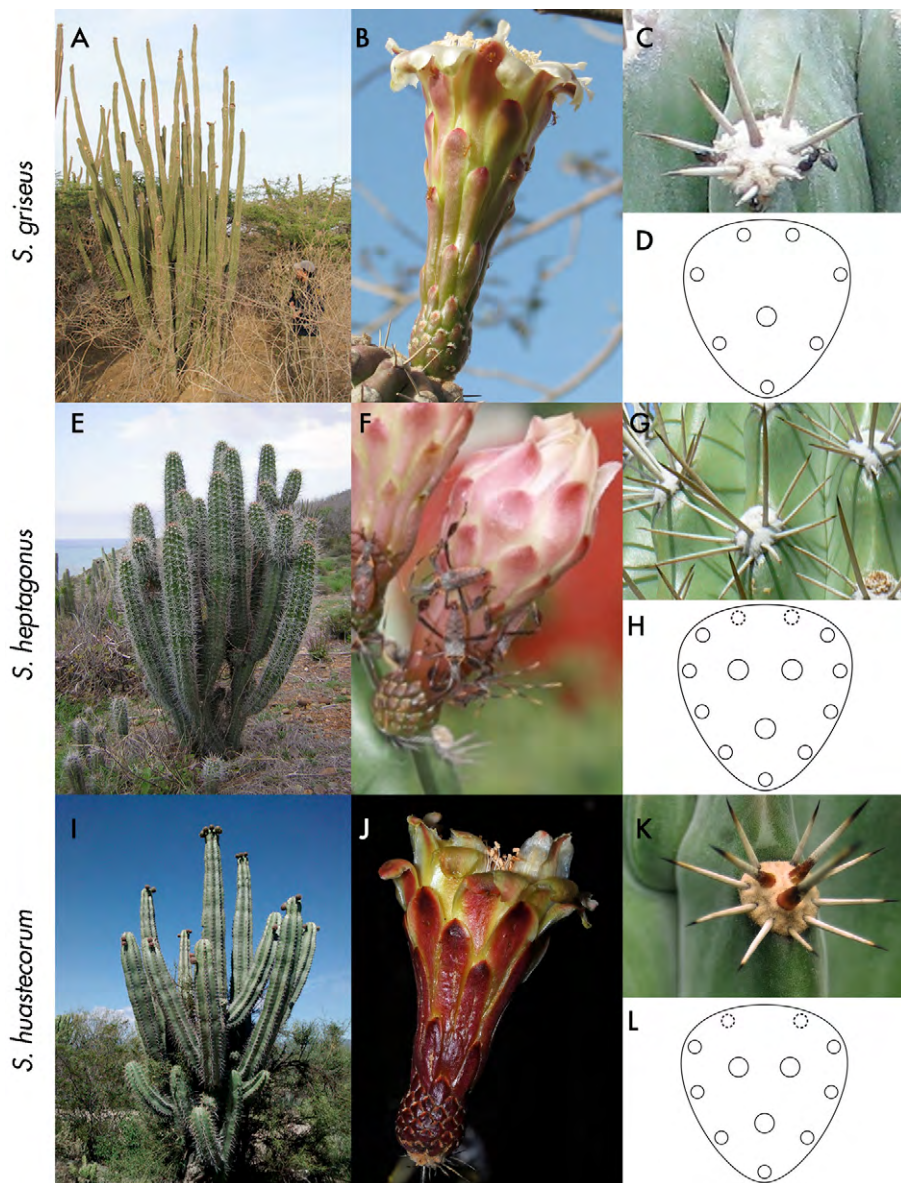


Figura 1. Fotografías de caracteres de *S. griseus* (A-D), *S. heptagonus* (E-H) y *S. huastecorum* (I-L). Créditos fotográficos: A-D, É. Pérez-Negrón; E, F. J. Rendón-Sandoval; F, banco de imágenes del Laboratorio de Manejo y Evolución de Recursos Vegetales-UNAM; resto, H. Alvarado-Sizzo.



(COL435143, COL435145); frente al aeropuerto de San Juan del César, *C. Saravia T. 2074* (COL98645); rumbo a Uribia, 8 km de Manauare, *C. Saravia T. 2183* (COL98661); alrededores de Manauare, *R. Romero-Castañeda 4371* (COL47916); entre Yoroki y Portete, *A. M. Calcagno y H. Cerda 48* (COL459000); Nazareth (a 1 km), *A. M. Calcagno 43* (COL459007); a 8 km de Riohacha, vía Maicao, *A. M. Calcagno 2* (COL435047); Riohacha, cerca al cementerio, *A. M. Calcagno 45* (COL463896, COL463824); Riohacha, cerca al cementerio, *A. M. Calcagno y H. Cerda 44* (COL459002); Yororoki a 2 h de Nazareth, vía Puerto Estrella, *A. M. Calcagno 49* (COL435066, COL435067); 5-8 km eastern of Riohacha, *J. Cuatrecasas y R. Romero-Castañeda 25448* (COL86443); El Talauro, *C. Saravia y D. Johnson 594* (COL922662); Punta Espada, *R. Romero-Castañeda 4494* (COL47951); entre Yoroki y Portete, *A. M. Calcagno et al. 48* (COL463701, COL463702); Magdalena: Pueblo Viejo: isla de Salamanca, *A. Barros y J. Jiménez 102* (UTMC9873), *A. Barros y J. Jiménez 104* (UTMC12959), *A. Barros y J. Jiménez 105* (UTMC12958); Santa Marta: estribaciones de la Sierra Nevada, *J. Hernández R. et al. 2* (COL441423, COL442581); cerros de Gaira, al oriente cerca de la cancha de fútbol, *A. Barros y J. Jiménez 27* (UTMC12917, UTMC9566); carretera al rodadero, *Sin colector registrado 3*, (UTMC11787); cerro La Llorona, *A. Barros y J. Jiménez 74* (UTMC9827); cerro de El Cundí, *A. Barros y J. Jiménez 6* (UTMC12949), *A. Barros y J. Jiménez 7* (UTMC12918); cerros al este de Taganga, *A. Barros y J. Jiménez 23* (UTMC12941); cerro Rodadero, cerca del Ziruma, *A. Barros y J. Jiménez 18* (UTMC12942);

Neguanje cerca de la playa, *A. Barros y J. Jiménez 94* (UTMC12915); Punta Gaira, *A. Barros y J. Jiménez 25* (UTMC12916); Santa Marta, cerros al norte de Bastidas, *A. Barros y J. Jiménez 32* (UTMC12930); cerro La Llorona, *A. Barros y J. Jiménez 75* (UTMC12933); cerros al Este de Taganga, *A. Barros y J. Jiménez 71* (UTMC12934); sin municipio registrado: ciénaga, *R. Romero-Castañeda 1937* (COL103182); ciénaga, alrededores de Aguacoca, *R. Romero-Castañeda 7284* (COL80314); parque Salamanca, about 20 miles east of Puente del Rio Magdalena, *T. Plowman y W. Davis 3731* (COL164991); Santander: Capitanejo, por el camino que conduce hacia el hospital y el barrio las Acacias, hacia la vereda El Datal, *S. Albesiano y C. Diaz 1379* (COL517668); Los Santos, sector norte de la Mesa de Los Santos, bajada por el camino a Jordán y vereda La Peña, *J. L. Fernández-Alonso et al. 22166* (COL535339); Piedecuesta, Corregimiento de Pescadero, vereda Las Pavas, *A. Cadena et al. 2906* (COL460558).

*Stenocereus heptagonus* (L.) Mottram (2013):

*Cactus heptagonus* L., Species plantarum 1:466. 1753.

=*Stenocereus hystrix* Buxb., Botanische Studien 12:100. 1961.

=*Stenocereus peruvianus* (Mill.) Kiesl., Darwiniana 24:443-453.1982.

=*Stenocereus fimbriatus* (Lam.) Lourteig, Bradea 5:408.1991.

Tronco principal ausente o muy corto; ramificación de primer orden, ramas ascendentes y paralelas (fig. 1E), con constricciones en intervalos irregulares a partir de la mitad superior de la rama; 8 a 15 costillas con perfil recto,

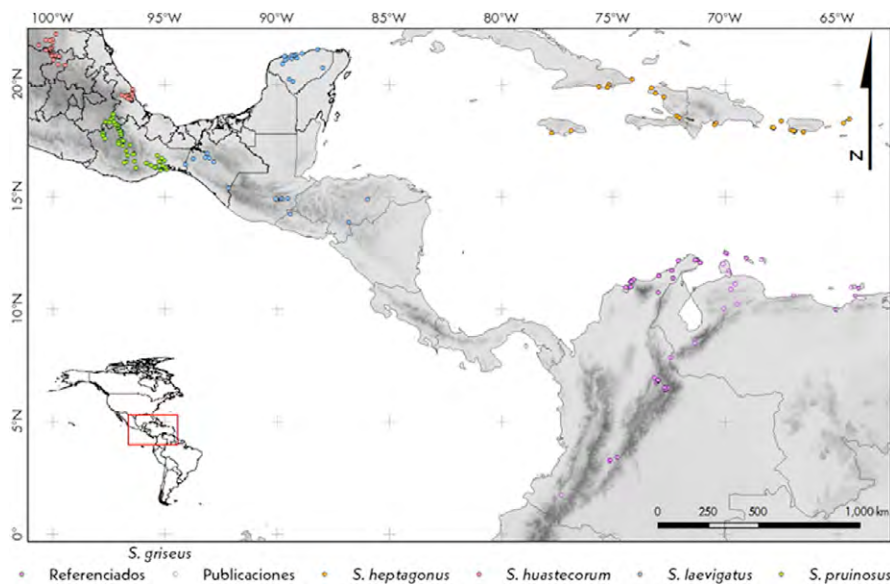


Figura 2. Distribución de las especies del complejo de especies de *Stenocereus griseus*, con límites políticos (modificado de Alvarado-Sizzo et al. [2018]).



dando un aspecto armado por la superposición de espinas de costillas adyacentes; aréolas con 9 a 11 espinas radiales y 3 centrales: izquierda, derecha y central inferior (fig. 1G, H); pericarpelo verde a rojizo con escamas triangulares, ligeramente separadas sin llegar a imbricadas; podarios del tubo floral de verde a purpúreos, estrechamente oblongos a largamente obovados con ápice obtuso a agudo (fig. 1F); frutos con pulpa roja. Se distribuye en las Antillas Mayores: Cuba, La Española, islas de Puerto Rico, Islas Vírgenes (EUA), Islas Vírgenes (Reino Unido) y Jamaica (fig. 2).

*Ejemplares examinados:* Cuba: Guantánamo: Novaliche, *B. Horam 1809* (NY1496354); vicinity of Guantánamo, *N. L. Britton 1894* (NY1496348); U.S. Naval Station, *N. L. Britton 2049* (NY1496364); U.S. Naval Station, *N. L. Britton 2063* (NY1496355); Punta Maysi [Cabo Mási], mostly along Río Maya, *J. A. Shafer 7932* (NY1496356); Santiago de Cuba: sealine near Daiquiri, *W. R. Maxon 4092* (NY1496350); vicinity of Daiquiri, *N. L. Britton y J. F. Cowell 12694* (NY1496400 y NY1496358); sow hills near Renter, west of the bay of Santiago de Cuba, *Bro. León 3743* (NY1496363); near Berraco, 8 mi. E. of Daiquiri, *W. R. Maxon 4021* (NY1496365); Haití: Artibonite: along road between Gonaives and St. Marc., *E. C. Leonard 10068* (NY1496366); Nord-Ouest: vicinity of Jean Rabel: Mole Road, *E. C. Leonard y G. M. Leonard 13683* (NY1496360); Ouest: vicinity of Port au Prince, arid regions of the Cul de Sac., *E. C. Leonard 5324* (NY1496367); vicinity of Etang Saumatre, *E. C. Leonard 3499* (NY1496359); Jamaica: Kingston: vicinity of Kingston, *N. L. Britton y A. Hollick 1760* (NY1496349); Kingston, *J. N. Rose 18501* (NY120657); Saint Elizabeth: Great Pedro Bay, *N. L. Britton 1254* (NY1496346); sin demarcación registrada: between Kingston and Gregory Park, along the railroad, *W. R. Maxon y E. P. Killip 336* (NY1496345); Port Henderson, coastal desert., *Sin colector registrado 15578* (NY1496347); Puerto Rico: Guánica: a medio camino entre faro E de bahía y Caña Gorda, *A. E. Areces-Mallea s/n* (NY1090572); in coastal thickets, *A. H. Liogier 34322* (NY1496371); Reserva Forestal Guánica, *J. C. Solomon 5708* (ENCBS/n); hill west of Ensenada, *N. L. Britton 9835* (NY873751); isla Mona: at east end of plateau, near Mona Island light House, *E. L. Little Jr. 16539* (NY948143); isla Mona, *A. E. Areces-Mallea s/n* (NY1090808); Lajas: border of lagoon east of Parguera, *H. T. Cowles 1931* (NY873750); Mayagüez: Desecheo Island Natural Reserve, *N. L. Britton 1643* (NY873752); Ponce: Cayo Muertos [Caja de Muertos], *N. L. Britton 5016* (NY843368); República Dominicana: Azua: Azua, *J. N. Rose 3829* (NY1496351, NY1496352); Monte Cristi: Guayubín, *W. L. Abbott 887* (NY1496344); Peravia: Baní, *Bro. A. Lavastre 2247* (NY1496357); Santiago: Mao, *W.*

*L. Abbott 1040* (NY1496353); Islas Vírgenes (EUA): along coast. Drunk Bay, *P. Acevedo-Rodríguez 5061* (NY843369); Islas Vírgenes (Reino Unido): Dog Island, *M. Chapman 1932* (NY1496361).

*Stenocereus huastecorum* Alvarado-Sizzo, Arreola-Nava et Terrazas, Plos One 13(1)e0190385: 13. 2018:

Tronco principal definido, entre 30 y 60 cm de altura; ramificación predominantemente de primer orden con algunas ramas de segundo orden, ascendentes (fig. 1I), poco divergentes, con constricciones cada 20 a 30 cm; 6 a 8 costillas con perfil ligeramente sinuado, a sinuado al grado de presentar aréolas hundidas; aréolas con 7, rara vez 9, espinas radiales y 3 centrales: izquierda, derecha y central inferior (fig. 1K, L); pericarpelo rojo oscuro con escamas triangulares del mismo color, imbricadas; podarios del tubo floral rojo oscuro con márgenes de imbricación amarillentos, los inferiores estrechamente oblongos a lorados con ápice agudo a obtuso, los superiores oblancoelados con el ápice agudo a obtuso (fig. 1J); frutos con pulpa roja, en menor frecuencia anaranjada (variedad "amarilla" en la región de Guanajuato y San Luis Potosí de la sierra Gorda). Distribuido en los estados de Guanajuato, Nuevo León, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas y Veracruz (fig. 2).

*Ejemplares examinados:* México: Guanajuato: Atarjea: cañón de Atarjea, ca. 1.5 a 2 h de camino a pie sobre el lecho del río al NE de la ciudad de Atarjea, *R.T. Bárcenas y Carlos Gómez H. 897* (MEXU756974); camino al Charco, 8km al O de Atarjea, *E. Ventura y E. López 6651* (MEXU638150); Victoria: Puerto de Las Tinajas, terracería entre Puerto de Palmas y Álamos de Martínez, *H. Alvarado-Sizzo, I. Torres-García y F. Paz-Guerrero 350* (MEXU140542, MEXU140543); Tasajillo, ca. 50 km de Xichú a Victoria sobre camino de terracería., *R.T. Bárcenas y Carlos Gómez H. 376* (MEXU657754); ca. 66 km de cañada de Moreno sobre terracería a Mineral el Refugio, *R.T. Bárcenas y Carlos Gómez H. 478* (MEXU690585); 1 km al norte de la Lagunita ca. 58 km. de cañada de Moreno sobre terracería a Mineral el Refugio, *R.T. Bárcenas y Carlos Gómez H. 466* (MEXU694242); ca. 15 km al SE de Álamos de Martínez, ca. 9 km al sur de Espíritu Santo, sobre camino de terracería hacia La Joya Fría y cañada de Moreno, *R.T. Bárcenas y Carlos Gómez H. 742* (MEXU756872); 3 km al N de Puerto de Palmas sobre terracería a Mineral El Refugio, *R.T. Bárcenas y Carlos Gómez H. 459* (MEXU699536); ca. 81 km desde cañada de Moreno sobre terracería a Mineral el Refugio, *R.T. Bárcenas y Carlos Gómez H. 489* (MEXU691520); cerros al N. del poblado de Victoria, *H.M. Hernández y Carlos Gómez H. 823* (MEXU762187); ca. 500 m de la desviación hacia el platano sobre camino a Álamos de Martínez, *R.T.*

*Bárceñas y Carlos Gómez H. 484* (MEXU699622); cerros al norte del poblado de Victoria, *R. T. Bárceñas 73* (MEXU647272); Xichú: Romerillos, entre el camino Xichú y Atarjea, *R.T. Bárceñas y Carlos Gómez H. 918* (MEXU754356); 1 km al NE de Xichú, *R.T. Bárceñas 47* (MEXU908160); 1 km al NE de Xichú, sobre vereda a río abajo (margen derecho del río Xichú), *R.T. Bárceñas 47* (MEXU647143); terracería a San Luis de la Paz, *J. A. Barba Montoya 12* (MEXU1233355); 39 km sobre terracería a Xichú desde Atarjea, *R.T. Bárceñas y Carlos Gómez H. 355* (MEXU670372); ca. 6 km de Xichú sobre camino a Atarjea, barranca derecha, *R.T. Bárceñas 1276* (MEXU830430); Nuevo León: Los Herreras: west of Los Herreras, *Hinton et al. 28291* (MEXU1305349); Los Ramones: Las Piedritas, carretera a Garza González, aproximadamente 9 km al N de Los Ramones, *J. A. Villareal 1990* (MEXU374937); Sin Municipio registrado: Los Leones, Limones, *González Elizondo s/n* (MEXU346309); Querétaro: Arroyo Seco: 3 km al SE de Conca, ca del puente colgante, *C. Gómez Hinostrosa 2134* (MEXU1027480); puente Conca, *S. Burrego 6* (MEXU633486); Ahuatitlán, *L. Scheinvar 6471* (MEXU964092); Jalpan de Serra: ± 2 km de Jalpan, *E. Carranza 1511* (MEXU638141); a 29 km al NO de Jalpan sobre la crr. Jalpan-Arroyo Seco. Rivera del río Santa María, *H. Hernández 1720* (MEXU559920, MEXU853166, MEXU853088); a cinco km de Quirambal, al Oeste de Escanelilla, *L. Scheinvar 4038* (MEXU646688); km 27 carretera Jalpan-Landa de Matamoros, *L. Scheinvar 1012* (MEXU646686); puente sobre la unión de los ríos Conca y Ayutla, *L. Scheinvar 5119* (MEXU646689); puerto de Ánimas, *I. Oseguera y L. Scheinvar 4669* (MEXU430865, MEXU430869); Tancama, carr. 120 entre Jilitla y Jalpan de Serra, a 22 km de Jalpan de Serra, *J. A. Barba Montoya 6* (MEXU1226413); Peña Miller: 12 km al E de Santa Catarina en carr. hacia Peña Miller, *R.T. Bárceñas y Carlos Gómez H. 286* (MEXU647787); Pinal de Amoles: 3 millas W de Misión de Bucareli, a lo largo de la rivera del río Extoraz, *H. Hernández 3549* (MEXU 1027426); carr. 120 entre Jalpan de Serra y Pinal de Amoles *J. A. Barba Montoya 9* (MEXU1249297); *ibid.*, *J. A. Barba Montoya 8* (MEXU1232823); Querétaro: 13.5 km al N de la ciudad de Querétaro, *S. Arias y S. Gama 716* (MEXU531897); Tolimán: El Arte-Boquillas, *E. Sánchez 209* (MEXU1253957); San Luis Potosí: Cd. del Maíz: ca. 1 km al N de Tablas camino a la Morita, *Carlos Gómez H. y M. E. Correa 2516* (MEXU1280861); Guadalcázar: 1.3 km N de la carr. # 80 (Huizache-Tula), entrando por el rancho "El Cardón", *H.M. Hernández, R.T. Bárceñas y L. Rocha 3215* (MEXU763361); 2 km al N de la carr. Huizache-Cd. Victoria, a la altura del km 56 al E del entronque Huizache, *H.M. Hernández, R.T. Bárceñas y L. Rocha 2797*

(MEXU830156); a 4 km NE de La Hincada por el camino que desemboca en la carr # 80 (Huizache-Tula), *H.M. Hernández y Carlos Gómez H. 3171* (MEXU763366); ca. 12.8 km al S de la carr. entronque Huizache Cd. Maíz rumbo a Sartenejo, El Granjenal, *R.T. Bárceñas y Carlos Gómez H. 1390* (MEXU769109); ca. 1 km al NO de la terracería hacia Las Negritas, a la altura del km 4 desde El Progreso, *R.T. Bárceñas y Carlos Gómez H. 1085* (MEXU858454); ca. 1 km al NO de la terracería hacia las negritas, a la altura del km 4 desde El Progreso, *R.T. Bárceñas y Carlos Gómez H. 1085* (MEXU858453); 4 km NO de Buenavista, por el camino a La Hincada, *R.T. Bárceñas, H.M. Hernández y Carlos Gómez H. 2997* (MEXU782674); 4.5 km al S de la Presa de Guadalupe por brecha a Las Negritas, *R.T. Bárceñas, Carlos Gómez H. y M. Meade 1543* (MEXU763362); ca. 2 km al E de Sartenejo, *R.T. Bárceñas y Carlos Gómez H. 1384* (MEXU761851); 14.2 km al SE de Presa de Guadalupe por la carretera a Cd. Victoria, sobre brecha a 2.4 km al sur, *R.T. Bárceñas, Carlos Gómez H. y M. Meade 1563* (MEXU768689); ca. 2 km al E de Sartenejo, *R.T. Bárceñas y Carlos Gómez H. 1384* (MEXU761925); 4 km al NO de Buenavista, por el camino a La Hincada, *H.M. Hernández, R.T. Bárceñas y Carlos Gómez H. 2997* (MEXU782675); 9 km al O de la Presa de Guadalupe, sobre la carr. que va a Cd. Victoria, *Carlos Gómez H. y M. Herrera 1114* (MEXU763686); 4.5 km al S de la presa de Guadalupe por brecha a Las Negritas, *Carlos Gómez H. 1534* (MEXU763356); Rioverde: ca. 20 km al NO de Plazuelas, SLP, sobre camino a Álamos de Martínez, Gto., *R.T. Bárceñas y Carlos Gómez H. 709* (MEXU761973); ca. 20 km al NO de Plazuelas, SLP, sobre camino a Álamos de Martínez, Gto., *R.T. Bárceñas y Carlos Gómez H. 709* (MEXU761974); Santa Marta del Río: Ca. 29 km al SO de Plazuelas, sobre camino a Álamos de Martínez, *R.T. Bárceñas y Carlos Gómez H. 723* (MEXU769115, MEXU769116); ca. 7 km al E. de Álamos de Martínez, sobre carretera a río Verde-Jalpan, *R.T. Bárceñas y Carlos Gómez H. 846* (MEXU762007); San Luis de la Paz: La Teresa, ca. 66 km al NE de San Luis de la Paz, sobre camino a Mineral El Realito, *R.T. Bárceñas y Carlos Gómez H. 694* (MEXU697507); ca. 59 km al NE de San Luis de la Paz sobre camino a mineral El Realito, *R.T. Bárceñas y Carlos Gómez H. 688* (MEXU697830); ca. 55 km al NE de San Luis de la Paz sobre el camino a Mineral El Realito, *R.T. Bárceñas y Carlos Gómez H. 681* (MEXU697515); ca. 1.5 km al NO de Álamos de Martínez sobre camino a Mineral El Realito, *R.T. Bárceñas, H.M. Hernández y Carlos Gómez H. 842* (MEXU756861); cerros al NE de La Teresa, ca- 66 km. Al NE de San Luis de la Paz, sobre camino a Mineral el Realito, *R.T. Bárceñas y Carlos Gómez H. 698* (MEXU697840); Tierra Blanca: 6 km al NE de la desv. Victoria-Santa Catarina sobre carretera

a Santa Catarina desde Tierra Blanca, *R.T. Bárcenas y Carlos Gómez H. 278* (MEXU649080); Tamaulipas: Antiguo Morelos: eastern slope low calcareous ridge west of Antiguo Morelos, *E. Hernández Xolocotzi 7674* (MEXU675862); cañón del Abra., *H. Bravo-Hollis s/n* (MEXU70508 y MEXU70509); Casas: 1.5 km de la entrada al rancho Veracruz, *J. Martínez-Ávalos, J. Jiménez y A. Mora 415* (MEXU638193); Jaumave: 1.1 km al NW por camino de brecha hacia el ejido La Unión, *B. Goetsch 403* (MEXU984292); carr. 101 entre Cd. Victoria y Jaumave. Aproximadamente a 3 km del puente de Almar, *J. A. Barba Montoya 3* (MEXU1227178); 4.6 km al SO de San José de Salamanca, *B. Goetsch Cabello 286* (MEXU1018130); W side of Mex. Hwy. 101, 1 mi. S of Río Chihue bridge, 11.5 mi. (by road) N of Jaumave, 28 km (by air) SW of Ciudad Victoria, *B. Hansen et al. 3780* (MEXU274430, MEXU274431); entre Ciudad Victoria y Jaumave, *H. Bravo-Hollis s/n* (MEXU69175); Jaumave, *H. Bravo-Hollis s/n* (MEXU155446); cerca de Jaumave, *H. Sánchez-Mejorada 3553* (MEXU474787); Valle de Jaumave, 4 km al N del puente sobre El Guayalejo, *H. Sánchez-Mejorada 2073* (MEXU158995); Tula: ca. 4 km sobre camino al puerto de Clavellinas, *R.T. Bárcenas y Carlos Gómez H. 928* (MEXU761897); 7 km al O. de Tula, *S. Gama-López 108* (MEXU1145526, MEXU1145624); Al N de Tula, *P. Cheuva 199* (MEXU235403); 3 km al S de Tula, *H. Sánchez-Mejorada 2086* (MEXU159030); 3 km al S de Tula, *H. Sánchez-Mejorada 2086* (MEXU159029); planicies cerca de Tula, *H. Sánchez-Mejorada 2084* (MEXU158984); Victoria: entre Ciudad Victoria y Monterrey, *H. Bravo-Hollis s/n* (MEXU75030); 5 km al SO de Ciudad Victoria, *H. Sánchez-Mejorada 2056* (MEXU159028); Veracruz: Actopan: 1 km al N de Mozomboa, camino al cerro de La Mesa (sierra Manuel Díaz), *R. Acosta y I. Acosta 1581* (XAL20759); El Descabezadero (3 km antes de Chicuasén), *R. V. Ortega 506*, (XAL s/n); Acultzingo: cerca de Acultzingo (3km SE), *L. Scheinvar y J. Dorantes 851* (MEXU496659); Emiliano Zapata, Palo Gacho, cerca de Jalapa, *L. Scheinvar 857* (MEXU161777); S.E. de la Rinconada, Veracruz, *H. Sánchez-Mejorada 70-0301* (MEXU144044); entre Jalapa y Plan del Río, *C. Delgadillo M. 28* (MEXU161779); entre Jalapa y Plan del Río, *C. Delgadillo M. s/n* (MEXU118883); Paso de Ovejas: Villa Rica enfrente al Peñón, *J. Dorantes et al. 1096* (MEXU166143); Puente Nacional: Puente Nacional, *H. Sánchez-Mejorada 70041* (MEXU191638); entre Puente Nacional y Empalme Conejos, *C. Delgadillo M. s/n* (MEXU116842); alrededores de Puente Nacional, *J. González 90* (MEXU154523); alrededores de los Conejos, *C. Delgadillo M. 22* (MEXU161767); *ibid.*, *C. Delgadillo M. 1* (MEXU161781); *ibid.*, *C. Delgadillo M. s/n* (MEXU122121); barranca cercana a Puente nacional,

*H. Sánchez-Mejorada s/n* (MEXU191631); alrededores de Empalme Conejos, *C. Delgadillo M. s/n* (MEXU118882); entre Camaroncillos y Conejos, *C. Delgadillo M. s/n* (MEXU122122); 2 km al SE de Puente Nacional, Veracruz, *H. Sánchez-Mejorada 700402* (MEXU191627); alrededores de Empalme Conejos, *C. Delgadillo M. 42* (MEXU161769); Soledad de Doblado: 4 km W of Tenenexpan, *M. Nee y Taylor 29639*, (XAL109055); sin municipio registrado: transecto Punta Limón a cerro de Oro, *A. Lot et al. 1900* (MEXU162416).

*Stenocereus laevigatus* (Salm-Dyck) Buxb., *Botanische Studien* 12:92.1961:

*Cereus laevigatus* Salm-Dyck, *Cactaeae in Horto Dyckensi Cultae* 1849.204.1850.

=*Lemaireocereus laevigatus* (Salm-Dyck) Borg., *Cacti*. Ed.2, 163.1937.

Tronco principal bien constituido, entre 0.5 y 1 m de altura; ramificación predominantemente de segundo orden con algunas ramas de tercer orden, divergentes y recurvadas (fig. 3A); 6 a 9 costillas con perfil recto; aréolas con 7 a 11 espinas radiales y 3, rara vez 4 centrales: izquierda, derecha, centrales superior e inferior, de estas últimas todas caedizas menos la última (fig. 3C, D); pericarpelo verde, escamas triangulares, verdes con el ápice rojizo a purpúreo, separadas entre sí; podarios del tubo floral de verdes en la base a café-purpúreas en el ápice, los inferiores estrechamente oblongos con el ápice obtuso, redondeando o mucronado, los superiores largamente obovados con el ápice redondeado (fig. 3B); frutos con pulpa roja. Distribuido en El Salvador, Guatemala, Honduras y México en los estados de Yucatán y Chiapas (fig. 2).

*Ejemplares examinados*: El Salvador: Metapán: entrada al área protegida San Diego-La Barra (km 106 carretera Santa Ana-Metapán) campos de lava viejos de la montaña de San Diego, *J. J. Linares y C. A. Martínez 6685* (MEXU1254725); Guatemala: Chiquimula: La Ondonada, *M. Véliz y F. Ramírez 12916* (MEXU1148294); El Progreso: San Agustín Acasaguastlán: cerro en San Agustín Acasaguastlán, *H. Paniagua 55* (MEXU422149); aldea el Rancho, *A. Cobar y F. Ramírez 357* (MEXU1168748); *ibid.*, *F. Ramírez y M. García 591* (MEXU1172749); camino a Cobán, *F. Ramírez y M. García 551* (MEXU1270777), *M. Véliz y M. Pérez 13302* (MEXU1169909); Paso Jalapas, *M. Véliz y M. Pérez 13369* (MEXU1169910); *M. Véliz y M. Pérez 13327* (MEXU1170079); *M. Véliz y M. Pérez 1333*, (MEXU1170012); *A. Cobar y M. García 850* (MEXU1254726); *F. Ramírez y A. Cobar 665* (MEXU1182408); sin municipio registrado: Pasasagua, km 89 camino a Cobán, *F. Ramírez y M. García 429* (MEXU1146500); El Rancho, *F. Ramírez y M. García*

59, (MEXU1172738); *ibid.*, F. Ramírez et al. 482 (MEXU1154853); orillas del río Motagua, M. Véliz et al. 11245 (MEXU1039163); El Jicaro, M. Véliz y F. Ramírez 12861 (MEXU1146723); El Progreso, 2 km antes de la desv. a El Rancho, camino a Teculután, C. Gómez H. 2238 (MEXU1091957); Zacapa: El Paso de los Jalapa, M. García y F. Ramírez 473 (MEXU1230825); Cabañas, transecto cabañas, M. Véliz y A. Cobar 13156 (MEXU1148278); *ibid.*, M. Véliz y M. Pérez 13396 (MEXU1170028); *ibid.*, M. Véliz y M. Pérez 13410 (MEXU1270203); a 2 km de El Jicaro, M. García y F. Ramírez 327 (MEXU1146860); camino a Chiquimula, M. García y F. Ramírez 286 (MEXU1155035); *ibid.*, M. García y F. Ramírez 268 (MEXU1148561); *ibid.*, M. García y F. Ramírez 417 (MEXU1148296); km 86 camino a San Agustín Acasaguastlán, A. Cobar y M. Véliz 138 (MEXU1170025); río Hondo, F. Ramírez y M. García 479 (MEXU1170029); *ibid.*, M. Véliz y M. Pérez 13204 (MEXU1168431); Zacapa, A. Cobar y F. Ramírez 315 (MEXU1168660); *ibid.*, A. Cobar y F. Ramírez 299 (MEXU1168842); *ibid.*, A. Cobar y M. García 937 (MEXU1261846); El Jicaro, aldea Los Bordos, M. García y F. Ramírez 488 (MEXU1165536, MEXU1170014); *ibid.*, M. García y F. Ramírez 515

(MEXU1252361); Paso Jalapas, M. García y F. Ramírez 357 (MEXU1154859); km 86 camino a San Agustín Acasaguastlán, A. Cobar y M. Véliz 142 (MEXU1170024); km 944 camino a San Cristóbal Acasaguastlán, A. Cobar y M. Véliz 189 (MEXU1170017); Honduras: El Paraíso: Oropolí: Las Pintadas, +- 7 km al N del pueblo de Oropolí, por el camino Oropolí-Yuscarán, J. J. Linares 6576 (MEXU1251329); Francisco Morazán: Tegucigalpa, Campus de la Escuela Agrícola Panamericana, cultivada en herbario, traída de Las Pintadas, Mpio. de Oropolí, J. J. Linares 6687 (MEXU1251328); México: Chiapas: Alcalá: wooded slope along the Río Grijalva 10 km south of México 190 road to Acala at Nandaburé, M. Laughlin 839 (ENCB s/n); La Trinitaria, savanna along small dirt road to Boquerón and ejido Mujica W of Mexican Highway 190, D.E. Breedlove 42244 (MEXU238096); Yucatán: Dzemul: al norte del Municipio Dzemul, J. S. Flores y R. Lira 10644 (MEXU719963); Oxkutzcab: 1 km antes de llegar a Yaxhom, C. Chan et al. 387 (XAL28753); Progreso: colonia Costa Blanca, por la carr. para Chicxulub, J. I. Calzada et al. 6533 (XAL s/n); río Lagartos: 3 km al sur del río Lagartos, E. Cabrera y H. de Cabrera 4675 (MEXU444660); *ibid.*, E. Cabrera y

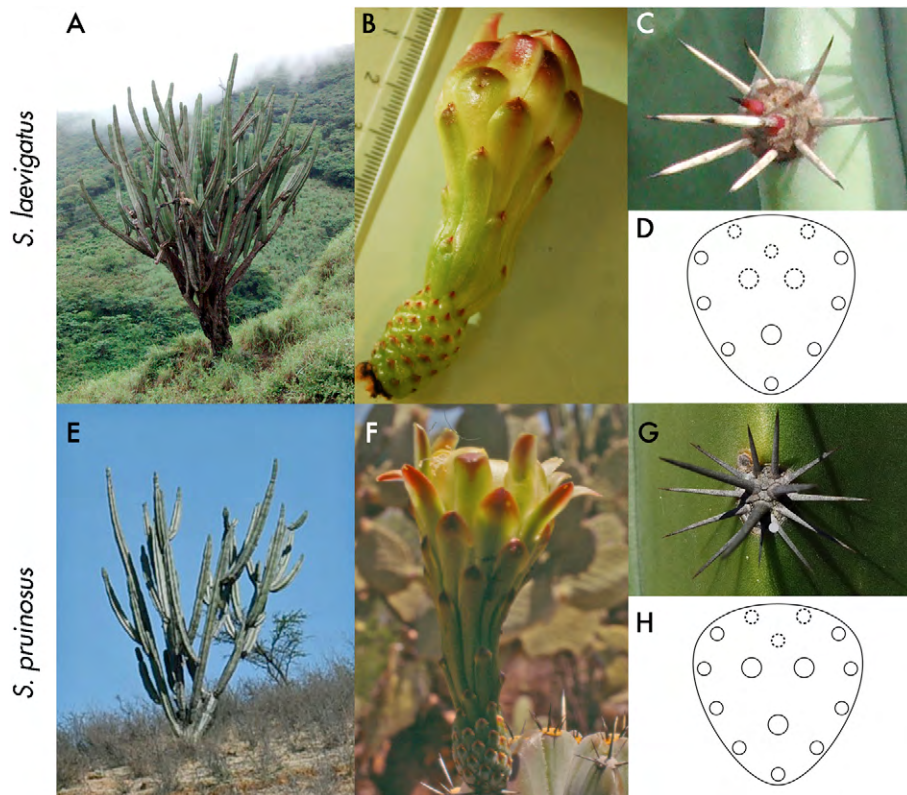


Figura 3. Fotografías de caracteres de *S. laevigatus* (A-D) y *S. pruinosus* (E-H). Créditos fotográficos: A-D, H. Alvarado-Sizzo; E y G, F. Areces-Berzain; F, G. Gann; H, H. Alvarado-Sizzo.

*H. de Cabrera* 4675 (MEXU444659); Telchac Puerto: a 2 km S de Telchac Puerto (carr. Costera, por carr. A Telchac, al NE de Dzemul), *H.M. Hernández y J. S. Flores* 2225 (MEXU649000); a 2 km S de Telchac Puerto (carr. Costera, por carr. a Telchac, al NE de Dzemul), *H.M. Hernández y J. S. Flores* 2225 (MEXU649038).

*Stenocereus pruinosus* (Otto ex Pfeiff.) Buxb., *Botanische Studien* 12:101.1961.:

*Echinocactus pruinosus* Otto ex Pfeiff., *Enumeratio Diagnostica Cactearum hucusque cognitarum*.54.1837.

=*Lemaireocereus pruinosus* (Otto ex Pfeiff.) Britton et Rose, *The Cactaceae* 2:88-89, f. 130.1920.

=*Stenocereus longispinus* (Britton et Rose) Buxb., *Botanische Studien* 12:100.1961.

Tronco principal definido, entre 30 y 60 cm de altura; ramificación predominantemente de segundo y hasta tercer orden, divergentes y recurvadas, con el ápice delgado (fig. 3E), sin constricciones; 5 a 8 costillas con perfil recto a ligeramente sinuado; aréolas con 9 a 11 espinas radiales y hasta 4 centrales: izquierda, derecha, centrales inferior y superior (fig. 3G, H); pericarpelo verde con tonos café, escamas verdes a purpúreas, ligeramente separadas a imbricadas; podarios del tubo floral con tonos verdes en la base y café hacia el ápice, rojo, los inferiores estrechamente oblongos a largamente obovados con ápice obtuso, a veces mucronado, los superiores largamente obovados con el ápice agudo a redondeado (fig. 3F); frutos con pulpa amarilla, anaranjada, roja o púrpura. Se distribuye en México en los estados de Oaxaca y Puebla (fig. 2).

*Ejemplares examinados*: México: Oaxaca: ciudad Ixtepec: ciudad Ixtepec, *G. Sánchez* 177 (MEXU1276463); Concepción Pápalo: Loc. 20 km al NE de Cuicatlán camino a Concepción Pápalo, *R. Cedillo* 2236 (MEXU605255); Coxcatlán: barranca de Los Mangos. 2 km al N-NE de Calipan, *A. Salinas-Tovar y R. Martínez* 7121 (MEXU837955); San Rafael, cerca de la carretera de San Rafael a San José Tilapa, *D. Franco Estrada* 26 (ENCBs/n); Lachiguirí: 5 km al NO de Lachiguirí, *A. Campos* 3615 (MEXU714528); Nejapa de Madero: 13.5 km al NNE de río Hondo, brecha a Asunción Lachixonase, *A. Salinas y E. Martínez Correa* 8172 (MEXU657380); Quiotepec: torre 224 línea eléctrica Temascal-Oaxaca-Potencia, Quiotepec, *C. A. Cruz-Espinosa* 2147 (MEXU1249769); San Antonio Cañada: San Antonio cañada, *L. U. Guzmán, S. Gama y S. Arias* 781 (MEXU518082); San Jacinto Chilteca: carretera Oaxaca-Miahuatlán km 24.5, frente a la desviación a San Jacinto Chilteca, *H. J. Arreola Nava* 1583 (CHAPA s/n); San Jerónimo Sósola: río Florido, *D.A. Aquino y S. Arias* 70 (MEXU1272797); San Juan Bautista Atlatlauca: San Juan Bautista Atlatlauca, *M. A.*

*Vázquez-Dávila y C. Martínez* 18 (MEXU787534); San Juan Bautista Cuicatlán: 4 km al oeste de Coyula, camino a Santiago Quiotepec, *E. Martínez, J. L. Rebollo y V. Torres* 33454 (MEXU1269928); 8 km NE de Santiago Quiotepec, carretera a San Juan Coyula, *R. Medina* 4694 (MEXU1274017); 3 km al NE de Cuicatlán, *I. Trejo* 1641 (MEXU1121880); barranca del Zacatalito, San José El Chilar, *C. A. Cruz-Espinosa y E. San Pedro* 535 (MEXU1035553); carretera de terracería 3 km al noroeste de Quiotepec, *C. A. Cruz-Espinosa, E. Martínez y E. San Pedro* 467 (MEXU1035556); cerca de Tomellín, Oaxaca, *Rose y Painter s/n* (MEXU10104); Cuicatlán, *A. Salinas-Tovar y R. Martínez* 5929 (MEXU787532, MEXU787547); Quiotepec, camino de terracería Cuicatlán-Buenos Aires a 30.5 km de Cuicatlán, *Terrazas y Arias* 449 (CHAPA s/n); San Juan de Los Cues: 1 km al NE de San Juan de los Cues, *S. Gama López, S. Arias y L. U. Guzmán* 99 (MEXU1326621); km 83 carretera 131 a Oaxaca, *L. U. Guzmán et al.* 842 (MEXU518127); San Juan Mixtepec: *E. Hunn* 568 (MEXU931475); San Martín Lachila: San Martín Lachila, orilla de camino, *P. Sánchez* 33 (MEXU485993, ENCB s/n); San Mateo del Mar: 4.7 km al E de San Mateo del Mar, *J. L. Villaseñor, J. I. Calzada y D. Ocaña* 1378 (MEXU753756); San Pablo Huitzo: Huitzo, *H. Bravo-Hollis* 243 (MEXU75023); San Pedro Tapanatepec: 25 km al NE de Tapanatepec, *C. Gómez y A. Cervantes* 2071 (MEXU1026791); San Pedro Totolapan: la plantación de copal en Las Margaritas, *F. Maldonado, A. Sánchez y J. Lucas* 340 (MEXU1347101); Totolapan, *A. Saynez Vázquez* 1201 (ENCB s/n, XAL s/n); Santa María Guienagati: 2 km al O de Santa María Guienagati hacia Lachiguirí, *R. Torres y L. Cortés* 14369 (MEXU714527); Santa María Huatulco: camino a la estación de campo El Sabanal, *S.H. Salas* 5894 (MEXU1343705); Santa María Tecomavaca: 1 km al Sur de Tecomavaca, *J. Rzedowski* 25600 (ENCB s/n); Santiago Cacaloxtotec: *H. Bravo s/n* (MEXU59704); Santiago Huajolotitlán: Santiago Huajolotitlán, cerca de Huajuapam de León, *T. Hernández* 43 (MEXU1233945); cerca de Santiago Huajolotitlán, *L.U. Guzmán, S. Gama y S. Arias* 880 (MEXU531965); Guajolotitlán, cerca de Huajuapam de León, *H. Bravo-Hollis s/n* (MEXU59703); Santiago Huaucilla: 5.5 km sobre la terracería Huaucilla-Tlalixtlahuaca, *D.A. Aquino y S. Arias* 57 (MEXU1272979); 10.5 km sobre la terracería Huaucilla-Tlalixtlahuaca, *D.A. Aquino y S. Arias* 114 (MEXU1272791); Santiago Laollaga: 11 km al N de Laollaga, carr. A Guevea de Humboldt, *A. Campos* 3549 (MEXU549473); recorrido a Nisaziña, rumbo a Jalapa del Marqués, al O de Laollaga, *A. Campos y R. Torres* 4035 (MEXU561957); Santo Domingo Tehuantepec: 20 km al N de Tehuantepec, sobre terracería a IGU, *C. Gómez y A. Cervantes* 2058 (MEXU1026936); El Limón, 11 km al SSE



de Jalapa del Marqués, *I. Trejo* 1276 (MEXU1121852); 12 km S of Tehuantepec, on side road to Pishishe off road 185 Tehuantepec-Salina Cruz, *B. Leuenberger* y *C. Schiers* 2524 (MEXU275261); Teotitlán de Flores Magón: km 19 de la carr. de Teotitlán del Camino a Huautla, *S. Gama*, *U. Guzmán* y *S. Arias* 34 (MEXU518144); 2.4 km al NE de Ignacio Mejía, *R. García* 285 (MEXU837954); Tequisistlán: *H. Bravo-Hollis* s/n (MEXU98512); Zoquitlán: 3 km al SSO de Mano de León, *S. Acosta* 924 (MEXU481470, ENCBs/n); San José Miahuatlán, 2 km NE de San José Axusco, *S. Arias* 750 (MEXU1302116); sin municipio registrado: km 616 de la carretera México-Chiapas, *H. Bravo-Hollis* s/n (MEXU59644); entre Oaxaca y Mitla, *H. Sánchez-Mejorada* 724029 (MEXU166778); km 730 de la carretera México-Tehuantepec, *H. Bravo-Hollis* 62 (MEXU191679); 5 km al SW de Guelatao, *R. Cedillo*, *R. Torres* y *D. Lorence* 1277 (MEXU354725); km 619 carretera Cristóbal Colón, *H. Bravo-Hollis* s/n (MEXU98504); km 619 carretera Cristóbal Colón, *H. Bravo-Hollis* s/n (MEXU98506); terrenos de Jalallaco, *C. Conzatti* 5064 (MEXU528498); carretera a Tehuantepec, *H. Bravo-Hollis* s/n (MEXU177300); cerca de Matamoros, *P. Cheuva* 86 (MEXU235406); cerca de Tehuacán, *H. Bravo-Hollis* s/n (MEXU59701).

**Distribución.** Se recuperaron un total de 128 registros a partir de los datos de los ejemplares de herbario, adicionalmente se obtuvieron 114 registros de GBIF y

publicaciones académicas, sumando así un total de 242 registros. La nueva distribución muestra la presencia de 3 especies en México (fig. 2): *S. huastecorum* en Guanajuato, Nuevo León, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas y un grupo de poblaciones aisladas en Veracruz; *S. pruinosus* en Oaxaca y Puebla; así como *S. laevigatus* en Chiapas y Yucatán, la cual extiende su área de distribución hasta Guatemala, Honduras y El Salvador. Fuera de México, *S. heptagonus* se localiza en Cuba, Jamaica, Haití, República Dominicana, Puerto Rico e Islas Vírgenes (EUA y Reino Unido); *S. griseus* se ubica en Colombia, Venezuela, Aruba, Bonaire y Curaçao.

Esta distribución actualiza la reportada para Global Cactus Assessment por Arreola-Nava (2013) y Arreola y Nassar (2013) (fig. 4). Además, se presenta la regionalización por subprovincias fisiográficas en la figura 5.

## Discusión

Las aproximaciones previas al CESG (Alvarado-Sizzo et al., 2018; Arreola-Nava, 2006b; Gibson, 1991) analizaron el origen geográfico de los taxones, número de costillas y patrones de espinación; sin embargo, estos caracteres por sí solos dificultan la tarea de determinación.

Considerar el origen geográfico puede ser engañoso al tratarse de un recurso que frecuentemente es transportado por el hombre (Parra et al., 2010), mientras que no es

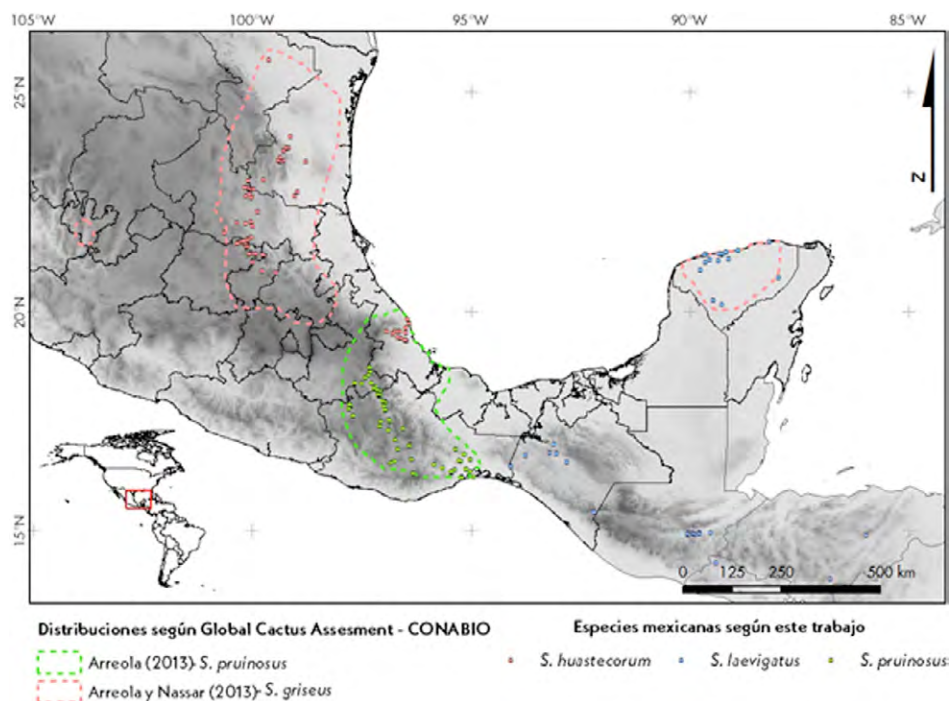


Figura 4. Distribuciones previamente definidas para *S. pruinosus* y *S. griseus* (*S. huastecorum*).

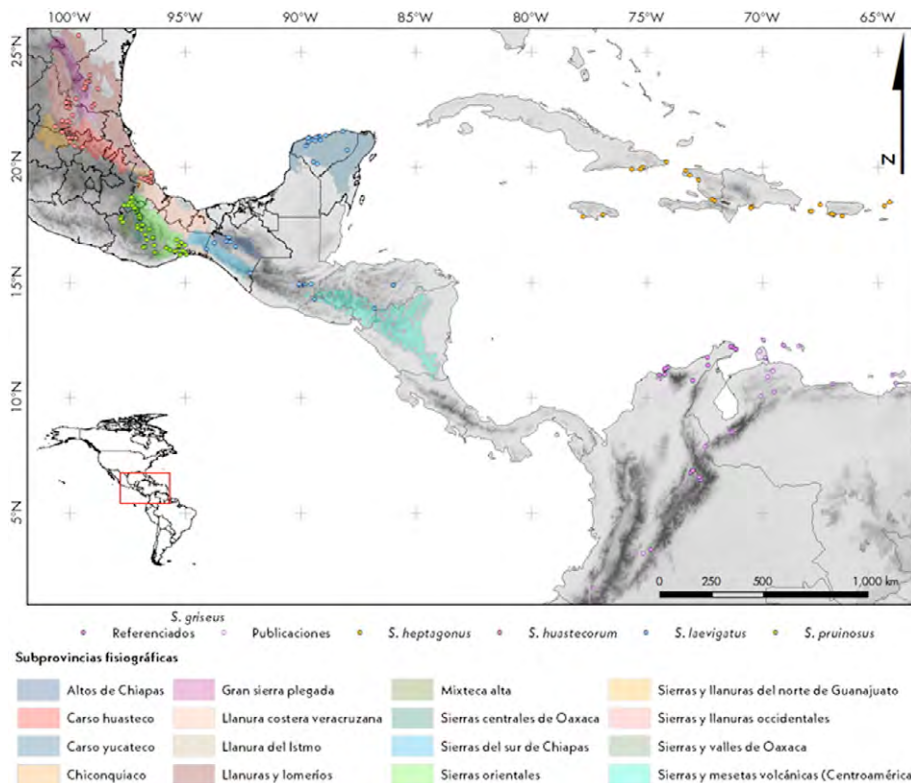


Figura 5. Distribución de las especies del complejo de especies de *Stenocereus griseus* de acuerdo con subprovincias fisiográficas de INEGI (2001).

común encontrar registros de coordenadas geográficas en ejemplares de herbario colectados antes del siglo XXI. El número de costillas por su parte, oscila típicamente entre 5 y 9 en las especies mexicanas y está relacionado con factores ontogénicos y fisiológicos (Cornejo y Simpson, 1997) que no siempre están disponibles en los ejemplares de herbario (edad y orden de las ramas), aun así, especies como *S. heptagonus* son fácilmente distinguibles al presentar hasta 15 costillas que le dan una apariencia densamente armada.

Los patrones de espinación permiten distinguir las especies del complejo con respecto a las otras 2 especies del grupo de *S. griseus* (*S. chacalapensis* y *S. fricii*) que presentan un mayor número de espinas tanto radiales como centrales (Arreola-Nava, 2006b), mientras que dentro del complejo, facilitan la determinación de *S. griseus* (al presentar éste una sola espina central y 7 centrales), pero se traslapan ampliamente en *S. pruinus*, *S. heptagonus* y *S. laevigatus*. El número y posición de las espinas también se relacionan con factores ontogénicos, tales como la edad de la aréola o los eventos reproductivos, pues la madurez de la aréola, al parecer, conlleva la pérdida de las espinas radiales superiores (más pequeñas) (fig. 6A), mientras que el desarrollo de la flor a partir de la aréola puede tener el mismo efecto (fig. 6B), o bien adicionar las espinas de

la aréola floral (fig. 6C). Por otra parte, recientemente se han descrito técnicas multivariadas para el análisis de la espinación en cactáceas columnares como *Cephalocereus* (= *Neobuxbaumia*) (Arroyo-Cosultchi et al., 2010; Tapia et al., 2016) que prometen una mayor robustez en el análisis de dicha característica.

Aunado a los caracteres arriba mencionados, reexaminar la morfología permitió la identificación de un conjunto adicional de caracteres diagnósticos, cuyos estados para cada especie se encuentran detallados en las descripciones específicas y se resumen en la tabla 2.

Al reexaminar la distribución del CESG, se confirma que es el grupo de especies del género *Stenocereus* más ampliamente distribuido (Gibson, 1991), presentándose los registros más septentrionales en Nuevo León (norte de México), mientras que el registro documental más sureño se localiza en el enclave interandino del río Patía (Nariño, Colombia; Sánchez et al., 2007), con una brecha distribucional en la mayor parte de Cuba (con excepción de la región suroriente de ese país) y Centroamérica (Nicaragua, Costa Rica y Panamá). El patrón discontinuo en la distribución se repite al interior de las especies, por ejemplo, en *S. huastecorum*, cuyas poblaciones de la región del Chiconquiaco en Veracruz se separan hasta 300

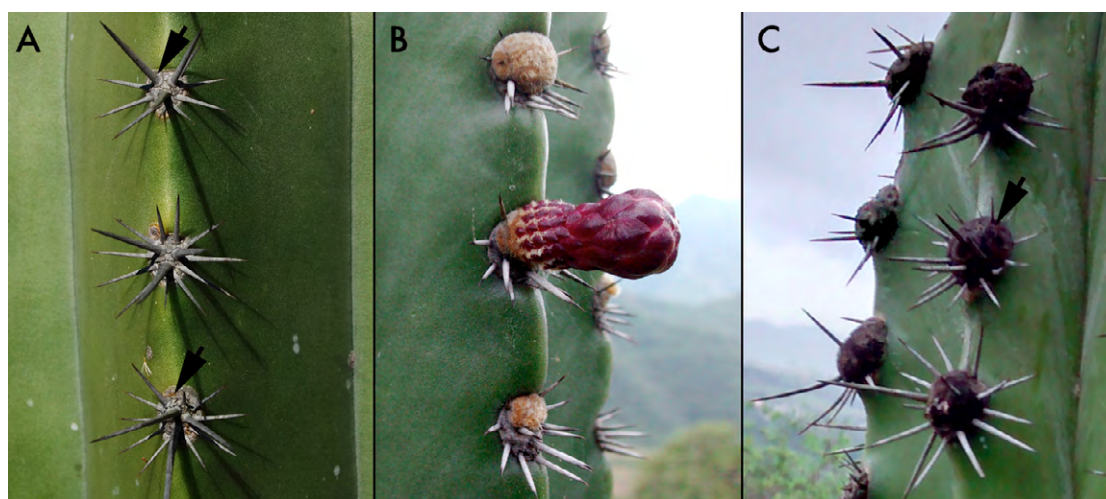


Figura 6. Cambios ontogénicos en la forma de la aréola y patrones de espinación. A: pérdida de espinas por madurez/ esclerificación en *S. pruinosus*; B: pérdida de espinas y deformación por emergencia de la yema floral en *S. huastecorum*; C: espinas supernumerarias derivadas de la yema floral en *S. laevigatus*.

km de las poblaciones del Carso Huasteco; en el caso de *S. laevigatus*, las poblaciones de Chiapas se separan más de 500 km de aquellas de la península de Yucatán; en Colombia las regiones semiáridas de La Tatacoa (Figueroa y Galeano, 2007) y el cañón del Chicamocha (Albesiano et al., 2003), así como esta última y La Guajira distan entre sí más de 400 km.

Las discontinuidades geográficas intraespecíficas claramente contrastan con las barreras genéticas que separan las especies (Alvarado-Sizzo et al., 2018). Por ejemplo, *S. huastecorum* y *S. pruinosus*, al igual que esta última especie con respecto a *S. laevigatus*, están separadas por menos de 100 km. Aunado a esto, la edad de las barreras biogeográficas asociadas, tales como el Cinturón Volcánico Transmexicano o la Sierra Madre del Sur, que se desarrollaron entre el Mioceno temprano y medio (Gómez-Tuena et al., 2007; Morán-Zenteno et al., 2007) es incongruente con la edad de la subtribu Stenocereinae, estimada entre 3.85 y 8.57 millones de años (Hernández-Hernández et al., 2014), entre el Mioceno tardío y el Plioceno, por lo que resultaría aventurado realizar una interpretación histórica de la distribución del complejo.

La distribución presentada redefine sustancialmente la considerada previamente por Arreola-Nava (2006a), quien sugería un escenario simpátrico entre *S. huastecorum* (considerado en ese trabajo como *S. griseus*) y *S. pruinosus* en el norte y centro de México; así como la reportada para Global Cactus Assessment por Arreola-Nava (2013) y Arreola-Nava y Nassar (2013) (fig. 4), en la cual se consideraban áreas de Jalisco, Hidalgo e incluso Yucatán como parte de la distribución de *S. huastecorum*,

mientras que las poblaciones veracruzanas de éste último se asignaban a *S. pruinosus*.

En este nuevo escenario, es posible una regionalización de la distribución del CESG (fig. 5), de forma que en México, *S. huastecorum* se distribuye principalmente en las subprovincias fisiográficas de la Sierra Madre Oriental denominadas Carso Huasteco, Sierras y Llanuras Orientales y la Gran Sierra Plegada (INEGI, 2001). También es notoria su presencia en las subprovincias denominadas Sierras y Llanuras del Norte de Guanajuato, así como la población disyunta de la región del Chiconquiaco en Veracruz y existen poblaciones dispersas en las llanuras costeras del Golfo de México. *Stenocereus pruinosus* está principalmente asociado a subprovincias de la Sierra Madre del Sur, principalmente con las Sierras Orientales y Sierras Centrales de Oaxaca, a lo largo de cuyos límites se ubica el Valle de Tehuacán-Cuicatlán; aunque también se distribuye en las Sierras y Valles de Oaxaca y en la Llanura del Istmo de Tehuantepec, en menor grado hay registros en la Mixteca Alta y buena parte de éstos aparentan estar relacionados con su manejo, su cultivo y su posible dispersión por humanos.

La distribución de *S. huastecorum* y *S. pruinosus*, por lo tanto, corresponde con los 2 centros de diversidad de cactáceas definidos por Mutke y colaboradores (2015) como el Centro Chihuahua y el Oaxaca-Puebla, respectivamente. *Stenocereus laevigatus*, en el sur de México se asocia con la subprovincias del Carso Yucateco, Altos de Chiapas y Sierras del Sur de Chiapas. Estas 2 últimas regiones tienen cierta continuidad fisiográfica en Centroamérica con la región de Sierras y Mesetas Volcánicas, en cuyos cañones





el 01 Febrero, 2016, de: <http://www.beta.inegi.org.mx/app/biblioteca/ficha.html?upc=702825267599>

- López-Almirall, A. (2005). Nueva perspectiva para la regionalización fitogeográfica de Cuba: definición de los sectores. En J. Llorente Bousquets y J. J. Morrone (Eds.), *Regionalización biogeográfica en Iberoamérica y trópicos afines* (pp. 417–428). México D.F.: CYTED/ UNAM/ Conabio.
- Morán-Zenteno, D., Cerca, M. y Keppie, J. (2007). The Cenozoic tectonic and magmatic evolution of southwestern Mexico: advances and problems of interpretation. *Special Paper 422 Celebrating the Centenary of the Geological Society of México*, 422, 71–91.
- Mutke, J., Burstedde, K., Geffert, Jan Laurens Miebach, A., Rafiqpoor, M. D., Stein, A. et al. (2015). Mapping the diversity of cacti. *Schumannia*, 7, 30–36.
- Nassar, J. M., Hamrick, J. L. y Fleming, T. H. (2003). Population genetic structure of Venezuelan chiropterophilous columnar cacti (Cactaceae). *American Journal of Botany*, 90, 1628–1637.
- Parra, F., Casas, A., Peñaloza-Ramírez, J. M., Cortés-Palomec, A. C., Rocha-Ramírez, V. y González-Rodríguez, A. (2010). Evolution under domestication: ongoing artificial selection and divergence of wild and managed *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) populations in the Tehuacán Valley, Mexico. *Annals of Botany*, 106, 483–496.
- Sánchez, F., Álvarez, J., Ariza, C. y Cadena, A. (2007). Bat assemblage structure in two dry forests of Colombia: composition, species richness, and relative abundance. *Mammalian Biology-Zeitschrift Für Säugetierkunde*, 72, 82–92.
- Silvius, K. M. (1995). Avian consumers of cardon fruits (*Stenocereus griseus*: Cactaceae) on Margarita Island, Venezuela. *Biotropica*, 21, 96–105.
- Smith, S. R., Davaasuren, N., Debrot, A. O., Simal, F. y De Freitas, J. A. (2012). *Preliminary inventory of key terrestrial nature values of Bonaire*. La Haya, Países Bajos: IMARES.
- Tapia, H. J., Arias, S., Yáñez-Espinosa, L. y Terrazas, T. (2016). El uso de espinas del tallo en la identificación de las especies de *Neobuxbaumia* (Cactaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87, 288–300.
- Thiers, B. (2017). Index herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff. New York: New York Botanical Garden's Virtual Herbarium.

### Capítulo III

Diversidad, diferenciación genética y filogeografía del complejo de especies de *Stenocereus griseus* en poblaciones silvestres y manejadas.



## Diversidad, diferenciación genética y filogeografía del complejo de especies de *Stenocereus griseus* en poblaciones silvestres y manejadas

### Introducción

El género *Stenocereus* está formado por 23 especies reconocidas de las cuales 16 han sido reportadas bajo manejo o cultivo, mientras que otras dos (*S. eruca* y *S. kerberi*) presentan perturbación de hábitat en buena parte de su área de distribución (Tabla 3). El proceso del manejo ha sido señalado como la causa del origen de taxones como *S. montanus* (Gibson, 1990) y de las poblaciones mexicanas de *S. griseus* (Bravo-Hollis, 1978), lo cual no se ha demostrado para el primer caso y se descartó para el segundo (Alvarado-Sizzo et al., 2018). Sin embargo a niveles intraespecíficos, se ha documentado el papel activo del manejo en la morfología y fisiología de especies como *S. stellatus* (Casas et al., 1999; 2006; 2007) y *S. pruinosus* (Parra et al., 2008, 2010, 2014).

El conocimiento de la diversidad genética tanto a nivel de poblaciones como de especies, así como su distribución espacial constituye un aspecto fundamental para la comprensión de los procesos evolutivos y biogeográficos de las especies (Avice, 2000; Piñero et al., 2008). Los valores de diversidad genética reportados para la tribu Pachycereeae (*sensu* Barthlott y Hunt (2000), la cual incluye al género *Stenocereus*) se consideran altos ( $He=0.129-0.402$ ) (Cornejo-Romero et al., 2013). Sin embargo, tanto en el género *Stenocereus* como en la subtribu Stenocereinae (que incluye además a los géneros *Polaskia*, *Escontria* y *Myrtillocactus*) el intervalo de diversidad es más amplio, de forma que presenta valores desde  $He=0.106-0.814$  para toda la subtribu y de  $He=0.144-0.758$  para el género *Stenocereus* (Tabla 4). Al considerar el efecto del manejo en la diversidad genética, se han documentado al menos dos tendencias: en *Polaskia chende* las poblaciones silvestres presentan una mayor diversidad que los sistemas bajo manejo (Contreras-Negrete et al., 2015), mientras que en *S. stellatus* y *S. pruinosus* el patrón es inverso (Casas et al., 2006; Parra et al., 2010; Cruse-Sanders et al., 2013). En cuanto a los valores de estructura, el porcentaje máximo de varianza atribuido a la categoría de manejo nunca supera el 3% (Contreras-Negrete et al., 2015) (Tabla 4).

**Tabla 3:** Especies reconocidas del género *Stenocereus* y categorías de manejo reportadas.

<b>Especie</b>	<b>Categoría</b>	<b>Fuente</b>
<i>Stenocereus alamosensis</i> (J.M. Coult.) A.C. Gibson & K.E. Horak	s. d.	s. d.
<i>Stenocereus beneckeii</i> (Ehrenb.) A. Berger & Buxb.	s. d.	s. d.
<i>Stenocereus chacalapensis</i> (Bravo & T. MacDoug.) Buxb.	Cultivado	Hernández-Victoria y Vásquez-Dávila, 2007
<i>Stenocereus chrysocarpus</i> Sánchez-Mej.	Manejada	Casas et al., 1999
<i>Stenocereus dumortieri</i> (Scheidw.) Buxb.	Manejada	Casas et al., 1999
<i>Stenocereus eruca</i> (Brandege) A.C. Gibson & K.E. Horak	Perturbación de hábitat	Clark-Tapia et al., 2005
<i>Stenocereus fricii</i> Sánchez-Mej.	Manejada, cultivada	Casas et al., 1999
<i>Stenocereus griseus</i> (Haw.) Buxb.	Manejada, cultivada	Villalobos et al., 2007
<i>Stenocereus gummosus</i> (Engelm.) A. Gibson & K.E. Horak	Manejada	Felger y Mosser, 1985
<i>Stenocereus heptagonus</i> (L.) Mottram	Manejada, cultivada	Fuentes Fiallo, 2011
<i>Stenocereus huastecorum</i> Alvarado-Sizzo, Arreola-Nava & Terrazas	Manejada	Casas et al., 1999
<i>Stenocereus kerberi</i> (K. Schum.) A.C. Gibson & K.E. Horak	Perturbación de hábitat	Ruiz-Guerrero et al., 2015
<i>Stenocereus laevigatus</i> (Salm-Dyck) Buxb.	Manejada	Alvarado-Sizzo, et al., 2018
<i>Stenocereus martinezii</i> (J.G. Ortega) Buxb.	s. d.	s. d.
<i>Stenocereus montanus</i> (Britton & Rose) Buxb.	Cultivada	Yetman y Van Devender, 2002
<i>Stenocereus pruinosus</i> (Otto ex Pfeiff.) Buxb.	Manejada, cultivada	Casas et al., 1999
<i>Stenocereus queretaroensis</i> (F.A.C.Weber ex Mathes.) Buxb.	Manejada, cultivada	Casas et al., 1999
<i>Stenocereus quevedonis</i> (González Ortega, Jesús) Buxb.	Manejada, cultivada	Casas et al., 1999
<i>Stenocereus standleyi</i> (González Ortega, Jesús) Buxb.	Manejada, cultivada	Casas et al., 1999
<i>Stenocereus stellatus</i> (Pfeiff.) Riccob.	Manejada, cultivada	Casas et al., 1999
<i>Stenocereus thurberi</i> (Engelm.) Buxb.	Manejada	Felger y Mosser, 1985
<i>Stenocereus treleasei</i> (Vaupel) Backeb.	Manejada, cultivada	Casas et al., 1999
<i>Stenocereus zopilotensis</i> Arreola-Nava & Terrazas	s. d.	s. d.

s.d. = sin datos relativos a manejo o cultivo.

**Tabla 4:** Valores de diversidad y diferenciación genética en especies de la subtribu Stenocereinae, incluyendo categorías de manejo.

Referencia	Especie	Marcador	Heterocigosidad			Distribución de la variación genética (%)				
			Rango	C	M	S	Regional	Poblacional	Individual	Manejo
Contreras-Negrete et al., 2015	<i>P. chende</i>	Aloenzimas	0.474-0.481		0.474	0.481		21	79	0
Parra et al., 2008	<i>S. pruinosus</i>	Aloenzimas	0.529-0.584	0.588	0.578	0.583		6.40	93.60	
Tinoco et al., 2005	<i>E. chiotilla</i>	Aloenzimas	0.106-0.184		0.122	0.134		6.1-7.4	92.6-93.9	
Casas et al., 2006	<i>S. stellatus</i>	Aloenzimas	0.241-0.333	0.289	0.27	0.253				
Clark-Tapia y Molina-Freaner, 2003	<i>S. gummosus</i>	Aloenzimas	0.207-0.351			0.261		33	66.29	
Nassar et al., 2003	<i>S. griseus</i>	Aloenzimas	0.144-0.163			0.182				
Molina-Freaner y Clark-Tapia, 2005	<i>S. eruca</i>	Aloenzimas	0.135-0.200			0.158		33.71	66.29	
Ruán-Tejeda et al., 2014	<i>S. queretaroensis</i>	ISSRs	0.281-0.296	0.281	0.291	0.296	2.60	22.50	76.18	-4.4
Bustamante et al., 2016	<i>S. thurberi</i>	ISSRs	0.146-0.203			0.207		19.50	80.49	
Clark-Tapia et al., 2005	<i>S. eruca</i>	RAPDs	0.253-0.301			0.276				
Cruse-Sanders et al., 2013	<i>S. stellatus</i>	SSRs	0.45-0.72	0.63	0.64	0.55	1	6	93	No
Otero-Arnaiz et al., 2005	<i>P. chichipe</i>	SSRs	0.559-0.726	0.66	0.621	0.685				
Parra et al., 2010	<i>S. pruinosus</i>	SSRs	0.538-0.758	0.555	0.622	0.67		10.41	90.58	0.0
Contreras-Negrete et al., 2015	<i>P. chende</i>	SSRs	0.602-0.814		0.616	0.677		10	87	3.0
Lozano Garza, 2013	<i>S. gummosus</i>	SSRs	0.233-0.429			0.316	3.82	1.82	94.36	
Parra et al., 2014	<i>S. pruinosus</i>	SSRs	0.524-0.841	0.565		0.438				
Parra et al., 2014	<i>S. laevigatus*</i>	SSRs	0.254-0.628	0.254	0.457	0.628	13.59	16.47	69.95	
Parra et al., 2014	<i>S. huastecorum*</i>	SSRs	0.242-0.627	0.692		0.748				

**C**= promedio de las poblaciones cultivadas, **M**= promedio de las poblaciones manejadas, **S**= promedio de las poblaciones silvestres.

\*= consideradas *S. pruinosus* en la publicación original.

Por otra parte, al analizar la distribución espacial de la diversidad genética del género, se observan valores altos ( $He=0.241-0.814$ ) en las especies del Valle de Tehuacán (*S. stellatus* y *S. pruinosus*) (Cruse-Sanders et al., 2013; Parra et al., 2014) y valores menores en otras especies como *S. gummosus* de la Península de Baja California ( $He=0.233-0.429$ ) (Lozano Garza et al., 2015), *S. thurberi* de la Planicie Costera del Pacífico Norte ( $He=0.146-0.203$ ) (Bustamante et al., 2016), *S. griseus* del norte de Sudamérica ( $He=0.144-0.163$ ) (Nassar et al., 2003) y *S. queretaroensis* del sur de Jalisco ( $He=0.281-0.296$ ) (Ruán-Tejeda et al., 2014). Cabe señalar que si bien parte de la distribución de las especies señaladas coincide con centros de diversidad de cactáceas, el de Oaxaca-Puebla que incluye al Valle de Tehuacán, es el que presenta el mayor número de cactáceas con tipo de crecimiento columnar (Mutke et al., 2015), por lo que la alta diversidad genética en esta región podría estar relacionada con efectos ambientales paralelos (Vellend y Geber, 2005) tal como se ha señalado con la notable coincidencia de la coexistencia de murciélagos y cactáceas columnares en la región (Valiente-Banuet et al., 1996).

Los valores de varianza atribuidos a la distribución geográfica solo se han calculado para *S. stellatus* (Cruse-Sanders et al., 2013), *S. queretaroensis* (Ruán-Tejeda et al., 2014) y *S. gummosus*. De dichas especies, *S. gummosus* es la que presenta el mayor valor (3.82%) atribuido al Canal del Vizcaíno que históricamente separó la península de Baja California como evento vicariante (Lozano Garza, 2013). La variación genética en la subtribu se localiza entre poblaciones (6-33%), pero principalmente entre individuos (66.29-94.36%) (Tabla 4). Algunos factores que explican este fenómeno son la frugivoría y polinización por organismos de alta vagilidad, la autoincompatibilidad reproductiva y, en el caso de los sistemas bajo manejo, la práctica tradicional de intercambio de germoplasma. La diversidad, como la estructura genética de las especies de Stenocereinae, por lo tanto, aparentemente están mediadas tanto por factores antropogénicos como ambientales. Sin embargo, los estudios realizados a la fecha, en su mayoría se han enfocado en una especie, de distribución limitada a una o unas pocas regiones fisiográficas.

El complejo de especies de *S. griseus* (CESG) se conforma de *S. huastecorum* (nororiente de México), *S. pruinosus* (Puebla y Oaxaca), *S. laevigatus* (Chiapas, Yucatán y partes de Centroamérica), *S. heptagonus* (Antillas mayores) y *S. griseus* (Colombia y Venezuela) (Capítulo II). A lo largo de esta amplia distribución se han documentado diferentes grados de manejo (Parra et al., 2008, 2010, 2014; Villalobos et al., 2007). La utilidad del CESG como recurso ha sido punto de partida para explicar su distribución. Según Britton y Rose (1920), *S. griseus* es originario del norte de Sudamérica y se habría introducido al norte de



México como una forma cultivada que posteriormente se naturalizó. No obstante, estudios genéticos han demostrado que las poblaciones mexicanas en realidad son una especie autóctona (Alvarado-Sizzo et al., 2018). Por otra parte, los trabajos de Parra y colaboradores (2008, 2010) han reportado el intercambio de germoplasma de *S. pruinosus* entre comunidades del Valle de Tehuacán, así como el impacto de éste y otros procesos antropogénicos en la genética y morfología de dicha especie.

El CESH, por lo tanto, representa una oportunidad para el estudio de la variación genética en especies con grados variables de manejo y amplia distribución. Este capítulo se enfoca en evaluar la variación de la diversidad y estructura genética en el CESH para específicamente responder las siguientes preguntas: ¿Cómo se distribuye en términos jerárquicos (inter e intraespecíficos) la diversidad genética? y ¿cuál es el papel del manejo y cultivo en la misma?. Adicionalmente, una vez identificados los factores que moldean la diversidad y estructura genética de este grupo de especies, el análisis se dirige a la identificación de evidencia filogeográfica que explique su distribución actual e historia evolutiva.

## Materiales y métodos

### Muestreo

La estrategia de muestreo se diseñó tomando en cuenta los límites geográficos del CESG definidos por Alvarado-Sizzo et al. (2018) (Capítulo I). De esta forma se recolectaron 377 muestras individuales en 39 poblaciones de cuatro especies (*Stenocereus griseus*, *S. huastecorum*, *S. laevigatus* y *S. pruinosus*). Adicionalmente, se consideraron poblaciones en tres categorías de manejo: silvestres, manejo silvícola y cultivadas (Anexo 1). Pequeñas tiras de costillas fueron cortadas usando navajas desechables y guardadas en gel de sílice durante su transporte al laboratorio, donde la deshidratación fue completada en un liofilizador Christ Alpha 2-4 LD. Posteriormente, las muestras fueron diseccionadas para separar el clorénquima, el cual fue transferido a microtubos de 2 mL y molido manualmente mediante un micropistilo. El ADN fue aislado mediante el protocolo basado en CTAB (Doyle and Doyle, 1987).

### Genotipificado de microsatélites y estimación de la diversidad genética

Para los 377 individuos colectados se utilizaron nueve loci microsatélites que previamente habían sido útiles mediante amplificación cruzada (Tabla 5). La amplificación del ADN mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR por las siglas en inglés de la técnica *Polymerase Chain Reaction*) se realizó en un termociclador Multigene (Labnet International, EUA) o en un Applied Biosystems 2700 (Applied Biosystems, USA), usando las condiciones y concentraciones sugeridas por el fabricante de la polimerasa Platinum Multiplex PCR Master Mix (Applied Biosystems, USA) para análisis de fragmentos mediante dos reacciones multiplex y una reacción sencilla (Tabla 5).

**Tabla 5:** Combinaciones de marcadores microsatélites utilizados para genotipificar.

Locus	Referencia	Rango alélico original (bp)	Rango alélico obtenido (bp)	Reacción
Sgum06	Lozano Garza, 2013	74-92	78-94	M1
Sgum29		80-100	86-106	
Sgum36		134-156	138-150	
Sgum39		106-108	94-108	
Pchi20	Otero-Arnaiz et al., 2005	230-256	249-277	M2
Pchi50		216-230	219-237	
Pchi54		158-182	156-192	
JCS49	Cruse-Sanders et al., 2013	192-230	190-232	Sencilla
JCS73		165-219	195-215	

La electroforesis capilar de fragmentos se realizó en un analizador genético 3130xl (Applied Biosystems, USA), mientras que el genotipificado se realizó usando el programa Peakscanner v1.0 (Applied Biosystems, USA). Los errores de genotipificado se identificaron y corrigieron en MICRO-CHECKER (Van Oosterhout et al., 2004), mientras que las pruebas de desequilibrio por ligamiento se ejecutaron en Genepop (Rousset, 2008).

Los genotipos corregidos se analizaron en Microsoft Excel usando el complemento GenAlEx (Peakall and Smouse, 2012) para calcular los estimadores de diversidad y diferenciación genética (usando el análogo  $R_{ST}$  de  $F_{ST}$  como índice de fijación), así como para realizar análisis de varianza molecular (AMOVA) considerando las categorías de manejo y los agrupamientos determinados en el capítulo I. La diversidad genética se representó en el espacio geográfico utilizando un Kriging bayesiano empírico (Krivoruchko, 2012) de la heterocigosidad esperada generado mediante ArcGIS 10.1 (ESRI, USA).

#### Secuenciación de regiones nucleares y análisis filogeográfico

Se seleccionó un subconjunto de 23 poblaciones repartidas entre las cuatro especies estudiadas (Anexo 1), el cual permite la comparación entre categorías de manejo (poblaciones manejadas, cultivadas y silvestres), así como poblaciones representativas desde el punto de vista de su distribución. La elección de los marcadores nucleares se basó en una prueba inicial de amplificación cruzada de diversos marcadores nucleares previamente empleados en especies del orden Caryophyllales, posteriormente, se eligieron aquellos marcadores que presentaron bandas únicas, finalmente, las regiones que al ser secuenciadas mostraron electroferogramas consistentes con loci de copia única son el antiportador vacuolar *nhx1* (Gaxiola et al., 1999) usando los oligonucleótidos nhx-ex2F y nhx-ex3R (Franck et al., 2012) y el locus anónimo *PaANL017* (Perez et al., 2015) usando los oligonucleótidos PaANL017 Fwd y PaANL017 Rev (Perez et al., 2016). Las reacciones de PCR fueron escaladas a un volumen final de 10  $\mu$ L utilizando el kit de polimerasa KAPA3G Plant DNA (Kapa Biosystems, EUA) y el protocolo estándar sugerido por el fabricante. Las condiciones para las PCRs fueron: 95 °C durante 5 minutos; 35 ciclos de 95 °C a 30 s, 62/60 °C (*nhx1* y *PaANL017*, respectivamente) por 1 minuto y 72 °C por 1 minuto; la extensión final fue de 72 °C por 10 minutos. La secuenciación se realizó en MacroGen Corp. (Maryland, USA) mediante un analizador genético 3730xl (Applied Biosystems, USA).

La región *nhx1* presentó múltiples bandas menores a 700 pb cuando se usaron las temperaturas de alineamiento originalmente reportadas por Franck y colaboradores (2012), por lo que se realizó un gradiente de temperatura de alineamiento (54 a 62 °C), determinando así la temperatura (62 °C) en la cual solo

fue visible una banda de >900 pb. Sin embargo, la mayoría de las muestras de *S. laevigatus* presentaron una banda secundaria menor a 700 pb, por lo que la banda de tamaño equivalente (>900 pb) fue recortada, colocada en un tubo de 1.5 mL, luego centrifugada a 14000 rpm durante 5 min para obtener un sobrenadante, del cual se usó 1 a 2  $\mu$ L para realizar PCR anidada con las condiciones originales. Los productos de PCR se revisaron en un gel de agarosa al 2% para verificar su equivalencia en talla, así como la presencia de bandas únicas. Debido a que el primer *forward* tuvo un pobre desempeño en las reacciones de secuencia, solo se consideraron en el alineamiento los primeros 555 pares de bases obtenidos mediante el primer *reverse*. Finalmente, las búsquedas de estas secuencias en Genbank (National Center for Biotechnology Information), aún bajo diversas estrategias de búsquedas, no arrojaron coincidencias significativas con otras secuencias depositadas, por lo que se tratará como una región anónima denominada *nhx1-like*.

La edición y alineamiento de secuencias se realizó mediante el programa BioEdit 7.0.4 (Hall, 1999); los sitios heterócigos se codificaron siguiendo las recomendaciones de la IUPAC a propósito de bases nitrogenadas no completamente especificadas (Cornish-Bowden, 1985). DnaSP 5.10.01 (Librado y Rozas, 2009) se empleó para reconstruir haplotipos mediante el algoritmo PHASE (Stephens et al., 2001) y para calcular los valores de diferenciación basados en alelos no ordenados ( $G_{ST}$ ) y ordenados ( $N_{ST}$ ). La significancia de  $N_{ST} > G_{ST}$  (Pons y Petit, 1996) se probó mediante PERMUT 2.0 (Petit, 2013) usando 10,000 permutaciones. Las redes de haplotipos se crearon mediante el algoritmo TCS usando el programa PopART 1.7 (Leigh y Bryant, 2015).

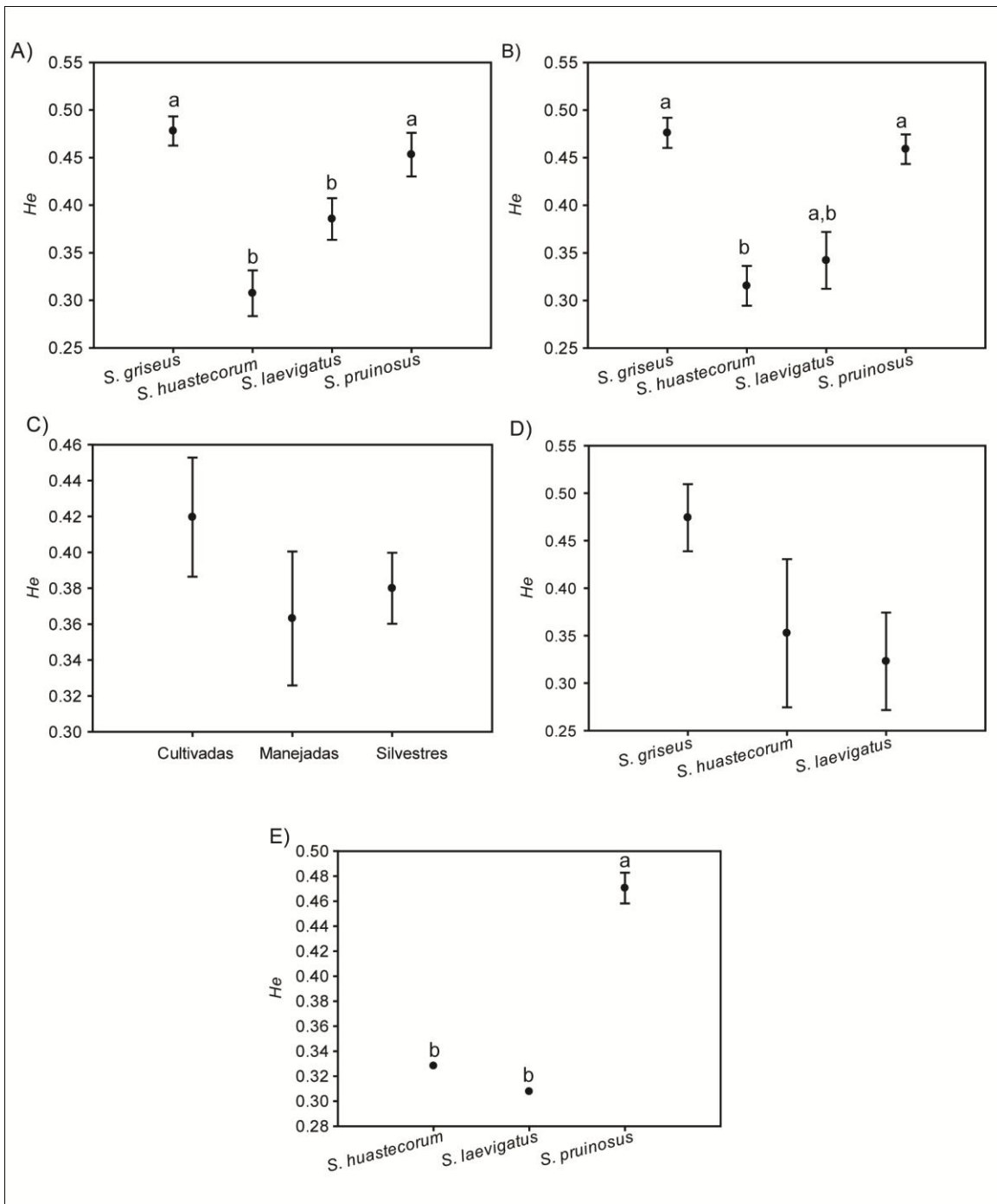
## Resultados

### Diversidad y diferenciación genética

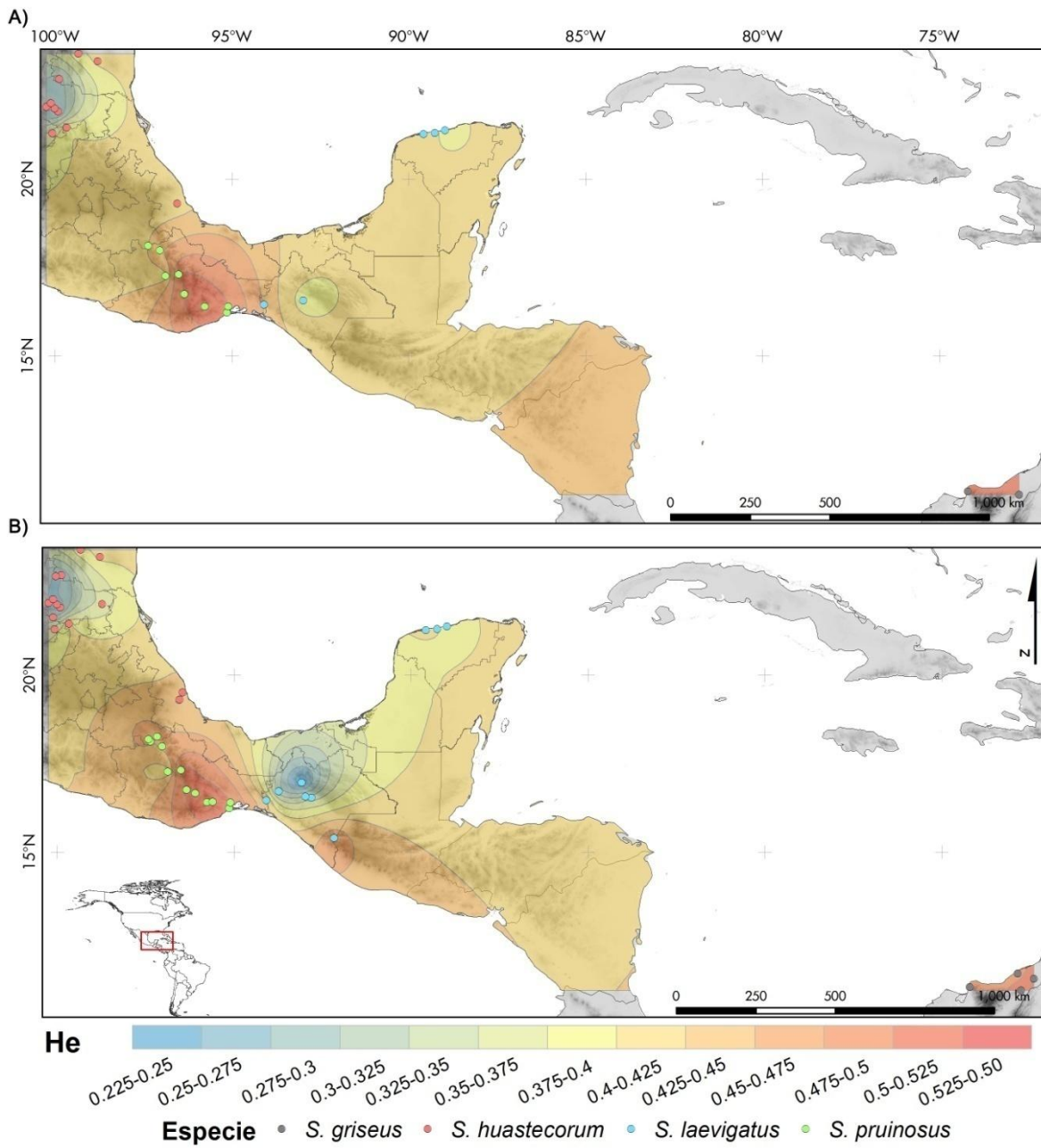
La heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) presentó valores entre 0.162,  $EE = 0.056$  y 0.510,  $EE = 0.054$ , mientras que su media general fue de 0.382,  $EE = 0.014$ . *Stenocereus griseus* fue caracterizado por la mayor diversidad específica ( $H_e = 0.476$ ,  $EE = 0.0158$ ), seguido de *S. pruinosus* ( $H_e = 0.459$ ,  $EE = 0.0156$ ) y *S. laevigatus* ( $H_e = 0.342$ ,  $EE = 0.030$ ), mientras que *S. huastecorum* mostró los valores más bajos ( $H_e = 0.315$ ,  $EE = 0.021$ ; Figura 2A) ( $t = 2.03011$ ,  $P < 0.05$ ) (Anexo 2). Al considerar exclusivamente poblaciones silvestres, el patrón anterior se conservó (ver significancia entre pares en Figura 2B), con *S. huastecorum* presentando los valores menores de  $H_e$  y *S. griseus* los mayores ( $t = 2.08596$ ,  $P < 0.05$ ). Las categorías de manejo, sin embargo, no presentaron diferencias significativas en  $H_e$  (Figura 2C y D), con la única excepción de *S. pruinosus*, especie en la que los valores mayores de diversidad se encuentran en las poblaciones bajo cultivo ( $t = 3.18245$ ,  $P < 0.05$ ) (Figura 2E). Sin embargo, al analizar los niveles de diversidad entre categorías dentro de cada especie no se registraron diferencias significativas (Anexo 3).

La distribución de la diversidad genética del CESG se muestra en la Figura 3. Los valores de heterocigosidad para *S. pruinosus* muestran un gradiente decreciente desde los Valles Centrales de Oaxaca hacia la periferia, mientras que en *S. huastecorum* y *S. laevigatus* el patrón es opuesto, es decir, la diversidad decrece hacia sus respectivos núcleos poblacionales. Adicionalmente, ambos patrones se intensifican al incluir las poblaciones cultivadas y manejadas. El caso de *S. griseus*, el cual está pobremente representado para la interpolación, no muestra una tendencia espacial adicional al aumento de diversidad hacia la porción continental donde el manejo a su vez es más intenso.

La diferenciación genética entre las especies representa el 14.19% de la varianza total, mientras que la mayor parte de la varianza (74.81%) es explicada por diferencias al interior de las poblaciones (entre individuos); la diferenciación total según el estadístico  $F_{ST}$ , estimado como  $R_{ST}$  es 0.252. Sin embargo, para cada especie los valores variaron entre 0.257 (*S. laevigatus*) y 0.009 (*S. griseus*). Las comparaciones entre categorías de manejo dentro de cada especie mostraron una varianza baja (7%) en *S. huastecorum*, muy baja en *S. pruinosus* (1%) y nula en *S. griseus* y *S. laevigatus* (Tabla 6).



**Figura 2:** Comparaciones de valores de diversidad genética medida como Heterocigosidad esperada ( $H_e$ ). A) Interespecifica, B) Solo poblaciones silvestres, C) Entre tipos de manejo, D) Solo poblaciones manejadas y E) Poblaciones cultivadas. Las comparaciones no conectadas por las mismas letras son significativamente diferentes para pruebas de  $t$  pareadas.



**Figura 3:** Interpolación kriging de la diversidad genética expresada como heterocigosidad esperada en especies del CESG. A) Solo poblaciones silvestres, B) Todas las poblaciones.

**Tabla 6:** Cuadro de Análisis de Varianza Molecular a nivel del CESH y específico, considerando categorías de manejo.

Nivel	g.l.	SC	Var. Est.	%	Rst	P
Entre especies	3	1285139.22	2154.54	14.19%	0.142	0.001
Entre poblaciones	35	1526933.02	1670.97	11.00%	0.128	0.001
Entre individuos	715	8122163.77	11359.67	74.81%	0.252	0.001
<b><i>S. griseus</i></b>						
Entre categorías*	1	29527.13	0.00	0.00%	-0.016	0.763
Entre poblaciones	2	100653.48	883.89	2.55%	0.025	0.168
Entre individuos	72	2432721.92	33787.80	97.45%	0.009	0.298
<b><i>S. huastecorum</i></b>						
Entre categorías*	2	122391.49	798.76	7.08%	0.071	0.003
Entre poblaciones	11	246387.03	648.54	5.75%	0.062	0.001
Entre individuos	258	2535453.01	9827.34	87.16%	0.128	0.001
<b><i>S. laevigatus</i></b>						
Entre categorías*	2	108866.57	0.00	0.00%	-0.070	1.000
Entre poblaciones	6	706612.36	5567.22	30.61%	0.306	0.001
Entre individuos	157	1981228.92	12619.29	69.39%	0.257	0.001
<b><i>S. pruinosus</i></b>						
Entre categorías*	1	26688.99	79.25	1.34%	0.013	0.062
Entre poblaciones	10	185848.96	672.10	11.40%	0.116	0.001
Entre individuos	228	1172759.92	5143.68	87.25%	0.127	0.001

g.l.=grados de libertad, SC=suma de cuadrados, Var. Est.= Varianza estimada, %= Varianza estimada en porcentaje, \*=Categorías de manejo.

### Filogeografía nuclear

Se obtuvo un alineamiento de 555 pb de la región *nhx1*-like, en el cual 49 sitios fueron segregantes y se configuraron en 46 haplotipos. La diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) fue de 0.01446 (DE = 0.00043). En cuanto a la diversidad haplotípica (*Hd*), ésta fue de 0.94 (DE = 0.006), la diferenciación haplotípica basada en alelos no ordenados ( $G_{ST}$ ) fue de 0.09, mientras que la de alelos ordenados ( $N_{ST}$ ) fue de 0.29; la diferencia entre ambos índices de fijación ( $N_{ST} > G_{ST}$ ) fue altamente significativa ( $P < 0.01$ ), así indicando la presencia de estructura filogenética.

En cuanto a la región *PaANL017* el alineamiento fue de apenas 292 pb a lo largo de los cuales se localizaron 34 sitios variables,  $\pi$  fue de 0.02296 (DE = 0.00043). La *Hd* obtenida fue de 0.92 (DE = 0.011),  $G_{ST}$  y  $N_{ST}$  fueron de 0.16 y 0.35, respectivamente, mientras que su diferencia ( $N_{ST} > G_{ST}$ ) fue significativa ( $P < 0.05$ ), también mostrando estructura filogeográfica (Tabla 7).



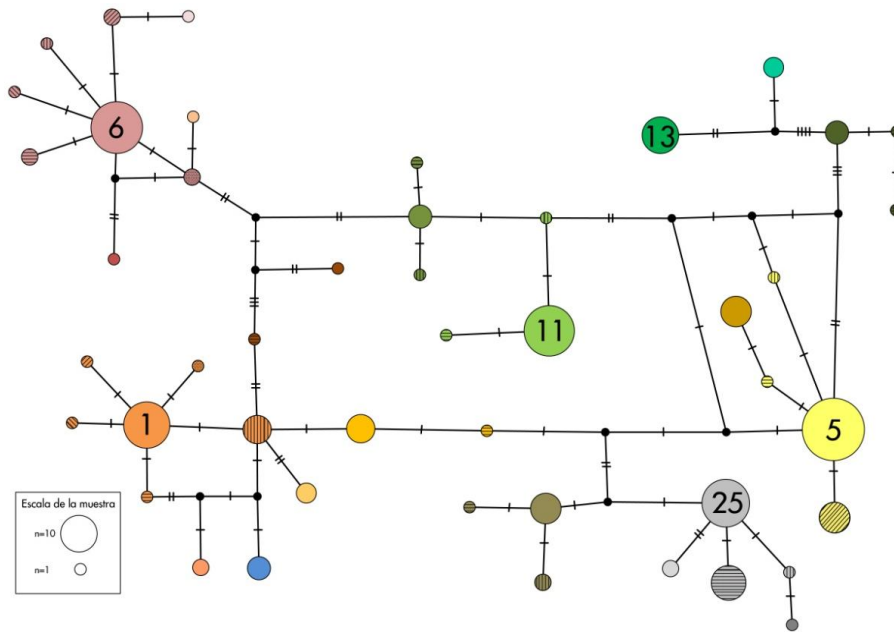
**Tabla 7:** Parámetros básicos de diversidad de las regiones nucleares.

<b>Especies</b>	<b>n</b>	<b>S</b>	<b>h</b>	<b>Hd (DE)</b>	<b><math>\pi</math> (DE)</b>
<b><i>PaANL017</i></b>					
<i>S. huastecorum</i>	86	16	13	0.682 (0.049)	0.02115 (0.00145)
<i>S. pruinosus</i>	62	24	21	0.912 (0.019)	0.02188 (0.00102)
<i>S. laevigatus</i>	52	18	13	0.765 (0.056)	0.01445 (0.00152)
<i>S. griseus</i>	8	4	4	0.893 (0.086)	0.00627 (0.00157)
Total CESG	208	34	44	0.916 (0.011)	0.02296 (0.00043)
<b><i>nhx1-like</i></b>					
<i>S. huastecorum</i>	46	16	9	0.82 (0.033)	0.01047 (0.00031)
<i>S. pruinosus</i>	102	38	31	0.918 (0.014)	0.01345 (0.014)
<i>S. laevigatus</i>	24	28	10	0.92 (0.024)	0.01493 (0.00154)
<i>S. griseus</i>	34	11	7	0.824 (0.032)	0.00501 (0.00092)
Total CESG	206	49	46	0.942 (0.006)	0.01446 (0.00043)
<b>n</b> =número de haplotipos reconstruidos; <b>S</b> =sitios segregantes; <b>h</b> =número de haplotipos observados; <b>Hd</b> =diversidad haplotípica; <b><math>\pi</math></b> = diversidad nucleotídica; (DE=Desviación estándar)					

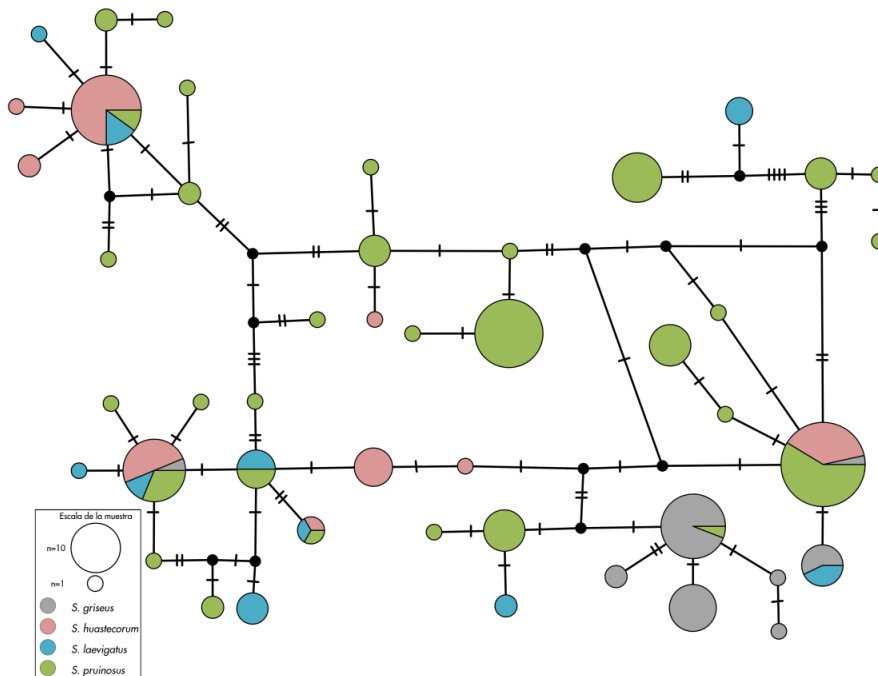
La red de haplotipos obtenida de la región *nhx1* mostró que los seis haplotipos más frecuentes (con 10 o más ocurrencias), es decir, 1, 5, 6, 11, 13 y 25 no están cercanamente relacionados, sino que forman haplogrupos con otros haplotipos cercanamente relacionados. Éstos se representan en la red de haplotipos con el mismo color, pero con diferente tramado (Figura 4), así mismo, una segunda red (Figura 5) representa la frecuencia de los haplotipos en cada especie del complejo. En este sentido, el haplotipo 1 es el núcleo del haplogrupo naranja que si bien se localizó en las cuatro especies, es más frecuente en *S. huastecorum*. Los haplotipos derivados se encuentran también dispersos en las especies mexicanas. El haplotipo 5, el cual es el núcleo del haplogrupo amarillo y el más frecuente en el complejo (n=29) fue compartido principalmente entre *S. huastecorum* y *S. pruinosus*. El haplotipo 6 (rosa) está presente en baja frecuencia en todas las especies mexicanas, pero constituye el haplotipo más común en *S. huastecorum*. Adicionalmente, estos últimos dos haplotipos (5 y 6), tienen la mayor distribución geográfica, desde el norte de México (*S. huastecorum*) hasta Colombia (*S. griseus*) (Figura 6). Los haplotipos 11 y 13 (haplogrupos verde claro y verde oscuro) son privados para *S. pruinosus*, mientras que el 25 y derivados (haplogrupo gris) se encuentran prácticamente fijos en *S. griseus*.

En cuanto a la red de *PaANL017* (Figura 7 y Figura 8), el haplotipo más común (rosa) es exclusivo de *S. huastecorum*, mientras que el tercero más abundante (naranja) así como su haplogrupo (naranja y tramados) son

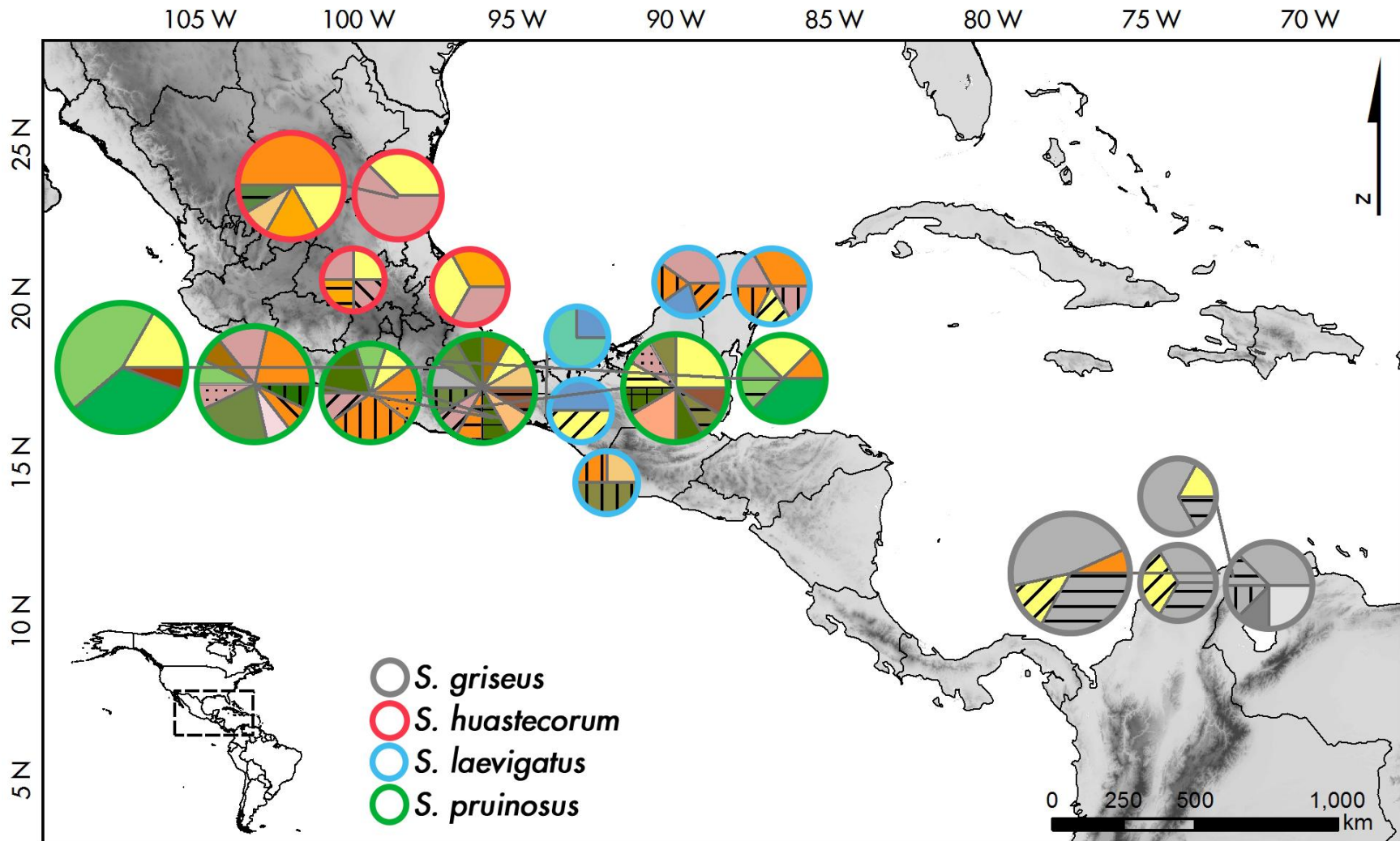
prácticamente privados para esta especie, a pesar de no estar directamente relacionados entre sí. Otros haplotipos abundantes son el número 20, el cual es privado de *S. pruinosus* y cuyo haplogrupo (azul) solo se comparte con una población (Umoa, Chiapas) de *S. laevigatus*. De forma similar, el haplotipo 27 (turquesa) es privado de *S. pruinosus*. El segundo haplotipo más común (34) se caracteriza por estar compartido entre *S. laevigatus* y una población (Mayapo, Colombia) de *S. griseus*; adicionalmente, haplotipos del haplogrupo gris son compartidos entre poblaciones de estas dos especies (Figura 8 y Figura 9). La red presenta una serie de bucles internos, principalmente en haplotipos de baja frecuencia de *S. pruinosus*. Finalmente, la distribución espacial de los haplotipos muestra una fuerte estructura filogeográfica (Figura 9), congruente con los valores indicados por los índices de fijación, de esta manera, es notoria la asociación de ciertos haplotipos y especies: en *S. huastecorum* predomina el haplogrupo naranja, en *S. pruinosus* predominan los haplogrupos verdes 11 y 13, mientras que en *S. griseus* solo existen algunos haplotipos del grupo gris.



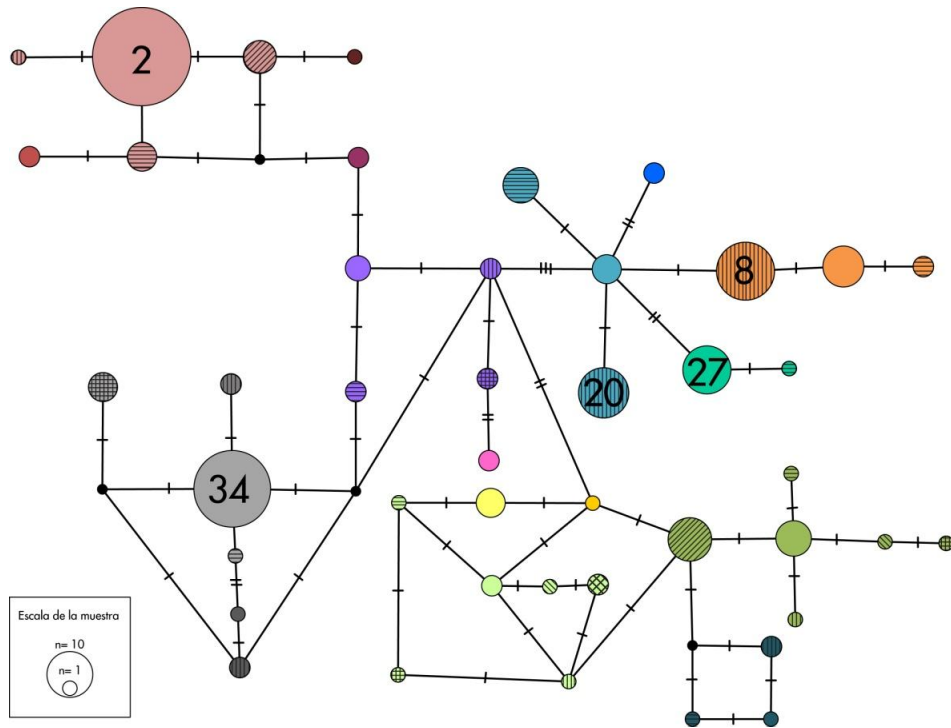
**Figura 4:** Red de haplotipos generada a partir de la región nuclear *nhx1*-like usando el algoritmo TCS. Los haplotipos más frecuentes (1, 5, 6, 11 y 13) definen a los principales haplogrupos mediante los colores naranja, amarillo, rosa, verde claro, verde oscuro y gris, respectivamente. Los tramados sobre el mismo color representan haplotipos del mismo haplogrupo a un paso mutacional del haplotipo más frecuente.



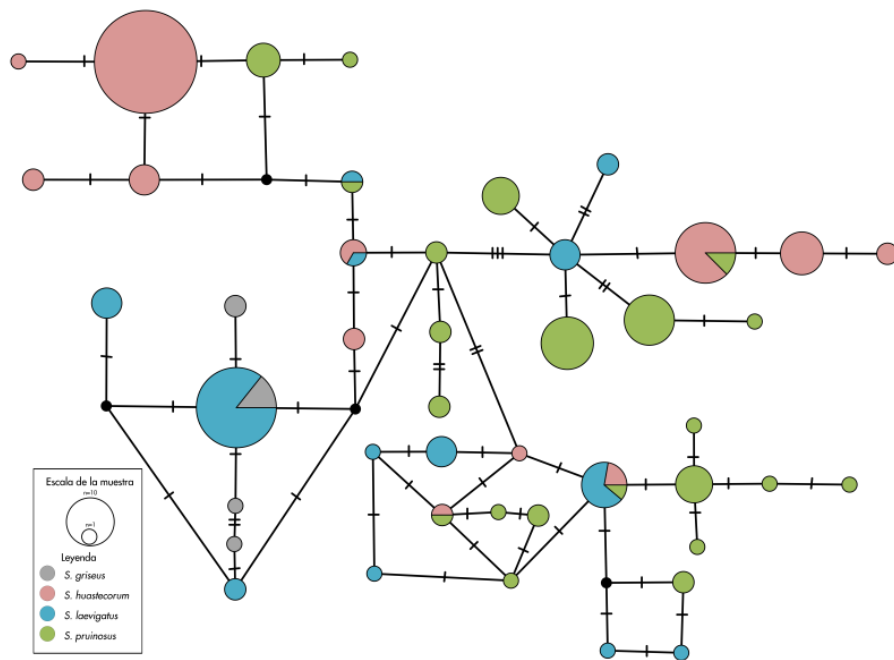
**Figura 5:** Red de haplotipos generada a partir de la región nuclear *nhx1*-like usando el algoritmo TCS. La topología es idéntica a la Figura 4, pero los haplotipos están coloreados por especie.



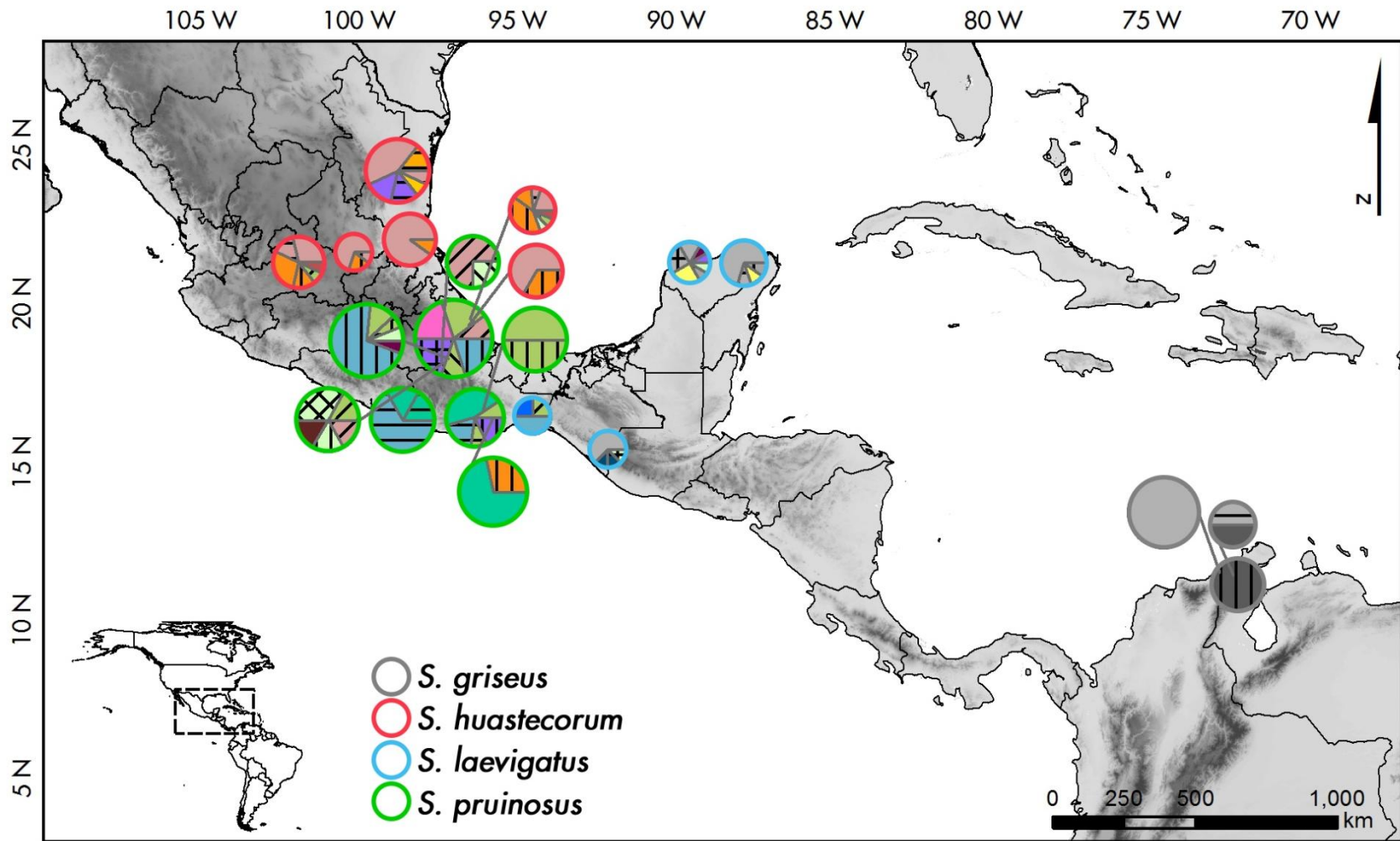
**Figura 6:** Distribución espacial de los haplotipos generados a partir de la región nuclear *nhx1*-like. Los contornos externos de los pasteles indican la especie.



**Figura 7:** Red de haplotipos generada a partir de la región nuclear *PaANL017* usando el algoritmo TCS. Los haplotipos más frecuentes (2, 8, 20, 27 y 34) definen a los principales haplogrupos mediante los colores rosa, naranja, azul, turquesa, y gris, respectivamente. Los tramados sobre el mismo color representan haplotipos del mismo haplogrupo a un paso mutacional del haplotipo más frecuente.



**Figura 8:** Red de haplotipos generada a partir de la región nuclear *PaANL017* usando el algoritmo TCS. La topología es idéntica a la figura 7, pero los haplotipos están coloreados por especie.



**Figura 9:** Distribución espacial de los haplotipos generados a partir de la región nuclear PaANL017. Los contornos externos de los pasteles indican la especie.

## Discusión

### Patrones generales de diversidad genética

Los valores de diversidad genética del CESH se encuentran dentro del intervalo previamente reportado para *Stenocereinae*, aunque con el límite superior por debajo de los valores mínimos de otros miembros de la subtribu como *Polaskia* (Otero-Arnaiz et al., 2005; Contreras-Negrete et al., 2015) y relativamente bajos con respecto a especies del género como *S. stellatus* (Cruse-Sanders et al., 2013), que tiene cierto grado de co-distribución con *S. pruinosus*, específicamente en algunas zonas de la cuenca del río Balsas y Valle de Tehuacán.

Al interior del CESH, *S. griseus* es la especie con valores mayores; no obstante, el único estimado de diversidad que previamente se había realizado para esta especie utilizó aloenzimas (que tienden a subestimar los valores de diversidad) en un muestreo a gran escala de los enclaves interandinos y la región seca pericaribeña de Venezuela (Nassar et al., 2003), por lo que no es comparable.

*Stenocereus huastecorum* y *S. laevigatus*, solo habían sido estudiados al considerarse parte de *S. pruinosus* (Parra et al., 2014), presentando un patrón similar al encontrado aquí (las poblaciones consideradas equivalentes a *S. huastecorum* y *S. laevigatus* presentan menor diversidad con respecto a las del centro, equivalente a *S. pruinosus*).

La diversidad genética de *S. pruinosus* ya había sido caracterizada con aloenzimas (Parra et al., 2008) y microsatélites (Parra et al., 2010, 2014) resultando en valores mayores ( $He=0.529-0.584$ ,  $0.538-0.758$  y  $0.524-0.833$ , respectivamente) a los aquí estimados ( $He$   $0.322-0.507$ ). Adicionalmente, las estimaciones basadas en microsatélites están basadas en solo cuatro de ellos (Parra et al., 2010, 2014), siendo la robustez de los análisis derivados dependiente del número de loci (Selkoe y Toonen, 2006). De forma independiente a la resolución de los marcadores, el patrón espacial previamente descrito (Parra et al., 2014) es idéntico al aquí encontrado, con los valores de diversidad incrementándose hacia el sur de Oaxaca (cotas rojas en la Figura 3) y valores menores en el área de Tehuacán.

### Diversidad genética y manejo

Debido a que los resultados sugieren que la diversidad genética del CESH responde a un patrón espacial, traducido como diferencias netas en los niveles de diversidad entre las especies (Figura 2A), resulta metodológicamente complicado



realizar una comparación global de la diversidad entre los niveles de manejo, pues puede no ser informativa (Figura 2C) o reflejar dicho sesgo espacial. Este fue el caso de *S. pruinosus*, cuyas poblaciones cultivadas muestran efectivamente una mayor diversidad genética (Figura 2E) con respecto a las otras especies al provenir de una especie con alta diversidad. La aproximación a esta estimación, por lo tanto, se debe realizar a nivel de especie, entre categorías de manejo. Sin embargo, este método no muestra diferencia alguna según el tipo de manejo, y un diseño experimental que considere las tres categorías de manejo para cada población no es realista, al implicar que existan todas las categorías de manejo en una zona geográfica determinada.

### Diferenciación genética

Los patrones en los niveles de diferenciación genética obtenidos son comparables con lo observado en la subtribu Stenocereinae (Tabla 4). El porcentaje de varianza explicado por diferencias entre poblaciones va del 2.55% en *S. griseus* al 30.61% en *S. laevigatus*, pero la varianza está explicada en mucho mayor grado por las diferencias entre individuos (69.39% en *S. laevigatus* a 97.45% en *S. griseus*). Los niveles de diferenciación se consideran altos para *S. laevigatus* ( $R_{ST}=0.257$ ), moderados para *S. huastecorum* y *S. pruinosus* ( $R_{ST}=0.128$  y  $0.127$ , respectivamente) y casi nulos para *S. griseus* ( $R_{ST}=0.009$ ).

La alta diferenciación genética en *S. laevigatus* puede ser el resultado de variación abrupta en la diversidad genética, aunada a una distribución disyunta. Las poblaciones más occidentales de la especie, distribuidas en Chiapas forman clinas de baja diversidad con respecto a las del norte de la península de Yucatán (azul en la Figura 3), lo cual es particularmente notorio al incluir poblaciones bajo manejo y cultivo. Adicionalmente, se habían detectado previamente subgrupos en las poblaciones más occidentales (Umoa y Cintalapa, ambas en Chiapas) (Alvarado-Sizzo et al., 2018).

En *S. pruinosus*, se han documentado valores altos de flujo génico, posiblemente derivados de una serie de fenómenos estabilizadores como la alta movilidad de los polinizadores y dispersores de semilla, así como intercambio regional de germoplasma llevado a cabo por la gente (Parra et al., 2008, 2010). Esta combinación de factores es equiparable a lo que ocurre en *S. stellatus* (Casas et al., 2006; Cruse-Sanders et al., 2013) y posiblemente sea un escenario común para las cactáceas columnares bajo manejo del centro-sur de México que incluye el Valle de Tehuacán, la Mixteca Alta y los Valles Centrales de Oaxaca (Casas et al., 1999, 2007).

*Stenocereus huastecorum*, presenta niveles similares de diferenciación con respecto *S. pruinosus* (Tabla 6). Sin embargo, su área de distribución es singular (Sierra Madre Oriental y Altiplano) con respecto a otras especies del género o de la subtribu, pues solo comparte hábitat con *Myrtillocactus geometrizans*, *Stenocereus dumortieri* y *S. queretaroensis*, de los cuales no hay estudios genéticos equiparables. Algunas especies del género *Agave* con distribución y sistemas de polinización similar (quiropterofilia) a *S. huastecorum* (Rocha et al., 2006) como *Agave garciae-mendozae* y *A. celsii*, presentan una diferenciación genética similar ( $F_{ST}$  =0.0976 y 0.13, respectivamente) (González, 2004; Rocha, 2006).

*Stenocereus griseus*, presentó una diferenciación nula (y no significativa); sin embargo, el área considerada en este estudio es relativamente pequeña, por lo que la estimación de la diferenciación genética puede estar sesgada por la escala de la muestra con respecto a la distribución completa. Adicionalmente, la conectividad genética a través de polinizadores (murciélagos) se considera alta (Horner et al., 1998) y existe autoincompatibilidad reproductiva (Nassar et al., 1997), lo cual produce una baja diferenciación interpoblacional (Nassar et al., 2003).

Aparentemente la diferenciación genética en el CESG está moldeada predominantemente por factores ecológicos y espaciales, puesto que la diferenciación explicada por manejo solo fue significativa, aunque baja, en *S. huastecorum*, la cual es presumiblemente la especie con menor intensidad de manejo. Es posible que el grado de manejo de *S. huastecorum* simplemente no esté suficientemente documentado, puesto que al menos en la región de la Sierra Gorda, entre los estados de Guanajuato y San Luis Potosí, se presenta promoción y propagación diferencial de ciertas variedades; mientras que en las poblaciones de Veracruz es común encontrarla formando cercos vivos (Alvarado-Sizzo, obs. pers.).

*Stenocereus pruinosus*, la especie que se considera más intensamente manejada mostró una diferenciación mínima y no significativa. Por otra parte, se reconoce que el manejo puede representar una fase primaria del proceso de domesticación en la cual las presiones selectivas no son modificadas sustancialmente (Zeder, 2015). No obstante, el caso de cactáceas columnares es particular, pues el manejo favorece el intercambio interregional y la colección de fenotipos (Parra et al., 2008, 2010; Cruse-Sanders et al., 2013), es decir, minimiza aún más la diferenciación genética, contrario a lo normalmente esperado en los procesos de domesticación (Gross and Olsen, 2010).

## Patrones filogeográficos

Ambos marcadores empleados en el análisis filogeográfico muestran estructura (patrón 1). Es notoria la presencia de otros dos patrones haplotípicos: la coexistencia de haplotipos no directamente relacionados (patrón 2) y los haplotipos comunes de amplia distribución (patrón 3). Aparentemente, los patrones 1 y 2 podrían evidenciar un cuello de botella genético en el cual ante un evento de aislamiento periférico poblacional (peripatría) (Mayr, 1942) se fijarían al azar algunos haplotipos (Mayr, 1982) (en este caso no relacionados, descritos arriba como el patrón 2) y éstos a su vez derivar en otros haplotipos a partir de pocos pasos mutacionales (patrón 1).

Este último escenario estaría ejemplificado por *S. huastecorum* y sus haplogrupos rosa y naranja según el marcador *PaANL017*. Adicionalmente, los datos de diversidad genética obtenidos mediante microsatélites complementarían dicha hipótesis, puesto que considerando la diversidad genética espacial analizada se manifiesta una disminución de la diversidad hacia las poblaciones más septentrionales de *S. huastecorum* con respecto a *S. pruinosus*.

El patrón 3, representado por haplotipos comunes que se encuentran en buena parte o en toda la distribución del complejo (como el haplogrupo amarillo del marcador *nhx1-like*), es aparentemente resultado de un fenómeno excepcional de repartición incompleta de linajes (*incomplete lineage sorting*) que deriva de los largos tiempos generacionales y grandes tamaños poblacionales efectivos típicos de cactáceas columnares (Copetti et al., 2017).

Adicionalmente, la distribución de los haplotipos aporta las primeras evidencias sobre la distribución histórica del complejo: si bien *S. griseus* se caracteriza por la presencia de haplotipos privados para la región *nhx1-like*, el marcador *PaANL017* muestra haplotipos comunes con *S. laevigatus* tanto en las poblaciones de la península de Yucatán como en la más oriental de Chiapas, en la frontera con Guatemala (Motozintla). La afinidad florística previamente descrita entre la península de Yucatán, Antillas y norte de Sudamérica ya había sido previamente caracterizada (Chiappy-Jhones et al., 2001). No obstante, la comprensión completa del escenario biogeográfico-histórico requiere el estudio de *S. heptagonus* (Antillas) y las poblaciones centroamericanas de *S. laevigatus*.

## Conclusiones

### Diversidad genética y evidencias de la historia evolutiva del CESG

El patrón espacial de diversidad genética del CESG muestra al sur de Oaxaca, representado por *S. pruinosus*, como centro de diversidad. A partir de esta región y hacia el norte de México, *S. huastecorum* manifiesta una disminución clinal de diversidad. *Stenocereus laevigatus*, no presenta cambio gradual, sino una variación abrupta con respecto a *S. pruinosus*, posiblemente asociada con el Istmo de Tehuantepec.

La aproximación filogeográfica muestra cohesión intraespecífica mediante la presencia de estructura y además plantea un escenario peripátrico para la formación del complejo, en el cual las poblaciones fundadoras de *S. huastecorum* y, de *S. laevigatus* conservarían, mediante deriva, haplotipos de haplogrupos no directamente relacionados. Este caso de cuello de botella genético se refuerza con el patrón de diversidad estimado mediante microsatélites. Adicionalmente, la estrecha relación entre *S. laevigatus* y *S. griseus*, sugiere una historia biogeográfica común y reciente.

### Estructura genética y manejo

Las comparaciones de diversidad genética entre especies y categorías de manejo indican que la diversidad genética se asocia a factores espaciales y no al tipo de manejo. En cuanto a la distribución de la diversidad genética, el patrón no es muy diferente al resto de Stenocereinae, presentándose la mayor diferenciación entre individuos que entre poblaciones, mientras que el manejo desempeña un papel menor. Los patrones de baja diferenciación, por lo tanto, podrían estar mediados por factores intrínsecos y ecológicos de los Stenocereinae como autoincompatibilidad reproductiva y alta movilidad de sus mutualistas (polinizadores y dispersores) que operan en un ámbito espacial amplio.

**Anexo 1:** Resumen de poblaciones muestreadas y marcadores empleados.

Especie/Población	Acrónimo	Longitud	Latitud	Categoría	N SSRs	N <i>nhx1</i> -like	N PaANL017
<b><i>S. griseus</i></b>							
Mayapo, Col.	MAYA	-72.845910	11.557550	Manejada	11	15	4
Maicao, Col.	MAIC	-72.388850	11.409710	Manejada	10	6	2
Hatogrande, Col.	HGDE	-72.754010	11.076790	Silvestre	10	8	2
Santa Marta, Col.	STAM	-74.201144	11.176512	Silvestre	7	6	
<b><i>S. huastecorum</i></b>							
Tula, Tamps.	TULT	-99.889445	22.825466	Silvestre	10		
Jaumave, Tamps.	JAUM	-99.340561	23.536225	Silvestre	10		
Los Altos, Tamps.	RCAL	-98.800226	23.330302	Silvestre	10	12	14
Presa de Guadalupe, SLP.	PGPE	-100.046790	22.787720	Silvestre	10		
Río Verde, SLP.	RIOVD	-99.924391	21.909253	Silvestre	11		
San Antonio, SLP.	SNAN	-100.254520	22.034590	Silvestre	11		
Ciudad Fernández, SLP.	DFER	-100.014334	21.993765	Silvestre	9		
San Isidro, SLP.	SANI	-100.117397	22.145351	Silvestre	7		
El Huiche, SLP.	HUIC	-98.734672	22.002577	Cultivada	10	8	20
Mozomboa, Ver.	MBA	-96.466760	19.505690	Manejada	10	6	14

Puente Nacional, Ver.	VER	-96.547293	19.305098	Silvestre	9	8	12
Xichú, Gto.	XU	-100.076888	21.287340	Silvestre	9	8	14
Álamos de Martínez, Gto.	ALAM	-100.124150	21.631360	Manejada	9	4	10
Concá, Qro.	CON	-99.671214	21.450897	Silvestre	11		
<b><i>S. laevigatus</i></b>							
Chicoasén, Chis.	ChSN	-93.096510	16.960220	Manejada	9		4
Umoa, Chis.	UMOA	-94.096313	16.45489	Silvestre	9	4	8
Cintalapa, Chis.	CINT	-93.743970	16.706680	Manejada	11		10
El Chilar, Chis.	CHIL	-92.815246	16.531867	Cultivada	8		
Narciso Mendoza, Chis.	SNAR	-92.985415	16.565757	Manejada	10	4	
Motozintla, Chis.	MOTO	-92.175880	15.389140	Manejada	11	4	8
Dzemul, Yuc.	DZEM	-88.982520	21.377200	Silvestre	7		
Telchac, Yuc.	TELC	-89.264660	21.299260	Silvestre	8	6	10
Chicxulub, Yuc.	CHCX	-89.587400	21.268160	Manejada	10	5	12
<b><i>S. pruinosus</i></b>							
Coatepec, Pue.	COAT	-97.375244	18.117884	Silvestre	11	12	6
Atolotitlán, Pue.	ATOL	-97.425707	18.186198	Cultivada	7	8	4
Coxcatlán, Pue.	COXC	-97.181831	18.257469	Cultivada	11	16	18

Tecomavaca, Oax.	TECO	-97.036170	17.980666	Silvestre	10	18	10
Huitzo, Oax.	HUIT	-96.875509	17.262089	Silvestre	10		
Totolapan, Oax.	TOTL	-96.343551	16.753005	Silvestre	10	12	6
Tehuantepec, Oax.	TEHN	-95.774192	16.397006	Silvestre	11	14	7
San Mateo del Mar, Oax.	SMAM	-95.140009	16.228543	Silvestre	10		
Juchitán, Oax.	JUCH	-95.109331	16.395843	Silvestre	10		
Guelatao, Oax.	GUE	-96.510050	17.306331	Silvestre	10		
Tequisistlán, Oax.	TEQU	-95.61028	16.407844	Cultivada	10	10	11
San José de Gracia, Oax.	CSJG	-96.096880	16.657952	Cultivada	10	12	2

**N SSRs**=número de genotipos (microsatélites), **N nhx1-like**= número de haplotipos de *nhx1*-like, **N PaANL017**= número de haplotipos de *PaANL017*.



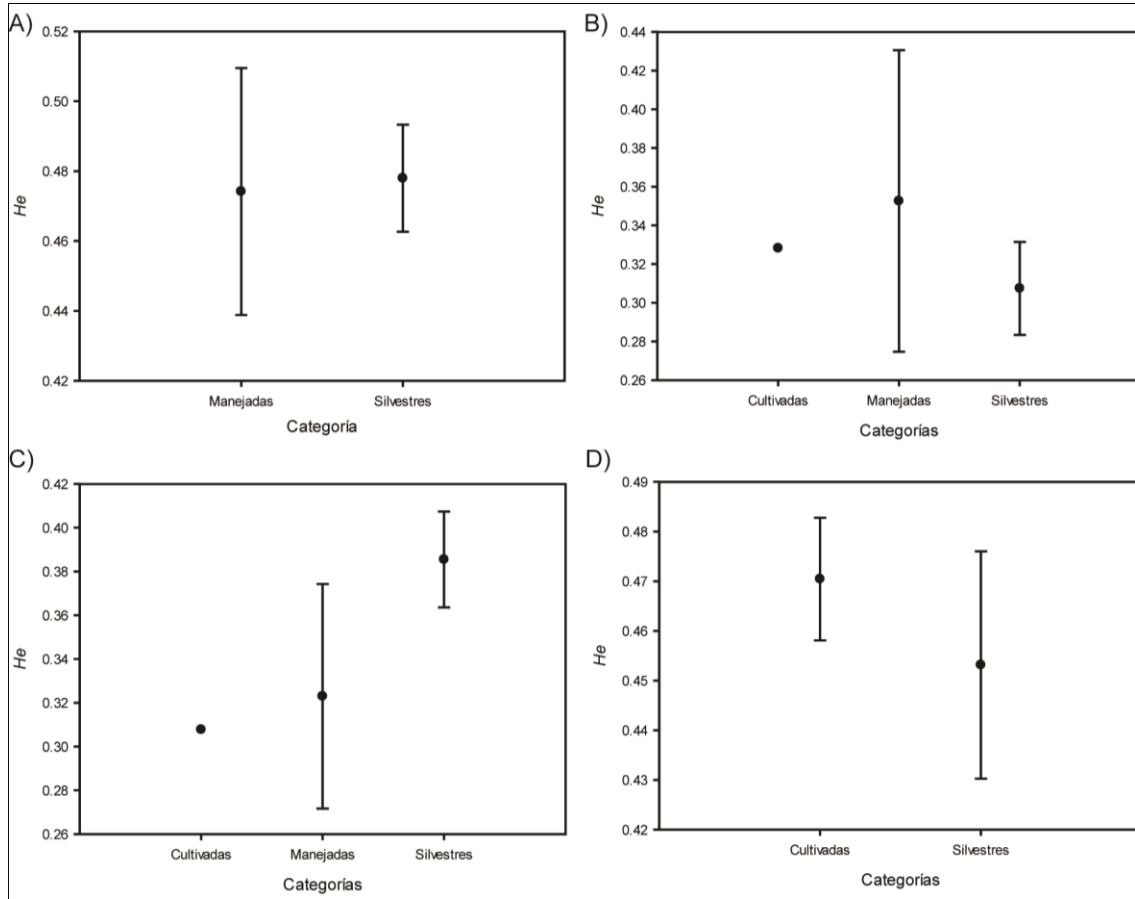
**Anexo 2:** Heterocigosidad esperada por población calculada mediante nueve loci microsatélite.

Población	Acrónimo	Longitud	Latitud	Categoría	He SSRs	He EE
<b><i>S. griseus</i></b>						
Mayapo, Col.	MAYA	-72.845910	11.557550	Manejada	0.439	0.059
Maicao, Col.	MAIC	-72.388850	11.409710	Manejada	0.510	0.064
Hatogrande, Col.	HGDE	-72.754010	11.076790	Silvestre	0.493	0.076
Santa Marta, Col.	STAM	-74.201144	11.176512	Silvestre	0.463	0.057
<b><i>S. huastecorum</i></b>						
Tula, Tamps.	TULT	-99.889445	22.825466	Silvestre	0.249	0.096
Jaumave, Tamps.	JAUM	-99.340561	23.536225	Silvestre	0.390	0.103
Los Altos, Tamps.	RCAL	-98.800226	23.330302	Silvestre	0.398	0.081
Presa de Guadalupe, SLP.	PGPE	100.046790	22.787720	Silvestre	0.243	0.103
Río Verde, SLP.	RIOVD	-99.924391	21.909253	Silvestre	0.208	0.080
San Antonio, SLP.	SNAN	100.254520	22.034590	Silvestre	0.228	0.102
Ciudad Fernández, SLP.	DFER	100.014334	21.993765	Silvestre	0.257	0.074
San Isidro, SLP.	SANI	100.117397	22.145351	Silvestre	0.261	0.079
El Huiche, SLP.	HUIC	-98.734672	22.002577	Cultivada	0.328	0.108
Mozomboa, Ver.	MBA	-96.466760	19.505690	Manejada	0.431	0.100
Puente Nacional, Ver.	VER	-96.547293	19.305098	Silvestre	0.381	0.075
Xichú, Gto.	XU	100.076888	21.287340	Silvestre	0.343	0.101
Álamos de Martínez, Gto.	ALAM	100.124150	21.631360	Manejada	0.275	0.084
Concá, Qro.	CON	-99.671214	21.450897	Silvestre	0.423	0.090
<b><i>S. laevigatus</i></b>						
Chicoasén, Chis.	ChSN	-93.096510	16.960220	Manejada	0.162	0.056
Umoa, Chis.	UMOA	-94.096313	16.45489	Silvestre	0.422	0.081
Cintalapa, Chis.	CINT	-93.743970	16.706680	Manejada	0.263	0.068
El Chilar, Chis.	CHIL	-92.815246	16.531867	Cultivada	0.308	0.056
Narciso Mendoza, Chis.	SNAR	-92.985415	16.565757	Manejada	0.346	0.049
Motozintla, Chis.	MOTO	-92.175880	15.389140	Manejada	0.462	0.080
Dzemul, Yuc.	DZEM	-88.982520	21.377200	Silvestre	0.346	0.075
Telchac, Yuc.	TELC	-89.264660	21.299260	Silvestre	0.388	0.097
Chicxulub, Yuc.	CHCX	-89.587400	21.268160	Manejada	0.382	0.082
<b><i>S. pruinosus</i></b>						
Coatepec, Pue.	COAT	-97.375244	18.117884	Silvestre	0.397	0.088
Atlotitlán, Pue.	ATOL	-97.425707	18.186198	Cultivada	0.469	0.087
Coxcatlán, Pue.	COXC	-97.181831	18.257469	Cultivada	0.437	0.072
Tecomavaca, Oax.	TECO	-97.036170	17.980666	Silvestre	0.438	0.100

Huitzo, Oax.	HUIT	-96.875509	17.262089	Silvestre	0.322	0.082
Totolapan, Oax.	TOTL	-96.343551	16.753005	Silvestre	0.486	0.114
Tehuantepec, Oax.	TEHN	-95.774192	16.397006	Silvestre	0.507	0.109
San Mateo del Mar, Oax.	SMAM	-95.140009	16.228543	Silvestre	0.492	0.093
Juchitán, Oax.	JUCH	-95.109331	16.395843	Silvestre	0.476	0.105
Guelatao, Oax.	GUE	-96.510050	17.306331	Silvestre	0.507	0.089
Tequisistlán, Oax.	TEQU	-95.61028	16.407844	Cultivada	0.496	0.101
San José de Gracia, Oax.	CSJG	-96.096880	16.657952	Cultivada	0.479	0.102

**He SSRs**= Heterocigosidad esperada, **He EE**= Error Estándar de la Heterocigosidad esperada.

**Anexo 3:** Comparaciones de heterocigosidad entre categorías de manejo al interior de las especies del CESG. A) *S. griseus*, B) *S. huastecorum*, C) *S. laevigatus* y D) *S. pruinosus*. No se reportan diferencias significativas.



## Discusión general

### Incertidumbre taxonómica y delimitación de especies

Los trabajos previos sobre taxonomía del género *Stenocereus* (Bravo-Hollis, 1978; Gibson, 1991; Arreola-Nava, 2006) urgían la realización de un tratamiento taxonómico del CESG, pues la evidencia morfológica y molecular no resultaban suficientes para distinguir las especies, mientras que una docena de sinonimias prevalecían en la literatura (algunas desde el siglo XIX) sin tipos nomenclaturales asociados, o bien, estos perdidos o ilocalizables (Britton y Rose, 1920), lo que ocasionó el uso generalizado e incorrecto de nombres. Lo cual, a su vez, trascendió a las colecciones biológicas y por lo tanto a las bases de datos públicas de biodiversidad. El estudio de las poblaciones bajo manejo tampoco fue inmune a la incertidumbre taxonómica, pues al basarse en los registros mencionados y escasos caracteres diagnósticos se consideró a *S. pruinosus* como una especie de amplia distribución, dificultando por una parte la interpretación de los valores de diversidad genética (Parra et al., 2014) y por otra, aportando las primeras evidencias respecto a la presencia de una sola especie nueva en el norte de México.

La delimitación de especies biológicas se ha basado principalmente en métodos filogenéticos derivados tanto de evidencias morfológicas como moleculares (Sites y Marshall, 2003), aunque progresivamente ha incorporado otro tipo de técnicas, como el modelado de nicho ecológico (Rissler y Apodaca, 2007) y agrupamientos bayesianos (Camargo y Sites, 2013). Si bien dichos métodos se han visto favorecidos por el aumento en la disponibilidad de marcadores moleculares y del poder de cómputo (Leavitt et al., 2015), el hito verdadero lo supone la re-conceptualización de las especies biológicas como linajes en proceso de evolución (De Queiroz, 2007) así como el uso de taxonomía integrativa frente a una mayor cantidad de fuentes de evidencia (Schlick-Steiner et al., 2010).

La delimitación de especies en la familia Cactaceae no ha estado exenta de la práctica general, basada en sistemática filogenética (DeSalle et al., 2005), con resultados frecuentemente poco concluyentes, específicamente en especies muy cercanas como en los casos de *Gymnocalycium* (Demaio et al., 2011), especies de la subfamilia Opuntioideae (Griffith y Porter, 2009), *Rhipsalis* (Calvente et al., 2011) y algunas especies del género *Stenocereus* (Arreola-Nava, 2006), por citar algunos. Los estudios basados en métodos genéticos de agrupamiento ofrecen un punto de partida ventajoso pues no requieren asignación taxonómica previa de las unidades taxonómicas operacionales (Ence y Carstens, 2011; Carstens et al., 2013), lo cual resultó ser particularmente útil en el contexto de incertidumbre taxonómica del CESG y se ha usado en otras cactáceas como *Pilosocereus*

*aurisetus* (Perez et al., 2015). Por último la publicación de los genomas de varias cactáceas columnares (Sanderson et al., 2015; Copetti et al., 2017) promete una gran disponibilidad de marcadores.

A pesar de que los avances recientes en tecnologías de la información tienen el potencial para aumentar el conocimiento sobre la biodiversidad mediante la libre disponibilidad de bases de datos sobre registros, genes e incluso genomas completos; existe un desequilibrio con respecto a la taxonomía, específicamente, con la taxonomía alfa (que se encarga del descubrimiento, descripción y clasificación de las especies) (Khuroo et al., 2007; De Carvalho et al., 2008). Un ejemplo de esto, es que de una muestra de publicaciones relativas a delimitación de especies tanto con métodos moleculares como con otras evidencias, apenas el 25% culmina en la descripción formal de especies (Carstens et al., 2013). El decaimiento de la práctica taxonómica, es particularmente grave en México, donde se observa un franco declive en cuanto al número de especialistas (Villaseñor, 2015). Por lo tanto, es imperativa la participación de otras disciplinas además de lasistemática en la taxonomía alfa bajo el enfoque integrativo (Dayrat, 2005).

#### Diversidad y diferenciación genética

Es conocido que la estimación de la variación genética puede verse afectada al existir incertidumbre taxonómica (Frankham, 2010), por otra parte, la información relativa a la diversidad genética de las cactáceas, específicamente de la subtribu *Stenocereinae* sensu Gibson y Horak (1978) indica que existe un patrón espacial en la diversidad genética de estas especies, con la máxima diversidad al sur de México y un gradiente decreciente hacia el norte, con mínimos en la península de Baja California. Evidentemente, este patrón está relacionado con la riqueza de la forma de crecimiento columnar arborescente que es particularmente abundante en el centro de diversidad de cactáceas Oaxaca-Puebla (Mutke et al., 2015).

La relación entre diversidad genética y de especies (Vellend y Geber, 2005) no se ha estudiado formalmente en la familia *Cactaceae* y constituye un campo fértil para el estudio de su distribución histórica y evolución, por ejemplo, además de las especies columnares arborescentes de Norteamérica (*Pachycereae*), el centro de diversidad de la Caatinga (Mutke et al., 2015) también está relacionado con una alta incidencia de quiropterofilia (Schlumpberger, 2012), lo que supone un escenario adecuado para el estudio de procesos paralelos entre diferentes niveles de diversidad (Vellend y Geber, 2005). Adicionalmente, otras radiaciones adaptativas como la de la tribu *Cactaeae*, (Vázquez-Sánchez et al., 2013) y el género *Echinocereus*, que aparentemente están ligadas a otras transiciones de relaciones mutualistas (Hernández-Hernández et al., 2014), podrían ser exploradas en este mismo sentido. Este tipo de estudios en su conjunto,

permitirían entender procesos macroevolutivos a nivel de toda la familia Cactaceae (como el papel de las transiciones ecológicas en la diversificación de linajes). El patrón de diferenciación del CESG es congruente con lo observado previamente en especies relacionadas, con una mayor preponderancia de la variación interespecífica sobre todos los demás niveles, aparentemente derivado del sistema de polinización (Hamrick et al., 2002) y autoincompatibilidad reproductiva (Ganders, 1976; Boyle, 1997) que si bien es plausible, puede no ser el único, pues otro tipo de mutualismos que implican alta vagilidad, específicamente dispersores de semilla, han sido escasamente estudiados (Godínez-Alvarez et al., 2002; Ruiz et al., 2002; Naranjo et al., 2003) desde el punto del flujo génico, el cual permitiría cuantificar en términos demográficos el efecto de los mutualistas así como probar hipótesis alternas a la repartición incompleta de linajes que limita la utilidad del cloroplasto en estudios filogeográficos de cactáceas (Bonatelli et al., 2013).

Adicionalmente, si bien se conocen los sistemas reproductivos de varias especies de *Stenocereus* (Mandujano et al., 2010), en otras cactáceas columnares como *Pachycereus pringlei* éstos pueden variar a lo largo de la distribución y modificar la dinámica del flujo génico (Gutiérrez-Flores et al., 2016), por lo que pueden ser consideradas como hipótesis complementarias para explicar la estructura genética singular de las cactáceas columnares.

#### Evidencia filogeográfica y perspectivas con métodos de demografía histórica

La filogeografía nuclear en cactáceas apenas se ha utilizado en un par de sistemas, es decir, en el caso del complejo de *Pilosocereus aurisetus* (Bonatelli et al., 2014) y *Rhipsalis baccifera* (Ornelas y Rodríguez-Gómez, 2015). En ambos ejemplos, como en el presente trabajo los marcadores nucleares presentan algunas ventajas para identificar patrones filogeográficos. En este caso, indica evidencias de que la especiación peripátrica puede estar relacionada en la formación de dos especies del complejo: *Stenocereus huastecorum*, que contiene altas frecuencias de dos haplogrupos no directamente relacionados y *S. griseus*, que presenta haplotipos comunes con *S. laevigatus*, sugiriendo a las Antillas Mayores como parte del escenario histórico que implicó la existencia de *S. heptagonus* en esta región. Esta especie por lo tanto, es la pieza faltante que puede explicar la distribución actual del CESG, por lo que es necesario incorporarla a un análisis filogeográfico mayor.

Si bien uno de los objetivos de la filogeografía nuclear es mostrar evidencia independiente de la distribución de los linajes en el espacio (Hare, 2001), en el caso de las cactáceas la elección de los marcadores debe ser cuidadosa y forzosamente dirigida por un análisis filogenómico inicial, pues la repartición

incompleta de linajes es particularmente problemática en el grupo (Copetti et al., 2017) y posiblemente la fuente de cierto grado de discordancia entre los dos marcadores nucleares usados en este trabajo.

De forma complementaria a la filogeografía y a la genética de poblaciones, es necesario considerar nuevos métodos que reconstruyan la historia demográfica de las poblaciones, ejemplos de éstos son el uso de *skyline plots* (Drummond et al., 2005) para entender el efecto histórico de la geomorfología del Valle de Tehuacán en la distribución actual de *Mammillaria pectinifera* (Cornejo-Romero et al., 2014) o de la computación bayesiana aproximada (ABC del inglés *Bayesian Approximated Computation*) para explicar la relación de los cambios climáticos del Pleistoceno sobre la estructura genética de la cactácea columnar *Cephalocereus columna-trajani* (Cornejo-Romero et al., 2017).

El efecto del manejo sobre la diversidad y diferenciación genética

Las diferentes categorías de manejo no mostraron diferencias esperadas en un proceso clásico de domesticación, donde ocurren cuellos de botella génicos y disminuciones abruptas en la diversidad genética (Gross y Olsen, 2010), ello debido a la preponderancia de fuerzas evolutivas contrapuestas a la selección como el flujo génico y la deriva, los cuales son mediados aparentemente por el sistema reproductivo y los mutalistas.

La diferenciación genética atribuible a manejo siempre fue el factor con menor peso, y *S. huastecorum* representa la especie con mayor efecto. Una posible explicación puede estar en que, al tratarse de una especie de baja diversidad, la promoción o intercambio de germoplasma pueden tener un efecto abrupto en la diferenciación con respecto a las poblaciones silvestres. Sin embargo, *S. huastecorum* es una especie a la que frecuentemente se le ha referido con nombres incorrectos, por lo que el estudio del efecto del manejo sobre su diversidad genética apenas se puede considerar una aproximación inicial.



## Conclusiones finales

- El complejo de especies de *Stenocereus griseus* se compone de 5 especies cuyos nombres correctos son: *Stenocereus huastecorum* (norte de México), *S. pruinosus* (Oaxaca y Puebla), *S. laevigatus* (Chiapas, Yucatán y parte de Centroamérica), *S. heptagonus* (Antillas Mayores) y *S. griseus* (Colombia y Venezuela).
- La diversidad genética del CESG responde a un patrón espacial común a otras especies de cactáceas columnares, en el cual los valores máximos se observan en los subsistemas de la Sierra Madre del Sur (*S. pruinosus*) y los mínimos en el noreste de México (*S. huastecorum*). La evidencia filogeográfica complementa dicho patrón con la presencia de haplogrupos no cercanamente relacionados en frecuencias altas, sugiriendo que *S. huastecorum* se formó a partir de una población fundadora mediante un proceso de especiación peripátrica.
- La diferenciación genética también mantiene el patrón observado en otras cactáceas columnares, en el cual la diferenciación ocurre mayormente entre individuos que entre poblaciones, posiblemente derivado de un sistema reproductivo autoincompatible y polinización por exocruza de amplio rango.
- El estudio de especies bajo manejo debe partir de marcos taxonómicos sólidos que no dejen duda sobre la identidad de los sistemas de estudio. Además, este tipo de estudios debe incluir el total de la distribución de las especies así como una buena representatividad de sus categorías de manejo, de forma que se represente la totalidad de la variación genética, ello con la finalidad de descartar factores espaciales, ecológicos e históricos que pueden interpretarse erróneamente como efectos antrópicos.



**Figura 10:** Detalle de "Melanie Arlequin". Autor: Víctor Cauduro. Técnica: óleo sobre travertino.

## Literatura citada

- ADHIKARI, S., S. SAHA, A. BISWAS, T.S. RANA, T.K. BANDYOPADHYAY, y P. GHOSH. 2017. Application of molecular markers in plant genome analysis: a review. *The Nucleus* 60: 283–297.
- ALVARADO-SIZZO, H., A. CASAS, F. PARRA, H.J. ARREOLA-NAVA, T. TERRAZAS, y C. SÁNCHEZ. 2018. Species delimitation in the *Stenocereus griseus* (Cactaceae) species complex reveals a new species, *S. huastecorum*. *PLoS ONE* 13: 1–25.
- ARAKAKI, M., P.-A. CHRISTIN, R. NYFFELER, A. LENDEL, U. EGGLI, R.M. OGBURN, E. SPRIGGS, ET AL. 2011. Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plant lineages. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108: 8379–8384.
- ARREOLA-NAVA, H.J. 2006. Revision taxonómica del género *Stenocereus* (Berger) Riccob. Tesis doctoral: *Sistemática filogenética del género Stenocereus (Cactaceae)* (pp. 71–155). Colegio de Posgraduados, Montecillo, Texcoco, Estado de México.
- AVISE, J.C., J. ARNOLD, R.M. BALL, E. BERMINGHAM, T. LAMB, J.E. NEIGEL, C.A. REEB, y N.C. SAUNDERS. 1987. Intraspecific Phylogeography: The Mitochondrial DNA Bridge Between Population Genetics and Systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 489–522.
- AVISE, J.C. 2000. *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard, Cambridge, Massachusetts and London: Harvard University Press.
- BARTHLOTT, W., y D. HUNT. 2000. Seed diversity in the Cactaceae subfamily Cactoideae. *Succulent Plants Research* 5: 1–173.
- BENNETT, B.C., y M.J. BALICK. 2014. Does the name really matter? The importance of botanical nomenclature and plant taxonomy in biomedical research. *Journal of Ethnopharmacology* 152: 387–392.
- BICKFORD, D., D.J. LOHMAN, N.S. SODHI, P.K.L. NG, R. MEIER, K. WINKER, K.K. INGRAM, y I. DAS. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 22: 148–155.
- BONATELLI, I. A S., D.C. ZAPPI, N.P. TAYLOR, y E.M. MORAES. 2013. Usefulness of cpDNA markers for phylogenetic and phylogeographic analyses of closely related cactus species. *Genetics and Molecular Research* 12: 4579–4585.
- BONATELLI, I.A.S., M.F. PEREZ, A.T. PETERSON, N.P. TAYLOR, D.C. ZAPPI, M.C. MACHADO, I. KOCH, ET AL. 2014. Interglacial microrefugia and diversification of a cactus species complex: Phylogeography and palaeodistributional reconstructions for *Pilosocereus aurisetus* and allies. *Molecular Ecology* 23: 3044–3063.
- BOYLE, T.H. 1997. The genetics of self-incompatibility in the genus *Schlumbergera*

- (Cactaceae). *Journal of Heredity* 88: 209–214.
- BRAVO-HOLLIS, H. 1978. Subfamilia III Cereoideae: Tribus Hylocereae y Pachycereae. En R. Martín del Campo (Ed.), *Las Cactáceas de México*, Vol. I, (pp. 352–711). Ciudad de México, México: Universidad Nacional Autónoma de México,
- APG II THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. 2003. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141: 399–436.
- BRITTON, N.L., y J.N. ROSE. 1920. *The Cactaceae* Volume II. Washington, EUA: Press of Gibson Brothers.
- BUSTAMANTE, E., A. BÚRQUEZ, E. SCHEINVAR, y L.E. EGUIARTE. 2016. Population genetic structure of a widespread bat-pollinated columnar cactus. *PloS one* 11: e0152329.
- CALVENTE, A., D.C. ZAPPI, F. FOREST, y L.G. LOHMANN. 2011. Molecular Phylogeny, Evolution, and Biogeography of South American Epiphytic Cacti. *International Journal of Plant Sciences* 172: 902–914.
- CAMARGO, A., y J.J. SITES. 2013. Species delimitation: A decade after the renaissance. En I. Y. Pavlinov (Ed.), *The Species Problem - Ongoing Issues* (pp. 225–247). Rijeka, Croatia: InTech.
- MANDUJANO, M. DEL C., I. CARRILLO-ANGELES, C. MARTÍNEZ-PERALTA, y J. GOLUBOV. 2010. Reproductive biology of Cactaceae. En K.G. Ramawat (Ed.) *Desert plants* (pp. 197–230). Berlin y Heidelberg, Alemania: Springer.
- CARSTENS, B.C., T.A. PELLETIER, N.M. REID, y J.D. SATLER. 2013. How to fail at species delimitation. *Molecular Ecology* 22: 4369–4383.
- DE CARVALHO, M.R., F.A. BOCKMANN, D.S. AMORIM, y C.R.F. BRANDAO. 2008. Systematics must embrace comparative biology and evolution, not speed and automation. *Evolutionary Biology* 35: 150–157.
- CASAS, A., N. ALITGIOMA, J. CABALLERO, A. POSTA, y A.V. BANUET. 1999. Use, management and domestication of columnar cacti in south-central Mexico: a historical perspective. *Journal of Ethnobiology* 19: 71–95.
- CASAS, A., A. VALIENTE-BANUET, J.L. VIVEROS, J. CABALLERO, L. CORTÉS, P. DÁVILA, R. LIRA, y I. RODRÍGUEZ. 2001. Plant resources of the Tehuacán-Cuicatlán valley, México. *Economic Botany* 55: 129–166.
- CASAS, A., y G. BARBERA. 2002. Mesoamerican domestication and diffusion. En P. S. Nobel (Ed.) *Cacti: biology and uses* (pp. 143–162). Berkeley y Los Ángeles, EUA: University of California Press.
- CASAS, A., J. CRUSE-SANDERS, E. MORALES, A. OTERO-ARNAIZ, y A. VALIENTE-BANUET. 2006. Maintenance of phenotypic and genotypic diversity in managed

- populations of *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) by indigenous peoples in Central Mexico. *Biodiversity & Conservation* 15: 879–898.
- CASAS, A., A. OTERO-ARNAIZ, E. PÉREZ-NEGRÓN, y A. VALIENTE-BANUET. 2007. En situ management and domestication of plants in Mesoamerica. *Annals of Botany* 100: 1101–1115.
- CHIAPPY-JHONES, C., V. RICO-GRAY, L. GAMA, y L. GIDDINGS. 2001. Floristic affinities between the Yucatan Peninsula and some karstic areas of Cuba. *Journal of Biogeography* 28: 535–542.
- CLARK-TAPIA, R., y F. MOLINA-FREANER. 2003. The genetic structure of a columnar cactus with a disjunct distribution: *Stenocereus gummosus* in the Sonoran desert. *Heredity* 90: 443–450.
- CLARK-TAPIA, R., C. A. CORRADO, L.E. EGUIARTE, y F. MOLINA-FREANER. 2005. Clonal diversity and distribution in *Stenocereus eruca* (Cactaceae), a narrow endemic cactus of the Sonoran Desert. *American Journal of Botany* 92: 272–278.
- CONTRERAS-NEGRETE, G., M.E. RUÍZ-DURÁN, D. CABRERA-TOLEDO, A. CASAS, O. VARGAS, y F. PARRA. 2015. Genetic diversity and structure of wild and managed populations of *Polaskia chende* (Cactaceae) in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Central Mexico: insights from SSR and allozyme markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* 62: 85-101.
- COPETTI, D., A. BÚRQUEZ, E. BUSTAMANTE, J.L.M. CHARBONEAU, K.L. CHILDS, L.E. EGUIARTE, S. LEE, ET AL. 2017. Extensive gene tree discordance and hemiplasy shaped the genomes of North American columnar cacti. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114: 12003–12008.
- CORNEJO ROMERO, A., C.F. VARGAS MENDOZA, P. VALVERDE, y B. RENDÓN AGUILAR. 2013. Estructura genética y filogeografía en cactáceas. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 58: 4–28.
- CORNEJO-ROMERO, A., J. MEDINA-SÁNCHEZ, T. HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, B. RENDÓN-AGUILAR, P.L. VALVERDE, A. ZAVALA-HURTADO, S.P. RIVAS-ARANCIBIA, ET AL. 2014. Quaternary origin and genetic divergence of the endemic cactus *Mammillaria pectinifera* in a changing landscape in the Tehuacán Valley, Mexico. *Genetics and Molecular Research* 13: 73–88.
- CORNEJO-ROMERO, A., C.F. VARGAS-MENDOZA, G.F. AGUILAR-MARTÍNEZ, J. MEDINA-SÁNCHEZ, B. RENDÓN-AGUILAR, P.L. VALVERDE, J.A. ZAVALA-HURTADO, ET AL. 2017. Alternative glacial-interglacial refugia demographic hypotheses tested on *Cephalocereus columna-trajani* (Cactaceae) in the intertropical Mexican drylands. *PLoS ONE* 12: 1–17.
- CORNEJO-ROMERO, A., C.F. VARGAS MENDOZA, P. VALVERDE, y B. RENDÓN AGUILAR. 2013. Estructura genética y filogeografía en cactáceas. *Cactáceas y*

*Suculentas Mexicanas* 58: 4–28.

- CORNISH-BOWDEN, A. 1985. Nomenclature for incompletely specified bases in nucleic acid sequences: recommendations 1984. *Nucleic Acids Research* 13: 3021.
- CRUSE-SANDERS, J.M., K.C. PARKER, E.A. FRIAR, D.I. HUANG, S. MASHAYEKHI, L.M. PRINCE, A. OTERO-ARNAIZ, y A. CASAS. 2013. Managing diversity: Domestication and gene flow in *Stenocereus stellatus* Riccob. (Cactaceae) in Mexico. *Ecology and Evolution* 3: 1340–1355.
- DAYRAT, B. 2005. Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society* 85: 407–415.
- DEMAIO, P.H., M.H.J. BARFUSS, R. KIESLING, W. TILL, y J.O. CHIAPELLA. 2011. Molecular phylogeny of *Gymnocalycium* (Cactaceae): Assessment of alternative infrageneric systems, a new subgenus, and trends in the evolution of the genus. *American Journal of Botany* 98: 1841–1854.
- DESALLE, R., M.G. EGAN, y M. SIDDALL. 2005. The unholy trinity: taxonomy, species delimitation and DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, B, Biological Sciences* 360: 1905–1916.
- DOYLE, J.J., y J.L. DOYLE. 1987. CTAB DNA extraction in plants. *Phytochemical Bulletin* 19: 11–15.
- DRUMMOND, A.J., A. RAMBAUT, B. SHAPIRO, y O.G. PYBUS. 2005. Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. *Molecular Biology and Evolution* 22: 1185–1192.
- DUARTE, M., P.C. GUERRERO, G. CARVALLO, y R.O. BUSTAMANTE. 2014. Conservation network design for endemic cacti under taxonomic uncertainty. *Biological Conservation* 176: 236–242.
- DUMINIL, J., y M. DI MICHELE. 2009. Plant species delimitation: A comparison of morphological and molecular markers. *Plant Biosystems* 143: 528–542.
- ENCE, D.D., y B.C. CARSTENS. 2011. SpedeSTEM: A rapid and accurate method for species delimitation. *Molecular Ecology Resources* 11: 473–480.
- EXCOFFIER, L., P.E. SMOUSE, y J.M. QUATTRO. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479–491.
- FELGER, R., y M. MOSSER. 1985. *People of the Desert and Sea*. Tucson, EUA: University of Arizona Press.
- FERRUSQUÍA-VILAFRANCA, I., y L.I. GONZÁLEZ-GUZMÁN. 2005. Northern Mexico's Landscape, Part II: The Biotic Setting across Time. En *Biodiversity, ecosystems, and conservation in northern Mexico* (pp. 39–51). New York,

USA: Oxford University Press.

- FRANCK, A.R., B.J. COCHRANE, y J.R. GAREY. 2012. Low-copy nuclear primers and *ycf1* primers in cactaceae. *American Journal of Botany* 99: 405–407.
- FRANCO, F.F., C.L. JOJIMA, M.F. PEREZ, D.C. ZAPPI, N. TAYLOR, y E.M. MORAES. 2017. The xeric side of the Brazilian Atlantic Forest: The forces shaping phylogeographic structure of cacti. *Ecology and Evolution* 7: 9281–9293.
- FRANKHAM, R. 2010. Challenges and opportunities of genetic approaches to biological conservation. *Biological Conservation* 143: 1919–1927.
- FUENTES FIALLO, V.R. 2011. Apuntes para la flora económica de Cuba IX: plantas para cercas y setos vivos. *Revista del Jardín Botánico Nacional* 32: 205–228.
- GANDERS, F.R. 1976. Self-incompatibility in the Cactaceae. *Cactus and Succulent Journal of Great Britain*. 38: 39–40
- GARCÍA-SUÁREZ, F., L. CARRETO-MONTOYA, R. CÁRDENAS-NAVARRO, J.C. DÍAZ-PÉREZ, y R. LÓPEZ-GÓMEZ. 2007. El crecimiento del fruto de pitaya (*Stenocereus stellatus*) está asociado a la estación húmeda en el trópico seco mexicano. *Phyton* 76: 19–26.
- GARRICK, R.C., P. SUNNUCKS, R.J. DYER, P. BRITO, S. EDWARDS, V. FRIESEN, B. CONGDON, ET AL. 2010. Nuclear gene phylogeography using PHASE: dealing with unresolved genotypes, lost alleles, and systematic bias in parameter estimation. *BMC Evolutionary Biology* 10: 118.
- GAXIOLA, R.A., R. RAO, A. SHERMAN, P. GRISAFI, S.L. ALPER, y G.R. FINK. 1999. The *Arabidopsis thaliana* proton transporters, *AtNhx1* and *Avp1*, can function in cation detoxification in yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96: 1480–1485.
- GIBSON, A.C. 1990. The systematics and evolution of subtribe Stenocereinae. 9. *Stenocereus queretaroensis* and its closest relatives. *Cactus and Succulent Journal* 62: 170–176.
- GIBSON, A.C. 1991. The systematics y evolution of subtribe Stenocereinae. 10. The species group of *Stenocereus griseus*. *Cactus and Succulent Journal* 63: 92–99.
- GIBSON, A.C., y K.E. HORAK. 1978. Systematic anatomy and phylogeny of Mexican columnar cacti. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 65: 999–1057.
- GODÍNEZ-ALVAREZ, H., A. VALIENTE-BANUET, y A. ROJAS-MARTÍNEZ. 2002. The role of seed dispersers in the population dynamics of the columnar cactus *Neobuxbaumia tetetzo*. *Ecology* 83: 2617–2629.
- GONZÁLEZ, A. 2004. Biología reproductiva y genética de poblaciones del *Agave garciae-mendozae*. Tesis de Licenciatura (Biología), Facultad de Ciencias,

Universidad Nacional Autónoma de México.

- GRIFFITH, M.P., y J.M. PORTER. 2009. Phylogeny of Opuntioideae (Cactaceae). *International Journal of Plant Sciences* 170: 107–116.
- GROSS, B.L., y K.M. OLSEN. 2010. Genetic perspectives on crop domestication. *Trends in Plant Science* 15: 529–537.
- GUERRERO, P.C., L.C. MAJURE, A. CORNEJO-ROMERO, y T. HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ. 2018. Phylogenetic relationships and evolutionary trends in the Cactus family. *Journal of Heredity* 110: 4-21.
- GUTIÉRREZ-FLORES, C., F.J. GARCÍA-DE LEÓN, y J.H. COTA-SÁNCHEZ. 2016. Microsatellite genetic diversity and mating systems in the columnar cactus *Pachycereus pringlei* (Cactaceae). *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 22: 1–10.
- HAMRICK, J.L., J.D. NASON, T.H. FLEMING, y J.M. NASSAR. 2002. Genetic diversity in columnar cacti. En T. H. Fleming, y A. Valiente-Banuet (Eds.), *Columnar Cacti and Their Mutualisms: Evolution, Ecology and Conservation* (pp. 122–133). Tucson, EUA: University of Arizona Press.
- HALL, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium series* 41: 95–98.
- HARE, M.P. 2001. Prospects for nuclear gene phylogeography. *Trends in Ecology & Evolution* 16: 700–706.
- HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, T., J.W. BROWN, B.O. SCHLUMPBERGER, L.E. EGUIARTE, y S. MAGALLÓN. 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., H.M. HERNÁNDEZ, J. ARTURO DE-NOVA, R. PUENTE, L.E. EGUIARTE, y S. MAGALLÓN. 2011. Phylogenetic relationships and evolution of growth form in Cactaceae (Caryophyllales, Eudicotyledoneae). *American Journal of Botany* 98: 44–61.
- HERNÁNDEZ-VICTORIA, N., y M.A. VÁSQUEZ-DÁVILA. 2007. Etnobotánica de las cactáceas endémicas de Oaxaca. En VI Congreso Mexicano de Etnobiología. Simposio *La etnobiología en Oaxaca*. Xoxocotlán, Oaxaca.
- HICKERSON, M.J., B.C. CARSTENS, J. CAVENDER-BARES, K. A. CRANDALL, C.H. GRAHAM, J.B. JOHNSON, L. RISSLER, ET AL. 2010. Phylogeography's past, present, and future: 10 years after Avise, 2000. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 54: 291–301.
- HORNER, M.A., T.H. FLEMING, y C.T. SAHEY. 1998. Foraging behaviour and energetics of a nectar-feeding bat, *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera):



- Phyllostomidae). *Journal of Zoology* 244: 575–586.
- ILLUT, D.C., y J.J. DOYLE. 2012. Selecting Nuclear Sequences for Fine Detail Molecular Phylogenetic Studies in Plants: A Computational Approach and Sequence Repository. *Systematic Botany* 37: 7–14.
- JAKOB, S. S., y F. R. BLATTNER. 2006. A chloroplast genealogy of *Hordeum* (Poaceae): long-term persisting haplotypes, incomplete lineage sorting, regional extinction, and the consequences for phylogenetic inference. *Molecular Biology and Evolution*, 23: 1602-1612.
- KHURROO, A.A., G.H. DAR, Z.S. KHAN, y A.H. MALIK. 2007. Exploring an inherent interface between taxonomy and biodiversity: current problems and future challenges. *Journal for Nature Conservation* 15: 256–261.
- KOROTKOVA, N., T. BORSCH, D. QUANDT, N.P. TAYLOR, K.F. MÜLLER, y W. BARTHLOTT. 2011. What does it take to resolve relationships and to identify species with molecular markers? An example from the epiphytic Rhipsalideae (Cactaceae). *American Journal of Botany* 98: 1549–1572.
- KRIVORUCHKO, K. 2012. Empirical bayesian kriging. *ArcUser Fall* 6–10.
- LEAVITT, S.D., C.S. MOREAU, y H.T. LUMBSCH. 2015. The dynamic discipline of species delimitation: progress toward effectively recognizing species boundaries in natural populations. En D. K. Upreti, P. K. Divakar, V. Shukla, y R. Bajpai (Eds.), *Recent Advances in Lichenology* (pp. 11–44). New York, USA: Springer India.
- LEIGH, J.W., y D. BRYANT. 2015. popart: full feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution* 6: 1110–1116.
- LIBRADO, P., y J. ROZAS. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451–1452.
- LOVELESS, M.D., y J.L. HAMRICK. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15: 65–95.
- LOZANO GARZA, Ó.A. 2013. Análisis de la estructura genética poblacional de la pitaya agria (*Stenocereus gummosus*) en el desierto sonorense. Tesis de Maestría, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
- LOZANO GARZA, O.A., J.L. LEÓN DE LA LUZ, S. FAVELA LARA, y F.J. GARCÍA DE LEÓN. 2015. New Interpretations about Clonal Architecture for the Sour Pitaya (*Stenocereus gummosus*, Cactaceae), Arising from Microsatellite Markers of de novo Isolation and Characterization. *Open Journal of Genetics* 5: 1
- MAYR, E. 1982. Speciation and macroevolution. *Evolution* 36: 1119–1132.
- MAYR, E. 1942. *Systematics and the origin of species*. New York, USA: Columbia University Press.

- MENEZES, M.O.T., D.C. ZAPPI, E.M. MORAES, F.F. FRANCO, N.P. TAYLOR, I.R. COSTA, y M.I.B. LOIOLA. 2016. Pleistocene radiation of coastal species of *Pilosocereus* (Cactaceae) in eastern Brazil. *Journal of Arid Environments* 135: 22–32.
- MOLINA-FREANER, F., y R. CLARK-TAPIA. 2005. Clonal diversity and allelic relationships between two closely related species of columnar cacti from the Sonoran Desert: *Stenocereus eruca* and *Stenocereus gummosus*. *International Journal of Plant Sciences* 166: 257–264.
- MUTKE, J., K. BURSTEDDE, A. GEFFERT, JAN LAURENS MIEBACH, M.D. RAFIQPOOR, A. STEIN, and W. BARTHLOTT. 2015. Mapping the diversity of cacti. *Schumannia* 7: 30–36.
- NARANJO, M.E., C. RENGIFO, y P.J. SORIANO. 2003. Effect of ingestion by bats and birds on seed germination of *Stenocereus griseus* and *Subpilocereus repandus* (Cactaceae). *Journal of Tropical Ecology* 19: 19–25.
- NASSAR, J.M., N. RAMÍREZ, y O. LINARES. 1997. Comparative pollination biology of Venezuelan columnar cacti and the role of nectar feeding bats in their sexual reproduction. *American Journal of Botany* 84: 918–927.
- NASSAR, J.M., J.L. HAMRICK, y T.H. FLEMING. 2003. Population Genetic Structure Of Venezuelan Chiropterophilous Columnar Cacti (Cactaceae). *American Journal of Botany* 90: 1628–1637.
- OGBURN, R.M., y E.J. EDWARDS. 2010. The Ecological Water-Use Strategies of Succulent Plants. *Advances in Botanical Research* 55: 179–225.
- VAN OOSTERHOUT, C., W.F. HUTCHINSON, D.P.M. WILLS, y P. SHIPLEY. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4: 535–538.
- ORNELAS, J.F., y F. RODRÍGUEZ-GÓMEZ. 2015. Influence of Pleistocene glacial/interglacial cycles on the genetic structure of the mistletoe cactus *Rhipsalis baccifera* (Cactaceae) in Mesoamerica. *Journal of Heredity* 106: 196–210.
- OTERO-ARNAIZ, A., A. CASAS, J.L. HAMRICK, y J. CRUSE-SANDERS. 2005. Genetic variation and evolution of *Polaskia chichipe* (Cactaceae) under domestication in the Tehuacan Valley, central Mexico. *Molecular Ecology* 14: 1603–1611.
- PARRA, F., A. CASAS, J.M. PEÑALOZA-RAMÍREZ, A.C. CORTÉS-PALOMEC, V. ROCHA-RAMÍREZ, y A. GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ. 2010. Evolution under domestication: Ongoing artificial selection and divergence of wild and managed *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) populations in the Tehuacán Valley, Mexico. *Annals of Botany* 106: 483–496.
- PARRA, F., N. PÉREZ-NASSER, R. LIRA, D. PÉREZ-SALICRUP, y A. CASAS. 2008. Population genetics and process of domestication of *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) in the Tehuacan Valley, México. *Journal of Arid Environments* 72:

1997–2010.

- PARRA, F., A. CASAS, J.M. PEÑALOZA-RAMÍREZ, A.C. CORTÉS-PALOMEC, V. ROCHA-RAMÍREZ, y A. GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ. 2010. Evolution under domestication: Ongoing artificial selection and divergence of wild and managed *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) populations in the Tehuacán Valley, Mexico. *Annals of Botany* 106: 483–496.
- PARRA, F., A. CASAS, V. ROCHA, A. GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, S. ARIAS-MONTES, H. RODRÍGUEZ-CORREA, y J. TOVAR. 2014. Spatial distribution of genetic variation of *Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxb. in Mexico: analysing evidence on the origins of its domestication. *Genetic Resources and Crop Evolution* 62: 893–912.
- PEAKALL, R., y R. SMOUSE. 2012. GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research an update. *Bioinformatics* 28: 2537–2539.
- PEREZ, M.F., B.C. CARSTENS, G.L. RODRIGUES, y E.M. MORAES. 2015. Anonymous nuclear markers reveal taxonomic incongruence and long-term disjunction in a cactus species complex with continental-island distribution in South America. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 95: 11-19.
- PEREZ, M.F., B.C. CARSTENS, G.L. RODRIGUES, y E.M. MORAES. 2016. Anonymous nuclear markers data supporting species tree phylogeny and divergence time estimates in a cactus species complex in South America. *Data in Brief* 6: 456–460.
- PETIT, R.J., y L. EXCOFFIER. 2009. Gene flow and species delimitation. *Trends in Ecology and Evolution* 24: 386–393.
- PETIT, R.J. 2013. PERMUT. Disponible en: <https://www6.bordeaux-aquitaine.inra.fr/biogeco/Production-scientifique/Logiciels/Contrib-Permut/PermPEMURTut>.
- PIMENTA-BARRIOS, E., y P.S. NOBEL. 1994. Pitaya (*Stenocereus* spp., Cactaceae): An Ancient and Modern Fruit Crop of Mexico. *Economic Botany* 48: 76–83.
- PIÑERO, D., A. BARAHONA, L. EGUIARTE, A. ROCHA, y R. SALAS. 2008. La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México. En *Capital Natural de México Vol 1: Conocimiento actual de la biodiversidad* (pp. 415-435). Ciudad de México, México: CONABIO.
- PONS, O., y R.J. PETIT. 1996. Measuring and testing genetic differentiation with ordered versus unordered alleles. *Genetics* 144: 1237–1245.
- DE QUEIROZ, K. 2007. Species concepts and species delimitation. *Systematic Biology* 56: 879–886.

- RISSLER, L.J., y J.J. APODACA. 2007. Adding more ecology into species delimitation: ecological niche models and phylogeography help define cryptic species in the black salamander (*Aneides flavipunctatus*). *Systematic Biology* 56: 924–942.
- ROCHA, M. 2006. Ecología evolutiva comparada en cinco especies de *Agave*. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
- ROCHA, M., S. V. GOOD-ÁVILA, F. MOLINA-FREANER, H.T. ARITA, A. CASTILLO, A. GARCÍA-MENDOZA, A. SILVA-MONTELLANO, ET AL. 2006. Pollination biology and adaptive radiation of Agavaceae, with special emphasis on the genus *Agave*. *Aliso: A Journal of Systematic and Evolutionary Botany* 22: 329–344.
- ROUSSET, F. 2008. genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources* 8: 103–106.
- RUÁN-TEJEDA, I., A. SANTERRE, F.M. HUERTA-MARTÍNEZ, L.I. IÑIGUEZ-DÁVALOS, y P. CASTRO-FÉLIX. 2014. Genetic diversity and relationships among wild and cultivated *Stenocereus queretaroensis* populations in western Mexico. *Biochemical Systematics and Ecology* 55: 125–130.
- RUIZ, A., A. VALIENTE-BANUET, P.J. SORIANO, y T. FLEMING. 2002. The role of bats and birds in the reproduction of columnar cacti in the Northern Andes. En T. H. Fleming, y A. Valiente-Banuet (Eds.) *Columnar cacti and their mutualists* (pp. 241–263). Tucson, EUA: University of Arizona Press.
- RUIZ-GUERRERO, M., T.R. VAN DEVENDER, A.L. REINA-GUERRERO, P. MEJÍA-MORA, y A.M. VAN DER HEIDEN. 2015. Flora de La Guásima, Región Prioritaria para la Conservación en la Sierra Madre Occidental en el sur de Sinaloa, México. En *Biodiversidad y Paisaje de la Sierra Madre Occidental* (pp. 90-98). Durango, México: Instituto Politécnico Nacional.
- SÁNCHEZ, D., S. ARIAS, y T. TERRAZAS. 2014. Phylogenetic Relationships in *Echinocereus* (Cactaceae, Cactoideae). *Systematic Botany* 39: 1183–1196.
- SANDERSON, M.J., D. COPETTI, A. BÚRQUEZ, E. BUSTAMANTE, J.L.M. CHARBONEAU, L.E. EGUIARTE, S. KUMAR, ET AL. 2015. Exceptional reduction of the plastid genome of saguaro cactus (*Carnegiea gigantea*): Loss of the *ndh* gene suite and inverted repeat 1. *American Journal of Botany* 102: 1115–1127.
- SCHAAL, B. A., D. A. HAYWORTH, K.M. OLSEN, J.T. RAUSCHER, y W. A. SMITH. 1998. Phylogeographic studies in plants: Problems and prospects. *Molecular Ecology* 7: 465–474.
- SCHLICK-STEINER, B.C., F.M. STEINER, B. SEIFERT, C. STAUFFER, E. CHRISTIAN, y R.H. CROZIER. 2010. Integrative taxonomy: a multisource approach to exploring biodiversity. *Annual Review of Entomology* 55: 421–438.
- SELKOE, K.A., y R.J. TOONEN. 2006. Microsatellites for ecologists: A practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters* 9: 615–629.

- SHAW, J., E.B. LICKEY, J.T. BECK, S.B. FARMER, W. LIU, J. MILLER, K.C. SIRIPUN, ET AL. 2005. The tortoise and the hare II: Relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *American Journal of Botany* 92: 142–166.
- SHAW, J., E.B. LICKEY, E.E. SCHILLING, y R.L. SMALL. 2007. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: The Tortoise and the hare III. *American Journal of Botany* 94: 275–288.
- SITES, J.W., y J.C. MARSHALL. 2003. Delimiting species: A Renaissance issue in systematic biology. *Trends in Ecology and Evolution* 18: 462–470.
- SCHLUMPBERGER, B. O. 2012. A survey on pollination modes in cacti and a potential key innovation. En Patiny, S. (Ed.) *Evolution of plant-pollinator relationships*, (pp. 301-321). Cambridge, EUA: Cambridge University Press.
- SMALL, R.L., J. A. RYBURN, R.C. CRONN, T. SEELANAN, y J.F. WENDEL. 1998. The tortoise and the hare: Choosing between noncoding plastome and nuclear *Adh* sequences for phylogeny reconstruction in a recently diverged plant group. *American Journal of Botany* 85: 1301–1315.
- SMITH, E.C.J. 1967. Plant remains. En D. S. Byers (Ed.), *The prehistory of the Tehuacan Valley* (pp. 220–255). Austin, EUA: University of Texas Press.
- STEPHENS, M., N.J. SMITH, y P. DONNELLY. 2001. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *The American Journal of Human Genetics* 68: 978–989.
- TERRAZAS, T., y S. ARIAS. 2002. Comparative stem anatomy in the subfamily Cactoideae. *The Botanical Review* 68: 444–473.
- TINOCO, A., A. CASAS, R. LUNA, y K. OYAMA. 2005. Population genetics of *Escontria chiotilla* in wild and silvicultural managed populations in the Tehuacan Valley, Central México. *Genetic Resources and Crop Evolution* 52: 525–538.
- VALIENTE-BANUET, A., M. DEL CORO ARIZMENDI, A. ROJAS-MARTÍNEZ, y L. DOMÍNGUEZ-CANSECO. 1996. Ecological relationships between columnar cacti and nectar-feeding bats in Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 12: 103–119.
- VALIENTE-BANUET, A., M. DEL CORO ARIZMENDI, A. ROJAS-MARTÍNEZ, A. CASAS, H. GODÍNEZ-ÁLVAREZ, C. SILVA, y P. DÁVILA-ARANDA. 2002. Biotic interactions and population dynamics of columnar cacti. En T. H. Fleming, y A. Valiente-Banuet (Eds.), *Columnar cacti and their mutualists* (pp. 225–240). Tucson, EUA: University of Arizona Press
- VALIENTE-BANUET, A., M. DEL CORO ARIZMENDI, A. ROJAS-MARTÍNEZ, y L. DOMÍNGUEZ-CANSECO. 1996. Ecological relationships between columnar cacti and nectar-feeding bats in Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 12: 103–119.

- VÁZQUEZ-SÁNCHEZ, M., T. TERRAZAS, S. ARIAS, y H. OCHOTERENA. 2013. Molecular phylogeny, origin and taxonomic implications of the tribe Cacteeae (Cactaceae). *Systematics and Biodiversity* 11: 103–116.
- VELLEND, M., y M.A. GEBER. 2005. Connections between species diversity and genetic diversity. *Ecology Letters* 8: 767–781.
- VILLALOBOS, S., O. VARGAS, y S. MELO. 2007. Usage , Managment and Conservation of “ yosú ”, *Stenocereus griseus* (Cactaceae), in the Upper Guajira , Colombia. *Acta Biológica Colombiana* 12: 99–112.
- VILLASEÑOR, J.L. 2015. ¿La crisis de la biodiversidad es la crisis de la taxonomía? *Botanical Sciences* 93: 3–14.
- WALLACE, R.S., y A.C. GIBSON. 2002. Evolution and systematics. En Nobel (Ed.) *Cacti: biology and uses* (pp. 1–21. Berkeley, EUA: University of California Press.
- YETMAN, D., y T.R. VAN DEVENDER. 2002. *Mayo ethnobotany: land, history, and traditional knowledge in northwest Mexico*. Berkeley, EUA: University of California Press.
- ZEDER, M.A. 2015. Core questions in domestication research. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 112: 3191-3198.